# การศึกษาการควบคุมการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสะละ

# Study on Control of Contamination for Tissue Culture of Sala (*Salacca* sp.)

T051330

ศราวุฒิ คิ้วเที่ยง

SARAWUT KIEWTIENG

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาพืชสวน

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2544

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 51330
วัน,เดือน,ปี 8 ก.ค. 2547

b.....
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# Study on Control of Contamination for Tissue Culture of Sala (*Salacca* sp.)

SARAWUT KIEWTIENG

A SPECIAL PROBLEM SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ การศึกษาการควบคุมการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสะละ
ชื่อนักศึกษา นายศราวุฒิ ดิ้วเที่ยง
รหัสประจำตัว 42066211
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขา พืชสวน
พ.ศ. 2544
อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ผศ.ดร. สุเม อรัญนารถ

## บทคัดย่อ

ศึกษาการใช้สูตรฟอกฆ่าเชื้อเพื่อขจัดการปนเปื้อน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสะละในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนมาฟอกฆ่าเชื้อ จากการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อโดยทำความสะอาดชิ้นส่วนปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนของสะละ มี 4 วิธีการ คือ วิธีการที่ 1 ใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที + clorox 50 % เติม tween20 2 หยด นาน 20 นาที, วิธีการที่ 2 ใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที + mercuric chloride 0.5 % เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที, วิธีการที่ 3 ใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที + mercuric chloride 0.1 % เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที + calcium hypochlorite 10 % เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที + calcium hypochlorite 5 % เติม tween20 2 หยด นาน 20 นาที และ วิธีการที่ 4 ใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที + mercuric chloride 0.1 % เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที + calcium hypochlorite 5 % เติม tween20 2 หยด นาน 30 นาที + calcium hypochlorite 1 % เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที และนำชิ้นส่วนไปเลี้ยงบนอาหารสูตร Eeuwens ($Y_3$)(1976) ที่มี BA 1 mg/l พบว่า การใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที + mercuric chloride 0.1 % เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที + calcium hypochlorite 5 % เติม tween20 2 หยด นาน 30 นาที + calcium hypochlorite 1 % เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที ทำให้ชิ้นส่วนปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อดีที่สุดเท่ากัน คือ 44.44 % สำหรับการศึกษาการเพาะเลี้ยงปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนในอาหารที่มีสารปฏิชีวนะ (rifampicin, cefotaxime) และสารกำจัดเชื้อรา (benomyl) พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนในอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l สามารถทำให้ชิ้นส่วนปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนอยู่ในสภาพปลอดเชื้อดีที่สุด คือ 91.67 % และ 88.89 % ตามลำดับและมีชิ้นส่วนที่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้เท่ากับ 33.33 % และ 66.67 % ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title : Study on Control of Contamination for Tissue Culture of Sala (*Salacca* sp.)

By : Sarawut Kiewtieng

Major : Horticulture

Department : Horticulture

Faculty : Agricultural Technology

Advisor : Assist Prof.Dr.Sumay Aranyanart

**Abstract**

Methods of surface sterilization for tissue culture of Sala (*Salacca* sp.) were studied. Shoot tips from suckers and young leaves were steriled with 4 treatments of the following methods: 1. soaked in 70 % ethanol for 1 minute , shaken in 50 % clorox + tween20 2 drops for 20 minutes , 2. soaked in 70 % ethanol for 1 minute, shaken in 0.5 % mercuric chloride + tween20 2 drops for 10 minutes, 3. soaked in 70 % ethanol for 1 minute , shaken in 0.1 % mercuric chloride + tween20 2 drops for 10 minutes followed by agitating in 10 % calcium hypochlorite + tween20 2 drops for 10 minutes, and 5 % calcium hypochlorite + tween20 2 drops for 20 minutes and 4. soaked in 70 % ethanol for 1 minute, shaken in 0.1 % mercuric chloride + tween20 2 drops for 10 minutes followed by agitating in 5 % calcium hypochlorite + tween20 2 drops for 30 minutes, and 1 % calcium hypochlorite + tween20 2 drops for 10 minutes and each method then rinsed three times in sterile distilled water. Excised shoot tips and leaves were cultured in Eeuwens ($Y_3$)(1976) medium supplemented with 1 mg/l BA. The highest percentage (44.44 %) of non-contaminated both explants were obtained from soaked in 70 % ethanol for 1 minute, shaken in 0.1 % mercuric chloride + tween20 2 drops for 10 minutes followed by agitating in 5 % calcium hypochlorite + tween20 2 drops for 30 minutes, and 1 % calcium hypochlorite + tween20 2 drops for 10 minutes and rinsed three times in sterile distilled water.The antibiotics (rifampicin, cefotaxime) and fungicide (benomyl) were tested for phytotoxicity and contamination control of both explants. The midia containing 50 mg/l benomyl and 100 mg/l cefotaxime performed the highest percentage of non-infected shoot tips and young leaves which were 91.67 % and 88.89 % respectively and 33.33 % of shoot tips and 66.67 % of young leaves showed growth development.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเม อรัญนารถ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำตลอดจนแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆ อีกทั้งยังช่วยแก้ไขปัญหาพิเศษเล่มนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณปัญญา ผลาผล ที่กรุณาเรื่องชิ้นส่วนของสะละที่นำมาเพาะเลี้ยงในปัญหาพิเศษเล่มนี้

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ๆน้องๆ และเพื่อนๆทุกคนที่คอยกรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจ และขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งเป็นสถานศึกษาและปฏิบัติงานในการทำปัญหาพิเศษเล่มนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ศราวุฒิ คิ้วเที่ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อ

และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า


บทคัดย่อภาษาไทย ..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... II

คำนิยม ..... III

สารบัญ ..... IV

สารบัญตาราง ..... V

สารบัญรูปภาพ ..... VI

สารบัญตารางภาคผนวก ..... VII

คำย่อและสัญลักษณ์ ..... XI

บทที่ 1 บทนำ ..... 1

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ..... 3

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน ..... 11

บทที่ 4 ผลการทดลอง ..... 18

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง ..... 41

บรรณานุกรม ..... 42

ภาคผนวก ..... 45



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงผลการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละ เมื่อ
ปลายยอดอายุ 4 สัปดาห์ ..... 19
ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย
วิธีการต่างๆ ..... 21
ตารางที่ 3 แสดงผลการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละ เมื่อใบอ่อน
อายุ 4 สัปดาห์ ..... 22
ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละที่เลี้ยงบนอาหารที่มี
benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime และหลังจากย้ายชิ้นส่วน
ลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicinและ cefotaxime ..... 27
ตารางที่ 5 แสดงผลการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละหลัง
จากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime
เมื่อปลายยอดอายุ 6 สัปดาห์ ..... 28
ตารางที่ 6แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละที่เลี้ยงบนอาหาร
ที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime และหลังจากย้ายชิ้นส่วน
ลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ..... 29
ตารางที่ 7 แสดงเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละที่เลี้ยงบนอาหารที่มี
benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime และหลังจากย้ายชิ้นส่วน
ลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ..... 34
ตารางที่ 8 แสดงผลการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของใบอ่อนหลังจากย้ายลง
ในอาหารไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่อใบอ่อน
อายุ 6 สัปดาห์ ..... 35
ตารางที่ 9 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละที่เลี้ยงบนอาหารที่มี
benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime และหลังจากย้ายชิ้นส่วน
ลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ..... 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนปลายยอดสะละ ..... 16
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนใบอ่อนสะละ ..... 17
ภาพที่ 3 แสดงการเกิดแคลลัสของปลายยอดสะละในอาหารสูตร $Y_3$ ที่มี BA 1 mg/l เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ ..... 26
ภาพที่ 4 แสดงการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละในอาหารสูตร $Y_3$ ที่มี BA 1 mg/l เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ ..... 26
ภาพที่ 5 แสดงการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละในอาหารสูตร $Y_3$ ที่มี BA 1 mg/l เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ ..... 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตารางภาคผนวก

หน้า

ตารางที่ 1 สูตรอาหาร Eeuwens ($Y_3$) (1976) ..... 46
ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละ
ซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ..... 47
ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของปลายยอดสะละ
ซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ..... 47
ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การตายของปลายยอดสะละ
ซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ..... 48
ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละ
ซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ ..... 48
ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละ
ซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ ..... 49
ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละ
ซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 3 สัปดาห์ ..... 49
ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละ
ซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ..... 50
ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของสะละ
ซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ..... 50
ตารางที่ 10 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การตายของใบอ่อนสะละ
ซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ..... 51
ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอด
สะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime
เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ ..... 51
ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอด
สะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime
เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ ..... 52
ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอด
สะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime
เมื่ออายุ 3 สัปดาห์ ..... 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ..... 53
ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ ..... 53
ตารางที่ 16 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ..... 54
ตารางที่ 17 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ..... 54
ตารางที่ 18 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การตายของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ..... 55
ตารางที่ 19 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ ..... 55
ตารางที่ 20 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ ..... 56
ตารางที่ 21 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 3 สัปดาห์ ..... 56
ตารางที่ 22 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ..... 57
ตารางที่ 23 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ ..... 57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 24 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของ
ปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ
rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ..... 58
ตารางที่ 25 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อน
สะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime
เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ ..... 58
ตารางที่ 26 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อน
สะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime
เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ ..... 59
ตารางที่ 27 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อน
สะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime
เมื่ออายุ 3 สัปดาห์ ..... 59
ตารางที่ 28 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อน
สะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin
และ cefotaxime เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ..... 60
ตารางที่ 29 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อน
สะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin
และ cefotaxime เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ ..... 60
ตารางที่ 30 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อน
สะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin
และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ..... 61
ตารางที่ 31 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของใบอ่อน
สะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin
และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ..... 61
ตารางที่ 32 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การตายของใบอ่อนสะละ
หลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ
cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ..... 62
ตารางที่ 33 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของ
ใบอ่อนสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime
เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ ..... 62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 34 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ ..... 63
ตารางที่ 35 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 3 สัปดาห์ ..... 63
ตารางที่ 36 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละ หลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ..... 64
ตารางที่ 37 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละ หลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ ..... 64
ตารางที่ 38 การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละ หลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ..... 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# คำย่อและสัญลักษณ์

| | |
|---|---|
| BA | Benzylaminopurine |
| $Y_3$ | Eeuwens (1976) |
| mg/l | มิลลิกรัมต่อลิตร |
| µg/l | ไมโครกรัมต่อลิตร |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สละจัดเป็นพืชในสกุลระกำ (*Salacca* spp.) ที่กำลังได้รับความสนใจ ทั้งนักวิชาการเกษตรกร และพ่อค้าได้มองว่าสละกำลังจะเป็นผลไม้ที่ขึ้นมาอยู่ในแถวหน้าของผลไม้ในเมืองไทยในอีกไม่กี่ปีข้างหน้า (ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์. 2539) เนื่องจากสละสามารถเจริญเติบโตได้ดีในเกือบทุกสภาพพื้นที่ เป็นพืชที่มีการเจริญเติบโตดีและให้ผลผลิตในเชิงการค้าสูง สละมีรสชาติที่หวานกลมกล่อมและกลิ่นหอมเฉพาะตัว ผลิตผลสามารถนำมาใช้แปรรูปทางอุตสาหกรรมได้ อีกทั้งยังมีแนวโน้มการส่งออกที่ดี ซึ่งจากคุณสมบัติดังกล่าวจึงไม่ใช่เรื่องยากที่จะทำให้สละกลายเป็นไม้ผลอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศ (สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก และคณะ. 2539)

สำหรับการขยายพันธุ์สละสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การเพาะเมล็ด การขยายพันธุ์ด้วยหน่อข้าง และการตัดชำลำต้น ซึ่งแต่ละวิธีที่กล่าวมานั้นมีข้อเสียที่ทำให้การขยายพันธุ์สละไม่ประสบผลสำเร็จ คือการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ทำให้ได้ต้นใหม่ที่มีการกลายพันธุ์สูง มักได้ต้นตัวผู้มากกว่าต้นตัวเมีย และการจำแนกเพศต้องใช้เวลาประมาณ 3-4 ปีหลังการเจริญเติบโต การขยายพันธุ์ด้วยหน่อจะประสบความสำเร็จยาก ต้นใหม่ที่ได้มีความอ่อนแอ การใช้หน่อต้องใช้หน่อที่มีขนาดใหญ่ และมีความสมบูรณ์ ส่วนการขยายพันธุ์ด้วยการตัดชำลำต้น แม้ว่าจะได้ต้นที่มีความสมบูรณ์และตรงตามพันธุ์มากที่สุด แต่จะต้องเสียต้นพันธุ์ (ต้นแม่) ที่ดี และได้ต้นใหม่ในปริมาณน้อย (สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก และคณะ. 2539) จากปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการพยายามคิดค้นวิธีการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้ได้ต้นปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็ว แต่ในปัจจุบันวิธีการนี้ยังไม่ประสบผลสำเร็จ ดังนั้นจึงได้มีผู้พยายามทดลองหาวิธีการต่างๆมาใช้ เพื่อให้วิธีการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ประสบความสำเร็จขึ้นมา สำหรับในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นสิ่งที่มีความสำคัญเป็นอับดับแรก ที่จะสามารถบอกได้ว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นจะประสบความสำเร็จหรือไม่ คือการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเริ่มต้น ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาถึงวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ ที่เหมาะสมต่อการขจัดการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเริ่มต้น และศึกษาถึงผลของการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนสะละหลังจาก การฟอกฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อใช้เป็นแนวทางในการขยายพันธุ์สละด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**1.3 ขอบเขตการศึกษา**

ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการขจัดการปนเปื้อนชิ้นส่วนเริ่มต้น(ปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนสะละ) และศึกษาถึงผลของการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนสะละหลังจาก การฟอกฆ่าเชื้อ

**1.4 ขั้นตอนการศึกษา**

แบ่งออกเป็นขั้นตอนดังนี้

1.4.1 ตรวจเอกสาร

1.4.2 เตรียมอุปกรณ์

1.4.3 ทำการทดลอง

1.4.4 วิเคราะห์ผล

1.4.5 จัดทำรูปเล่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่2
# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 ความรู้เกี่ยวกับสะละ

สะละจัดเป็นพืชในสกุลระกำ (*Salacca* spp.) ซึ่งพืชในสกุลนี้มีทั้งหมดประมาณ 18 ชนิด (species) พบทั่วไปทางตอนใต้ของมลฑลยูนาน สาธารณรัฐประชาชนจีน ประเทศ มาเลเซีย อินโดนีเซีย ไทย และทางตอนใต้ของประเทศพม่า แต่มีเพียง 2-3 ชนิดเท่านั้นที่ปลูกในประเทศไทยและประเทศเพื่อนบ้านในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก และคณะ. 2539)

### 2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไม้ตระกูลระกำ มีดังนี้

1. ลักษณะของลำต้น ลำต้นเจริญทอดไปตามผิวดินยาว 2-3 เมตร ขึ้นก่ายเป็นกอหนาแน่น ลำต้นที่ทอดอยู่กับผิวดินจะมีรากอยู่ทั่วไป รากไม่หยั่งลึกแต่เดินไปตามผิวดินได้ไกลกว่า 2 เมตร ทางใบมีหนามแหลมคม แข็ง ต้นไม้ตระกูลนี้ถ้าได้รับการดูแลเอาใจใส่ ไม่ปล่อยให้เกิดน้ำท่วมจะมีอายุยืนนานกว่า 100 ปี

2. ลักษณะดอก ดอกสีน้ำตาล ช่อดอกหรือคานดอกแทงทะลุโคนกาบใบออกมา ดอกออกเป็นกลุ่ม ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่คนละต้น ดอกตัวผู้เล็ก เกสรละเอียดและมีจำนวนกลุ่มดอกต่อคานมากกว่าดอกตัวเมีย ต้นไม้ตระกูลนี้ออกดอกได้ทุกเดือนตลอดปี แต่จะติดผลเพียงครั้งเดียวครั้งละ 2-5 คาน

3. ลักษณะผล การติดผล มีลักษณะเป็นกลุ่ม ชาวภาคตะวันออกเรียกกลุ่มผลว่า "กระปุก" ใน 1 ทะลาย มี 2-5 กระปุก (คานดอกที่ติดผลแล้วเรียกว่า ทะลาย) 1 กระปุกมีน้ำหนักประมาณ 1 กิโลกรัม เปลือกผลมีหนามอ่อนปลายหนามงองุ้มไปทางท้ายผล (สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก และคณะ. 2539)

### 2.1.2 สะละแบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ

1. สะละหม้อ จะมีทางใบเล็กกว่าระกำ ปลายใบสั้น ผลยาวกว่าระกำ ก้นผลเป็นจะงอย เปลือกสีแดงเข้ม และรสชาติหวานกว่าระกำ เนื้อหนา ฉ่ำน้ำ เมล็ดสีอ่อนกว่าเมล็ดระกำ ทะลายหนึ่งมีประมาณ 7-8 กระปุก ผลหนึ่งมี 2-3 กลีบ เช่นเดียวกับระกำ

2. สะละเสน คาดว่าสูญพันธุ์ไปแล้วในปัจจุบัน ขึ้นเป็นกอเช่นเดียวกับระกำ แต่แตกกอมาก เจริญเติบโตเร็ว ผลสีแดงสด เนื้อบาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. สะละเนินวง มีถิ่นกำเนิดที่ จ.จันทบุรี มานานกว่า 100 ปี สะละเนินวงนี้มีลำต้นทอดอยู่ใต้ดิน หรือบนผิวดิน ขึ้นเป็นกอไม่แน่นนัก (คล้ายระกำ) ใบยาว และอ่อนลู่มากกว่าระกำ รูปร่างใบคล้ายระกำ ออกผลเป็นทะลาย ทะลายหนึ่งมีตั้งแต่ 4-7 กระปุก ผลอ่อนมีสีน้ำตาลไหม้ เมื่อสุกสีน้ำตาลแดง ผลยาว หัวท้ายเรียวคล้ายกระสวย ผลหนึ่งมักมี 1-2 กลีบ หนามผลยาว อ่อนนิ่ม รสชาติจะหวานฉ่ำและเข้มข้นกว่าระกำ เนื้อแน่น หนา กลิ่นหอม เมล็ดเล็ก เจริญเติบโตได้ดี (สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก และคณะ. 2539)

**2.1.3 การขยายพันธุ์**

การขยายพันธุ์สะละสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน ดังนี้

1. การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

ทำได้โดยนำเมล็ดสะละมาเพาะในวัสดุเพาะเมล็ด เมื่อเมล็ดงอกและเจริญเติบโตเป็นต้นแล้วย้ายลงปลูกในแปลง เป็นวิธีที่ง่าย ประหยัด และสะดวกในทางปฏิบัติ แต่มีข้อเสีย คือ

1) มีการกลายพันธุ์ ต้นใหม่ที่ได้มีลักษณะไม่ตรงกับพ่อ แม่ เพราะสะละเป็นพืชผสมข้าม มีต้นตัวผู้ และตัวเมียแยกกันคนละต้น

2) ต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ด มักจะเป็นต้นตัวผู้มากกว่าต้นตัวเมีย คือในการเพาะเมล็ดสะละจำนวน 100 ต้นมีโอกาสที่จะเป็นต้นตัวผู้มากกว่า 50 ต้น

3) ไม่สามารถจำแนกเพศของต้นใหม่ได้จนกว่าจะออกดอกชุดแรก ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3-4 ปี

2. การขยายพันธุ์ด้วยหน่อ

ทำได้โดยการใช้มีดคมๆ ตัดยอดของหน่อข้างที่เจริญเติบโตขึ้นมา นำไปชำในวัสดุเพาะ แล้วดูแลรักษาในโรงเรือนที่มีการพรางแสง 50 เปอร์เซ็นต์ รอจนต้นแข็งแรงแล้วจึงนำไปปลูกในแปลง สำหรับต้นที่ขยายพันธุ์ด้วยหน่อข้างนี้จะมีขนาดเล็ก ดังนั้นเมื่อนำลงปลูกในแปลงจะมีการเจริญเติบโตช้า แต่มีข้อดี คือ ไม่ต้องทำลายต้นแม่ เหมือนการตัดชำลำต้น อีกทั้งยังช่วยควบคุมไม่ให้หน่อข้างเจริญเติบโตแข่งกับหน่อแม่ แม้ว่าโอกาสที่จะประสบผลสำเร็จจะมีไม่มากเท่ากับการตัดชำลำต้นก็ตาม

3. การตัดชำลำต้น

ส่วนใหญ่การขยายพันธุ์สะละจะใช้วิธีนี้ เพราะจะทำให้ได้ต้นพันธุ์ที่ดีตรงตามต้นแม่ทุกประการ วิธีการตัดชำลำต้นทำได้โดยการคัดเลือกต้นแม่ที่จะใช้ในการขยายพันธุ์ จากนั้นเลื่อยแต่ละตาออกมาให้เป็นรูปลิ่มพร้อมกับตัดแต่งบริเวณรอบตาและตุ่มรากเก่าออกให้เรียบ เพื่อมิให้เป็นแหล่งสะสมความชื้น ซึ่งจะทำให้ชิ้นส่วนตัดชำเน่าได้ เมื่อได้ต้นพันธุ์ที่งอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใหม่อายุประมาณ 2 เดือน (สูงประมาณ 30-50 เซนติเมตร) แล้วย้ายลงถุงเพาะชำในโรงเรือนที่มีการพรางแสง 50 เปอร์เซ็นต์ อีกประมาณ 3 เดือนจะได้ต้นกล้าที่พร้อมนำไปปลูก แม้ว่าวิธีการนี้จะให้ผลดีที่สุด แต่มีข้อด้อยบางประการ คือ จำเป็นต้องทำลายต้นแม่เดิม เพื่อให้ได้ต้นใหม่ที่มีจำนวนตามต้องการ

4. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการขยายพันธุ์ได้ หน่วยงานราชการและเอกชนหลายแห่ง เช่น ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี กองพฤกษศาสตร์ กรมวิชาการเกษตร และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เป็นต้น ได้ทดลองนำชิ้นส่วนต่างๆของสะละ เช่น ราก ใบอ่อน ยอด ตา หน่ออ่อน และคัพภะ เป็นต้น มาเลี้ยงในอาหารเทียมสูตรต่างๆ แม้ว่าการขยายพันธุ์โดยวิธีนี้จะยังไม่ประสบความสำเร็จ แต่หลายหน่วยงานที่เกี่ยวข้องก็เร่งดำเนินการเพื่อให้ได้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์สะละให้เพียงพอต่อความต้องการ (สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก และคณะ. 2539)

### 2.1.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หมายถึง การเลี้ยงชิ้นส่วนใดๆของพืช เนื้อเยื่อ รวมทั้งเซลล์เดี่ยวๆในอาหารสังเคราะห์ (synthetic media) ซึ่งประกอบด้วย เกลือ แร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ (aseptic condition) ในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และแสง (อรดี สหวัชรินทร์. 2539 ; อารีย์ วรัญญวัฒน์. 2541)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้มีการศึกษาค้นคว้ากันครั้งแรกตั้งแต่ปี ค.ศ. 1902 โดยชาวเยอรมันชื่อ Haberlandt เขาพยายามเอาเซลล์จากใบของพืชมาเลี้ยง โดยหวังว่าเซลล์เพียงเซลล์เดียวจะสามารถแบ่งตัวและสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ได้ แต่ทำไม่สำเร็จ เนื่องจากเซลล์ของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวเพาะเลี้ยงยาก แต่ในสมัยนั้นยังไม่มีการค้นพบหรือรู้จักการใช้ฮอร์โมนพืช (อรดี สหวัชรินทร์. 2539) ในปี ค.ศ. 1930 ได้มีการเลี้ยงเซลล์ ที่แยกมาจากรากของพืชหลายชนิดในสภาพปลอดเชื้อ จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1938 สามารถเลี้ยงอวัยวะของพืชได้หลายชนิด นับตั้งแต่นั้นเป็นต้นมาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการพัฒนาไปอย่างกว้างขวาง ปัจจุบันสามารถเลี้ยงเซลล์เดี่ยวและโปรโตพลาสต์หรือเซลล์ไร้ผนังของพืชหลายชนิดได้ (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540)

## 2.2 การขจัดสิ่งปนเปื้อน (Disinfection หรือ Disinfestion)

ในการแยกเนื้อเยื่อพืชมาเลี้ยง กระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญและขาดไม่ได้ คือ การขจัดสิ่งปนเปื้อนโดยเทคนิค disinfection หรือ disinfestion เพื่อขจัดสิ่งสกปรกและเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกจากผิวของเนื้อเยื่อ (รังสฤษดิ์ กาวีตั๊ะ. 2540) เนื่องจากในสภาพธรรมชาติส่วนต่างๆของพืชมีเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆติดอยู่ ไม่ว่าจะเป็นเชื้อรา หรือ แบคทีเรีย อันเป็นตัวการสำคัญของการปนเปื้อน (contamination) ในอาหารเพาะเลี้ยง เพราะเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และจะทำให้อาหารเน่าเสียอย่างรวดเร็ว ชิ้นส่วนพืชก็จะเน่าตายไปด้วย (ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536) สำหรับการขจัดสิ่งปนเปื้อนที่อาจติดมากับชิ้นส่วนพืชมีจุดมุ่งหมายสำคัญ 2 ประการ คือ

1. ขจัดหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ไม่ให้มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จนทำให้เกิดความเสียหายแก่ เนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยงได้

2. เพื่อลดผลของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อความเป็นกรดและด่าง (pH) การเคลื่อนย้ายธาตุอาหารและสารกระตุ้นการเจริญเติบโตจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง และการปลดปล่อยสารต่างๆที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการทางชีวเคมีของสิ่งมีชีวิต (metabolic by products) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อน (รังสฤษดิ์ กาวีตั๊ะ. 2540)

โดยทั่วๆไปแล้วการขจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากผิว (surface sterilization หรือ disinfection) ทำได้ยากในชิ้นส่วนที่มีขน หรือผิวขรุขระไม่เรียบ จึงควรใช้สารฟอกกำจัดเชื้อ (sterilization agents หรือ disinfectant) หลายๆชนิด (รังสฤษดิ์ กาวีตั๊ะ. 2540) ปัจจุบันมีสารเคมีหลายชนิดและวิธีการต่างๆที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อของตัวอย่างพืช ให้มีความปลอดเชื้อ ซึ่งผู้ทำการเพาะเลี้ยงต้องใช้ดุลยพินิจในการเลือกใช้ให้เกิดความเหมาะสมกับเนื้อเยื่อพืช และประสิทธิภาพที่จะได้รับ สารเคมีต่างๆที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อมีดังนี้

1. แอลกอฮอล์ (alcohol) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 70-95 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ประมาณ 2-5 นาที ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีมาก

2. คลอรอกซ์ (clorox) เป็นน้ำยาที่ใช้กันทั่วไปตามบ้านเรือน ที่จริงแล้วก็คือสารละลายที่มีส่วนผสมของโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 5.25 w/w ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 5-10 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ประมาณ 5-20 นาที ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีมาก

3. เมอคิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 0.1-1.0 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ประมาณ 2-10 นาที ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีพอสมควร

4. แคลเซียมไฮโปคลอไรด์ ($Ca(OCl)_2$) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 9-10 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ประมาณ 5-30 นาที ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีมาก

ประสิทธิภาพของสารฟอกกำจัดเชื้อเหล่านี้เป็นผลมาจากการตอบสนองต่อเวลาและปริมาณของสารที่ใช้ (time-dose response) โดยปกติประสิทธิภาพจะสูงขึ้นถ้าใช้เวลาและความเข้มข้นของสารมากขึ้น แต่ถ้าใช้มากเกินไปอาจทำอันตรายต่อความมีชีวิตของเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะของพืชได้ จึงต้องทดสอบหาปริมาณที่เหมาะสมก่อน (รังสฤษดิ์ กาวีตั๊ะ. 2540)

## 2.3 สารกำจัดเชื้อรา ( Fungicide)

benomyl เป็นสารกำจัดเชื้อราอยู่ในกลุ่ม benzimidazole ซึ่งจัดเป็นยากำจัดเชื้อรา ชนิดดูดซึม (systemic fungicides) พิษของ benomyl กว้างโดยเฉพาะใช้กับโรคทางใบ ราก และหัวเชื้อสาเหตุ คือ เชื้อในดิน (soil borne) และพบว่า benomyl จะมีพิษเมื่อละลายน้ำ (ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2528)

## 2.4 สารปฏิชีวนะ (Antibiotic)

โดยทั่วไปในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่นิยมให้ใช้สารปฏิชีวนะ เนื่องจากมีความเป็นไปได้ที่สารปฏิชีวนะในอาหารจะต่อต้านการเจริญเติบโตของเซลล์พืช ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั่วไปมักใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อร่วมกับวิธีการ aseptic technique เป็นหลัก แต่ในบางครั้งจะพบการเข้าทำลายของเชื้ออย่างรุนแรง จึงจำเป็นต้องใช้สารปฏิชีวนะ ซึ่งถือเป็นวิธีการสุดท้ายที่ใช้ เพื่อช่วยในการกำจัดแบคทีเรียให้หมดไป (Phillips *et al.* 1981)

rifampicin อยู่ในกลุ่มของ rifamycin ซึ่งเป็นสารปฏิชีวนะที่สร้างขึ้นโดย *Streptomyces mediterranei* สารกลุ่มนี้จะมีผลต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก(Gram+) และ *Mycobacterium tuberculosis* แต่มีผลน้อยกับแบคทีเรียแกรมลบ(Gram-) สำหรับ rifampicin เป็นสารในกลุ่มกึ่งสังเคราะห์จากธรรมชาติ สำหรับผลที่มีต่อแบคทีเรียนั้น เกี่ยวข้องเฉพาะกับการยับยั้งการสังเคราะห์ RNA โดยจะจับและยับยั้งเอนไซม์ DNA dependent RNA Polymerase ของแบคทีเรียที่ไวต่อสารนี้ (สายสมร ลำยอง. 2524) ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 15 μg/ml จะเป็นอันตรายต่อพวก microbes และจะเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืชที่ระดับความเข้มข้น 25 μg /ml (Anonymous. 1994)

cefotaxime เป็นสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก(Gram+)และแบคทีเรียแกรมลบ(Gram -) สำหรับ cefotaxime เป็นสารในกลุ่มของ β-lactam ที่สามารถยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ในขณะการแบ่งเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่ง β-lactam มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับขั้นตอนสุดท้ายของการสร้างผนังเซลล์ในการแบ่งเซลล์ของแบคทีเรีย (Young *et al.* 1984) พบว่า cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้น 90 μg/ml จะเป็นอันตรายต่อพวก microbes และจะเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืชที่ระดับความเข้มข้น 100 μg/ml (Anonymous. 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.5งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ถิรพงศ์ ญาณิสราพันธ์ (2528) ศึกษาการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมันในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดปาล์มน้ำมันในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 % เป็นเวลา 15 นาที ความเข้มข้น 95 % เป็นเวลา 15 นาที และ clorox ความเข้มข้น 50 % ที่เติม tween 20 2-3 หยด เป็นเวลา 30 นาที สามารถทำให้คัพภะมีการปนเปื้อนจากเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียได้น้อยที่สุด 4 % , 5% และ 5 % ตามลำดับ

สุเมธ อินทมาตย์ (2537) ได้ศึกษาเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาไหลของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกด้วย ethanol 70 % เป็นเวลา 1 นาที + mercuric chloride 0.1% เติม tween 20 2-3 หยด เป็นเวลา 10 นาที + calcium hypochlorite 5 % เติม tween 20 2-3 หยด เป็นเวลา 30 นาที + calcium hypochlorite 1% เติม tween 20 2-3 หยด เป็นเวลา 10 นาที + น้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร 1/2 MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 μM + BA ความเข้มข้น 10 μM สามารถทำให้ชิ้นส่วนตาไหลปลอดเชื้อ 90% และชักนำให้เกิดตามากที่สุด เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์

พัชรินทร์ แซ่ลิ้ม (2537) ศึกษาการใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อราสำหรับการเพาะเลี้ยงเฮลิโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อหน่อเฮลิโคเนียด้วย ethanol 70 % เป็นเวลา 1 นาที + mercuric chloride 0.1% เติม tween 20 2-3 หยด เป็นเวลา 10 นาที + calcium hypochlorite 10% เติม tween 20 2-3 หยด เป็นเวลา 10 นาที + calcium hypochlorite 5% เติม tween 20 2-3 หยด เป็นเวลา 20 นาที + น้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มีน้ำมะพร้าว 150 mg/l + BA 5 mg/l + benomyl 50 mg/l + cefotaxime 50 mg/l เป็นเวลา 8 สัปดาห์สามารถกำจัดเชื้อได้ 33 % และชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตเป็นปกติได้ 25 %

พิมล เที่ยงธรรม (2538) ศึกษาการเพาะเลี้ยงกฤษณาในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อส่วนยอดและใบของกฤษณา โดยการใช้สารละลาย mercuric chloride 0.5 % เติม tween 20 2-3 หยด เป็นเวลา 10 นาที สามารถลดเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วย clorox ระดับความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งการฟอกฆ่าเชื้อด้วย clorox ยังมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจุลินทรีย์สูง

สุธี ตั้นสกุล (2541) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์โมกซ้อนโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดโมกซ้อนด้วย mercuric chloride ความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 30-40 นาที และความเข้มข้น 0.5 % เป็นเวลา 5-15 นาที ทำให้ยอดโมกซ้อนอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ 100 % ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อด้วย clorox ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 10 นาที + clorox ความเข้มข้น 5 % เป็นเวลา 10 นาทีพบว่าชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเท่ากับ 6%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phillips *et al.* (1981) พบว่าการเพาะเลี้ยง *Helianthus tuberosus* (ทานตะวัน) ในอาหารที่มี rifampicin ที่ความเข้มข้น 50 µg/ml เพียงชนิดเดียวเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพเพียงพอในการควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยไม่มีผลข้างเคียงต่อการแบ่งเซลล์และการสังเคราะห์ DNA

Young *et al.* (1984) ได้ทดลองแยกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดของไม้เนื้อแข็ง 13 พันธุ์ พบว่าบางชนิดจะมีการติดเชื้อแบคทีเรียมากกว่า 1 ชนิด ส่วนใหญ่แบคทีเรียที่ได้จะเป็น แกรมลบ และยังพบอีกว่าการใช้สารปฏิชีวนะเพียงชนิดเดียวจะไม่มีประสิทธิภาพพอที่จะต่อต้านแบคทีเรียได้ แต่มีสารปฏิชีวนะบางตัวที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแบคทีเรียครอบคลุมกว่าชนิดอื่นๆ คือ tetracyclin และ rifampicin สำหรับการเพาะเลี้ยงปลายยอดของแอปเปิ้ล และ rhododendron เมื่อพบการติดเชื้อจะใช้ cefotaxime tetracyclin rifampicin และ polymyxin B ร่วมกันในความเข้มข้น 25, 25, 6 และ 6 mg/l ตามลำดับ จะสามารถกำจัดแบคทีเรียให้หมดไปได้ โดยไม่มีผลข้างเคียงต่อยอดที่เพาะเลี้ยง

Haldeman *et al.* (1987) พบว่าการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อรา benomyl และสารปฏิชีวนะ rifampicin ร่วมกันจะมีประสิทธิภาพในการควบคุมการติดเชื้อราและแบคทีเรีย จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของ *Camellia sinensis* หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอาหารที่เติม benomyl ความเข้มข้น 1, 2 หรือ 4 g/l ร่วมกับ rifampicin ความเข้มข้น 10, 20 หรือ 50 mg/l จะสามารถลดการติดเชื้อได้ โดยไม่มีผลข้างเคียงที่เป็นพิษ

Mathias and Mukasa (1987) ได้ศึกษาถึงการใช้สารปฏิชีวนะคือ cefotaxime ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวบาร์เลย์ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ Apex, Blenheim, Everest และ Porter พบว่าการใช้ cefotaxime ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต การพัฒนา และการเกิด embryogenesis ในแคลลัส และพบว่าการใช้ cefotaxime ความเข้มข้น 60 µg/ml ช่วยให้เกิด แคลลัสสูงที่สุดใน 3 สายพันธุ์ คือ Apex, Blenheim และ Everest ส่วนสายพันธุ์ Porter ทำให้เกิดแคลลัสสูงที่สุดที่ cefotaxime ความเข้มข้น 100 µg/ml

Tsang *et al.* (1989) ได้ศึกษาถึงความเป็นพิษของ kanamycin , hygromycin B, geneticin, methotrexate และ cefotaxime ในการเพาะเลี้ยง embryo ของ *Picea glauca* โดยสามารถชักนำตาให้เกิด adventitious bud ได้ 20 ตาต่อ embryo แต่การใส่ antibiotic จะทำให้ลดจำนวนของตาลง ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความเป็นพิษของ antibiotic นอกจากนี้ยังพบว่า การเพาะเลี้ยง embryo ของ *Picea glauca* ที่มีอายุ 2 และ 9 วัน ในอาหารที่มี cefotaxime ความเข้มข้น 100 µg/ml และ 200 µg/ml มีการเจริญเติบโต 100 % ยกเว้นชิ้นส่วนที่มีอายุ 9 วัน ในอาหารที่มี cefotaxime ความเข้มข้น 200 µg/ml ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตเพียง 95 % โดยไม่เกิดความเป็นพิษต่อพืช และชิ้นส่วนของพืชที่มีอายุ 2 วันจะมีความไวต่อสารปฏิชีวนะมากกว่าชิ้นส่วนที่มีอายุ 9 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Barrett and Cassells (1994) ได้ทดลองหาความสามารถของสารปฏิชีวนะในการต่อต้านการทำงานของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. Pelargonii (Xcp.) โดยทดสอบหาความไวของเชื้อและผลที่มีต่ออาหาร พบว่ามี antibiotic หลายตัวที่สามารถลดการติดเชื้อ และไม่มีผลข้างเคียงในภายหลัง สำหรับ tetracyclin และ cefotaxime จะใช้ในการเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสง ส่วน cefotaxime ใช้ความเข้มข้นน้อยที่สุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและใส่ลงไปในอาหารเพาะเลี้ยง พบว่า cefotaxime สามารถกำจัดเชื้อและกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ที่ความเข้มข้นมากกว่า 500 mg/l

Levin *et al.* (1996) พบว่าในการเพาะเลี้ยง Syngonium ในอาหารเหลวที่มีซูโครส ที่ผ่านการกรองจะมีการติดเชื้อสูง โดยหลังจาก 30 วันจะมีการผลิตยอด 19.5 ยอด/น้ำหนักสดเป็นกรัมของเชื้อที่ใส่ลงไป และเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนยอดที่ได้จากอาหารที่ไม่ผ่านการกรองซึ่งมีจำนวนยอด 8.7 ยอด และเมื่อย้ายไปยังอาหารที่มี rifampicin ความเข้มข้น 30 mg/l จะมีการสร้างยอด 67 % และอาหารที่ไม่ใส่ rifampicin จะมีการสร้างยอดเพียง 40 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3

# วิธีการดำเนินงาน

## 3.1. อุปกรณ์

1. เครื่องมือที่ใช้ในตู้ laminar flow : ปากคีบ มีดผ่าตัด จานแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์ ขวดแช่เครื่องมือ บีกเกอร์ flask และ filter

2. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร : หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง เตาแก๊ส เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น กระบวกตวง บีกเกอร์ ปิเปตต์ แท่งแก้วคนสาร และขวดแก้วขนาดเล็กพร้อมฝาปิด

3. สารเคมีสำหรับการเตรียมอาหาร

- สูตร Eeuwens(1976)(ดูภาคผนวก)

4. สารควบคุมการเจริญเติบโต

- BA (6-Benzylaminopurine)

5. สารเคมีสำหรับปรับความเป็นกรด-ด่าง

- NaOH 1 N
- HCl 1 N

6. สารปฏิชีวนะ

- rifampicin
- cefotaxime

7. สารกำจัดเชื้อรา

- benlate (เป็นชื่อทางการค้าประกอบด้วย benomyl 50 % w/w)

8. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ

- ethanol 70%
- mercuric chloride
- calcium hypochlorite
- clorox
- tween 20

9. อุปกรณ์การถ่ายภาพ

10. สะละพันธุ์เนินวง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.2 วิธีการ

### 3.2.1 การเตรียมสูตรอาหาร Eeuwens (1976)

เตรียม stock solution โดยเตรียม Macroelement ให้มีความเข้มข้นของ stock solution 10 เท่า ของความเข้มข้นที่ต้องการ ส่วน Microelement และ Organic compound เตรียมให้มีความเข้มข้นของ stock solution 100 เท่า ของความเข้มข้นที่ต้องการ ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร stock solution ของ Macroelement ที่มีความเข้มข้น 10 เท่า จะใช้ 100 ml ส่วน Microelement และ Organic compound ที่มีความเข้มข้น 100 เท่าจะใช้ 10 ml จากนั้นเติมน้ำตาล 45 กรัม แล้วปรับ pH ของอาหารเท่ากับ 5.5-5.7 ด้วย NaOH 1 N หรือ HCl 1N และใส่วุ้นแล้วนำไปต้ม หลังจากนั้นนำไปกรอกใส่ขวดขนาดเล็กนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 20 นาที

### 3.2.2 การเตรียมหน่อ

1)นำหน่อมาทำการล้างน้ำให้สะอาด แล้วลอกก้านใบที่มีสิ่งสกปรกออก จากนั้นนำมาผ่านน้ำไหลนานอย่างน้อยประมาณ 45 นาที

2)นำชิ้นส่วนไปทำการฟอกฆ่าเชื้อตามวิธีการทดลองต่อไป

### 3.2.3 สภาพห้องเนื้อเยื่อ

นำไปเก็บไว้ในที่มีแสง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส โดยมีช่วงแสง 16 ชั่วโมง/วัน

### 3.2.4 วิธีการทดลอง

<u>การทดลองที่ 1</u> ศึกษาผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของสะละ

1.1 การศึกษาผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละ

นำหน่อที่มาจากต้นของสะละมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ ตามที่กำหนดในวิธีการทดลอง หลังจากนั้นนำปลายยอดของหน่อไปเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA 1 mg/l และเก็บไว้ในที่มีแสง 16 ชั่วโมง/วัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 4 Treatment จำนวน 3 ซ้ำ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**วิธีการที่ 1**

1. ethanol 70% นาน 1 นาที
2. clorox 50% + tween20 2 หยด นาน 20 นาที
3. ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที

**วิธีการที่ 2**

1. ethanol 70% นาน 1 นาที
2. mercuric chloride 0.5%+ tween20 2 หยด นาน 10 นาที
3. ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที

**วิธีการที่ 3**

1. ethanol 70% นาน 1 นาที
2. mercuric chloride 0.1%+ tween20 2 หยด นาน 10 นาที
3. calcium hypochlorite 10%+ tween20 2 หยด นาน 10 นาที
4. calcium hypochlorite 5%+ tween20 2 หยด นาน 20 นาที
5. ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที

**วิธีการที่ 4**

1. ethanol 70% นาน 1 นาที
2. mercuric chloride 0.1%+ tween20 2 หยด นาน 10 นาที
3. calcium hypochlorite 5%+ tween20 2 หยด นาน 30 นาที
4. calcium hypochlorite 1%+ tween20 2 หยด นาน 10 นาที
5. ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที

1.2 การศึกษาผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละ

นำหน่อที่มาจากต้นของสะละมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆตาม ตามที่กำหนดในวิธีการทดลอง หลังจากนั้นนำส่วนของใบอ่อนไปเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA 1 mg/l และเก็บไว้ในที่มีแสง 16 ชั่วโมง/วัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 4 Treatment จำนวน 3 ซ้ำ วิธีการทดลองเหมือนกับ การทดลองที่ 1.1

**การบันทึกผล**

1. บันทึกชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน
2. จำนวนชิ้นส่วนตาย
3. จำนวนชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**<u>การทดลองที่ 2</u>** การศึกษาผลของสารกำจัดเชื้อราและสารปฏิชีวนะที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนสะละ

2.1 การศึกษาผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงปลายยอดสะละ

นำหน่อที่มาจากต้นของสะละ มาฟอกฆ่าเชื้อโดยวิธีการที่ดีที่สุดจากการทดลอง 1.1 หลังจากนั้นนำปลายยอดของหน่อไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ในระดับต่างๆตามวิธีการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 5 Treatment จำนวน 4 ซ้ำ ดังนี้

1. benomyl 50 mg/l
2. benomyl 50 mg/l + rifampicin 15 mg/l
3. benomyl 50 mg/l + rifampicin 25 mg/l
4. benomyl 50 mg/l + cefotaxime 50 mg/l
5. benomyl 50 mg/l + cefotaxime 100 mg/l

วิธีการ

เตรียมอาหารสูตรพื้นฐาน ซึ่งประกอบด้วยสูตร Eeuwens (1976) ที่เติม BA 1 mg/l และใส่ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ตาม Treatment combination โดยการเตรียมสูตรอาหารพื้นฐานและเติม benomyl 50 mg/l นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที หลังจากนั้นทำการกรอง rifampicin และ cefotaxime ให้ปลอดเชื้อด้วย filter ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วภายในตู้ laminar flow ปิเปต rifampicin และ cefotaxime ลงในอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่มีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส แล้วเทลงขวดขนาดเล็กในตู้ laminar flow จากนั้นตัดชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้ บันทึกผลการทดลองทุกสัปดาห์ และย้ายลงไปในอาหารสูตร Eeuwens (1976) เติม BA 1 mg/l ที่ไม่มีสารปฏิชีวนะและสารกำจัดเชื้อรา 3 สัปดาห์หลังการเพาะเลี้ยง

2.2 การศึกษาผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงใบอ่อนสะละ

นำหน่อที่มาจากต้นของสะละ มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการที่ดีที่สุดจากการทดลอง 1.2 หลังจากนั้นนำส่วนของใบอ่อนไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ในระดับต่างๆตาม Treatment combination วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 5 Treatment จำนวนละ 3 ซ้ำ วิธีการทดลองเหมือนกับ การทดลองที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การบันทึกผล**

1. บันทึกชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน
2. บันทึกชิ้นส่วนตาย
3. จำนวนชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโต
4. บันทึกลักษณะการเจริญเติบโตโดยการให้คะแนน โดยมีหลักเกณฑ์การให้คะแนนการเจริญเติบโต ดังนี้

4.1 การให้คะแนนของการเจริญเติบโตชิ้นส่วนปลายยอด (ภาพที่ 1 )

คะแนน 1 ชิ้นส่วนตาย เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือดำ

คะแนน 2 ชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล 2/3 ของชิ้นส่วน ปลายชิ้นส่วนยังมีสีเหลืองอยู่

คะแนน 3 ชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล 1/2 ของชิ้นส่วน ปลายชิ้นส่วนยังมีสีเหลืองอยู่

คะแนน4 ชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล 1/3 ของชิ้นส่วน ปลายชิ้นส่วนยังมีสีเหลืองอยู่ หรือเริ่มมีแคลลัสสีส้มเกิดขึ้นเล็กน้อย

คะแนน 5 ชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเล็กน้อย มีแคลลัสสีส้มเกิดขึ้น

4.2 การให้คะแนนของการเจริญเติบโตชิ้นส่วนใบอ่อน (ภาพที่ 2 )

คะแนน 1 ชิ้นส่วนตาย เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

คะแนน 2 ชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล 1/2 ของชิ้นส่วน ปลายชิ้นส่วนยังมีสีเหลืองอยู่

คะแนน 3 ชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล 1/3 ของชิ้นส่วน ปลายชิ้นส่วนยังมีสีเหลืองอยู่

คะแนน 4 ชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเล็กน้อย ชิ้นส่วนยังมีสีเหลืองอยู่

## 3.3 การวิเคราะห์ผล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ในระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

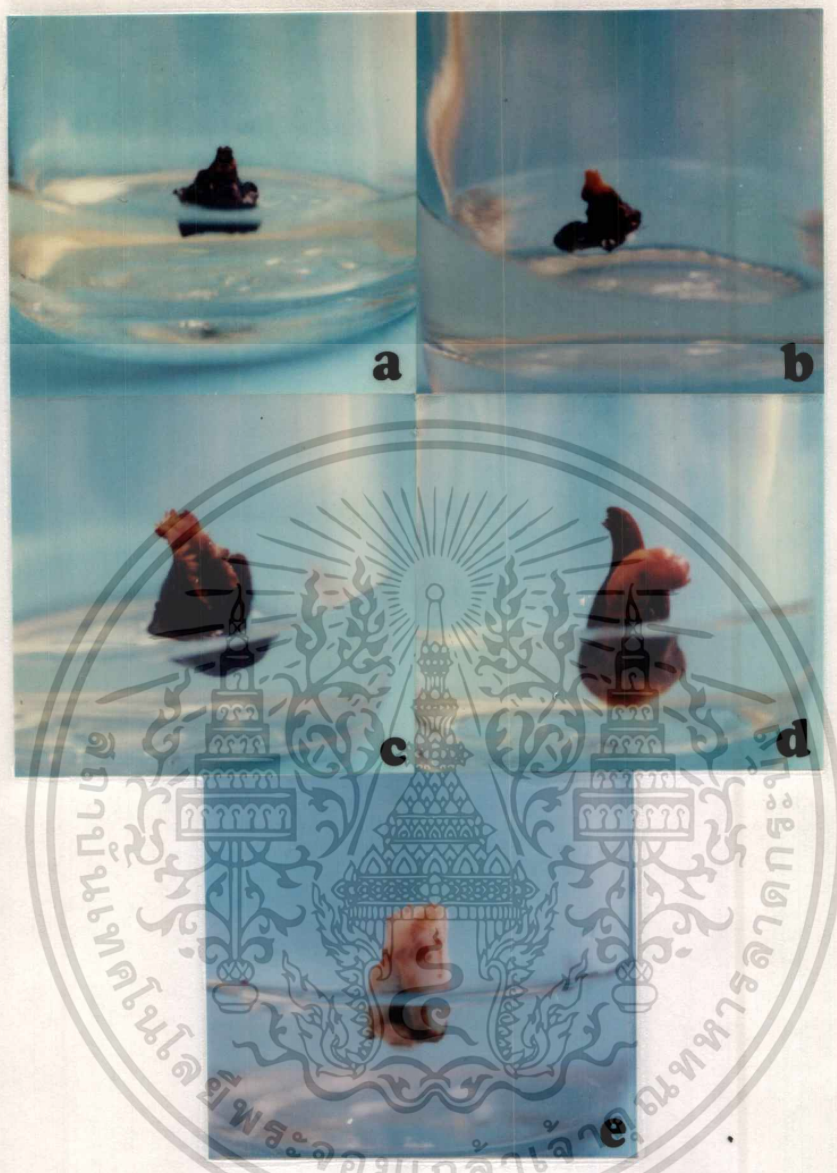
## 3.4 สถานที่ดำเนินงาน

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

## 3.5 ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

| | |
|---|---|
| เริ่มการทดลอง | ตุลาคม 2542 |
| สิ้นสุดการทดลอง | ธันวาคม 2543 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 1** แสดงลักษณะคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนปลายยอดสะละ

a : แสดงการให้คะแนน 1 (กำลังขยาย 1.52X)

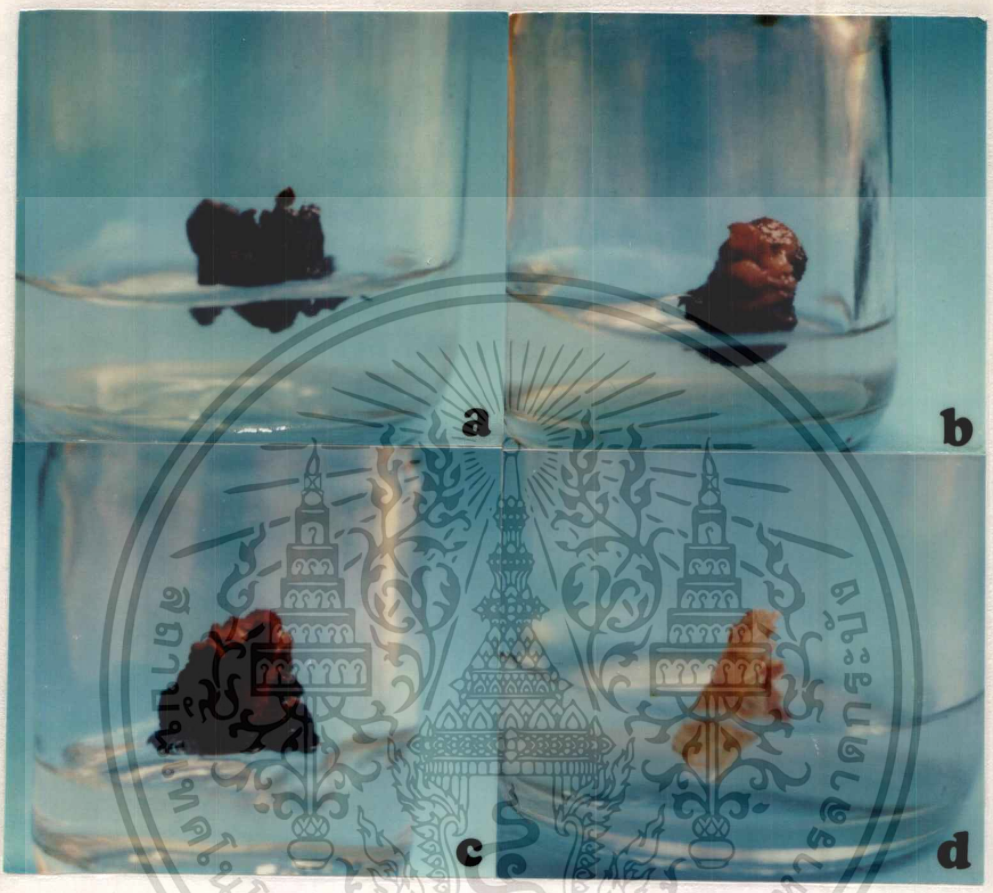
b : แสดงการให้คะแนน 2 (กำลังขยาย 1.48X)

c : แสดงการให้คะแนน3 (กำลังขยาย 1.67X)

d : แสดงการให้คะแนน 4 (กำลังขยาย 1.36X)

e : แสดงการให้คะแนน 5 (กำลังขยาย 1.57X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 2** แสดงลักษณะคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนใบอ่อนสะละ

a : แสดงการให้คะแนน 1 (กำลังขยาย 1.50X)

b : แสดงการให้คะแนน 2 (กำลังขยาย 1.31X)

c : แสดงการให้คะแนน3 (กำลังขยาย 1.26X)

d : แสดงการให้คะแนน 4 (กำลังขยาย 1.60X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4

# ผลการทดลอง

## 4.1 ผลการทดลอง

<u>การทดลองที่ 1</u> การศึกษาผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วน ที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของสะละ

1.1 การศึกษาผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละ

<u>ชิ้นส่วนอายุ 1-3 สัปดาห์</u>

ผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละเมื่อชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์ พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ มีผลต่อการควบคุมการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยการใช้สูตรฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 44.44% ส่วนในวิธีการที่ 1, 2 และ 3 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 22.22 %, 11.11 % และ 33.33 % ตามลำดับ และพบว่าการปนเปื้อนเกิดจากเชื้อแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ โดยแบคทีเรียจะเกิดบริเวณด้านล่างของชิ้นส่วนแผ่ไปยังบริเวณวุ้นที่ติดกับชิ้นส่วน และพบชิ้นส่วนเกิดการปนเปื้อนของเชื้อราขึ้นในวิธีการที่ 3 และ 4 อย่างละ 1 ชิ้นส่วน เมื่อชิ้นส่วนอายุ 1-2 สัปดาห์ในทุกวิธีการพบการเจริญเติบโตเป็นปกติ ปลายยอดมีสีเหลืองอ่อน ปลายชิ้นส่วนที่ลักษณะเหมือนใบมีการขยายตัวเล็กน้อย และมีบางชิ้นส่วนที่บริเวณโคนและปลายของชิ้นส่วนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงนานขึ้น ยกเว้นในวิธีการที่1 ชิ้นส่วนที่บริเวณโคนและปลายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลโดยเฉพาะบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วน และนอกจากนี้เมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงเพิ่มขึ้นยังพบว่ามีบางชิ้นส่วนที่มีการเจริญผิดปกติ คือ มีสีน้ำตาลเกิดขึ้นทั้งชิ้นส่วนทำให้ชิ้นส่วนไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์ เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของชิ้นส่วนไม่แตกต่างจากสัปดาห์ที่ 1 ในวิธีการที่ 1 ชิ้นส่วนมีสีน้ำตาลเข้มมาก และมีน้ำสีน้ำตาลเยิ้มออกมาจากด้านบนของชิ้นส่วน ทำให้ที่โคนของชิ้นส่วนมีสีดำและไม่มีการเปลี่ยนแปลงจนชิ้นส่วนตายในที่สุด ส่วนวิธีการที่ 2 และ 3 ชิ้นส่วนเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาลเข้มมากเกือบเป็นสีดำ แต่ยังมีสีเหลืองอยู่บ้าง และวิธีการที่ 4 ชิ้นส่วนมีการแตกปลายยอดใหม่แทนปลายยอดเดิมเกิดขึ้น 1 ชิ้นส่วน สำหรับชิ้นส่วนที่เหลือในวิธีการเดียวกันเริ่มมีสีน้ำตาลมากขึ้นจากสัปดาห์ที่ 2

<u>ชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์</u>

หลังจากชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์ ทำการย้ายชิ้นส่วนลงอาหารใหม่ และในสัปดาห์หลังจากชิ้นส่วนถูกย้าย พบว่าผลของการปลอดเชื้อของแต่ละชิ้นส่วนที่ใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 1 )โดยวิธีการที่ 4 มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 44.44 % มีชิ้นส่วนตาย 22.22 % และมีชิ้นส่วนที่สามารถเจริญเติบโตเท่ากับ 22.22 % โดยชิ้นส่วนที่เจริญเติบโตจะมีลักษณะสีน้ำตาลเกิดขึ้นที่ชิ้นส่วนเล็กน้อย ส่วนปลายของชิ้นส่วนยังคงมีสีเหลืองและสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ มีเพียง 1 ชิ้นส่วนที่มีการแตกปลายยอดใหม่สีเหลืองอ่อนเกิดขึ้น สำหรับปลายยอดเก่าในชิ้นส่วนเดียวกันมีสีน้ำตาลเข้มและตายไปในที่สุด ส่วนวิธีการที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อน้อยที่สุด คือ 11.11 % และพบว่าชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อสามารถเติบโตต่อไปได้ทั้งหมด โดยไม่เกิดความเป็นพิษกับชิ้นส่วน ส่วนในวิธีการที่ 1 และ 3 มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อ 22.22 % และ 33.33 % ตามลำดับ มีชิ้นส่วนตายเท่ากันคือ 22.22 % โดยวิธีการที่ 3 มีชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตได้ 11.11% ส่วนในวิธีการที่ 1 ชิ้นส่วนไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้เนื่องจากชิ้นส่วนเกิดสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำมากและมีการปล่อยสารสีน้ำตาลออกมาบนอาหาร ทำให้การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนช้าลงตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่เพิ่มขึ้น จนไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆของชิ้นส่วนเกิดขึ้น

**ตารางที่1** แสดงผลการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละ เมื่อปลายยอดอายุ 4 สัปดาห์

| วิธีการ | % การปลอดเชื้อ (±SE) | %ชิ้นส่วนเจริญเติบโต (±SE) | % ชิ้นส่วนตาย (±SE) |
|---|---|---|---|
| วิธีการที่1 | 22.22 ±6.41 | 0.00 ±0.00 | 22.22± 6.41 |
| วิธีการที่2 | 11.11 ±6.41 | 11.11 ±6.41 | 0.00 ± 0.00 |
| วิธีการที่3 | 33.33 ±11.11 | 11.11± 5.24 | 22.22 ±6.41 |
| วิธีการที่4 | 44.44 ±6.41 | 22.22± 5.24 | 22.22 ±5.24 |
| F-test | ns | ns | ns |
| CV(%) | 74.98 | 138.03 | 94.53 |

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การทดลองที่ 1.2 การศึกษาผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละ**

ชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์

ผลของการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละเมื่อชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์ พบว่าการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ มีผลต่อสภาพปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 2 ) โดยชิ้นส่วนใบอ่อนของสะละที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 66.67 % ส่วนวิธีการที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อน้อยที่สุด คือ 33.33 % และพบว่าทุกวิธีการชิ้นส่วนยังคงมีสีเหลืองอ่อนอยู่ ใบเริ่มคลี่ ขนาดใบเริ่มใหญ่ขึ้น ยกเว้นวิธีการที่ 1 ใบเริ่มมีสีน้ำตาลเกิดขึ้นเล็กน้อยบางชิ้นส่วน โดยเริ่มจากด้านล่างของชิ้นส่วน ซึ่งการปนเปื้อนของชิ้นส่วนใบอ่อน เกิดจากแบคทีเรียทั้งหมด ลักษณะของแบคทีเรียจะเกิดบริเวณด้านล่างของชิ้นส่วนที่ติดกับอาหาร ซึ่งในสัปดาห์แรกชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อนยังสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

ชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์

ผลของการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละเมื่อชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์ พบว่าการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ มีผลต่อสภาพปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 2 ) แต่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากสัปดาห์ที่ 1 โดยชิ้นส่วนใบอ่อนของสะละที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 55.56 % ส่วนวิธีการที่ 1 มีสภาพการปลอดเชื้อน้อยที่สุด คือ 22.22 % และในวิธีการที่ 2 และ 3 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากันคือ 33.33 % และพบว่าทุกวิธีการมีลักษณะใบที่ขยายมากขึ้น ส่วนใหญ่ใบยังคงมีสีเหลืองอ่อนอยู่ มีบางชิ้นส่วนปลายใบและโคนใบเริ่มมีสีน้ำตาล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในวิธีการที่ 1 มีบางชิ้นส่วนที่ด้านล่างของชิ้นส่วนมีลักษณะน้ำสีน้ำตาลเยิ้มออกมาดคล้ายเน่าตาย และใบอ่อนในวิธีการนี้ไม่ค่อยมีการเจริญเติบโต

ชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์

ผลของการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละเมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์ พบว่าการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ มีผลต่อสภาพปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 2) โดยชิ้นส่วนใบอ่อนของสะละที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 44.44 % ส่วนวิธีการที่ 2 และ 3 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากันคือ 33.33 % โดยทุกวิธีการชิ้นส่วนใบมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น แต่ลักษณะสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 เริ่มมีลักษณะสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นและมีสีเข้มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งยังสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ ยกเว้นในวิธีการที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อน้อยที่สุดเท่ากับ 22.22 % ใบเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้น จนทำให้บางชิ้นส่วนไม่ค่อยมีการเจริญเติบโต และมีชิ้นส่วนตายเนื่องจากลักษณะน้ำสีน้ำตาลเยิ้มออกมาด้านล่างของชิ้นส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์

ผลของการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละเมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์ พบว่าการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ มีผลต่อสภาพปลอดเชื้อแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.01$) (ตารางที่ 3 ) โดยชิ้นส่วนใบอ่อนของสะละที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 44.44 % มีชิ้นส่วนตาย 16.67 % และมีชิ้นส่วนอยู่ในสภาพที่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ 27.78 % และพบว่าชิ้นส่วนที่อยู่ในสภาพที่สามารถเจริญต่อไปได้ มีการเจริญปกติ ใบอ่อนมีขนาดใหญ่เพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 3 และพบว่าใบอ่อนยังมีสีเหลืองอยู่ แต่มีบางชิ้นส่วนที่มีสีน้ำตาลเล็กน้อย ส่วนในวิธีการที่ 2 และ 3 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 33.33 % และ 27.78 % ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การตาย 22.22 %และ 16.67 % ตามลำดับ โดยชิ้นส่วนใบอ่อนที่สามารถเจริญต่อไปได้ในทุกวิธีการจะเกิดมีสีน้ำตาลขึ้นที่บริเวณขอบใบ โดยเริ่มจากขอบใบด้านบนก่อน ส่วนบริเวณก้านใบยังคงมีสีเหลืองอยู่ และจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงเพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างจากวิธีการที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อน้อยที่สุด คือ 16.67 % มีชิ้นส่วนตาย 11.11 % และมีชิ้นส่วนที่อยู่ในสภาพที่สามารถเจริญต่อไปได้ 5.56 % ชิ้นส่วนที่ตายในวิธีการนี้จะมีลักษณะน้ำเยิ้มออกมาบริเวณด้านล่างของชิ้นส่วนทำให้วุ้นเกิดเป็นสีน้ำตาล และเน่าตายในที่สุด ซึ่งการปนเปื้อนในทุกวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

**ตารางที่2** แสดงเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ

| วิธีการ | % การปลอดเชื้อ ( ±SE) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 สัปดาห์ | 2 สัปดาห์ | 3 สัปดาห์ | 4 สัปดาห์1/ |
| วิธีการที่1 | 55.56 ± 7.86 | 22.22 ± 11.86 | 22.22± 3.20 | 16.67 ± 0.00 c |
| วิธีการที่2 | 33.33 ± 0.00 | 33.33 ± 0.00 | 33.33± 0.00 | 33.33 ± 0.00 ab |
| วิธีการที่3 | 66.67 ± 11.11 | 33.33 ± 9.63 | 33.33 ± 9.63 | 27.78 ± 5.56 bc |
| วิธีการที่4 | 55.56 ± 5.56 | 55.56 ± 5.56 | 44.44 ± 3.20 | 44.44 ± 3.20 a |
| F-test | ns | ns | ns | ** |
| CV(%) | 33.25 | 30.89 | 19.42 | 12.94 |

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่3** แสดงผลการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละ เมื่อใบอ่อนอายุ 4 สัปดาห์

| วิธีการ | % การปลอดเชื้อ (±SE)1/ | %ชิ้นส่วนเจริญเติบโต (±SE) | % ชิ้นส่วนตาย (±SE) |
|---|---|---|---|
| วิธีการที่1 | 16.67 ± 0.00 c | 5.56 ± 2.62 | 11.11± 4.54 |
| วิธีการที่2 | 33.33 ± 0.00 ab | 11.11± 4.54 | 22.22 ± 4.54 |
| วิธีการที่3 | 27.78 ± 5.56 bc | 11.11± 4.54 | 16.67 ± 5.56 |
| วิธีการที่4 | 44.44 ± 3.20 a | 27.78 ± 4.54 | 16.67± 0.00 |
| F-test | ** | ns | ns |
| CV(%) | 12.94 | 67.31 | 51.86 |

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**<u>การทดลองที่ 2</u> การศึกษาผลของสารกำจัดเชื้อราและสารปฏิชีวนะที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนสะละ**

**การทดลองที่ 2.1 การศึกษาผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงปลายยอดสะละ**

**(1) การปลอดเชื้อของชิ้นส่วน**

**<u>ชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์</u>**

**จากตารางที่ 4 พบว่าผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของชิ้นส่วนปลายยอดสะละมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$) โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 91.67 % ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l เพียงชนิดเดียวมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อน้อยที่สุด คือ 25.00 % ส่วนชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 15 mg/l และ benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากันคือ 66.67 % และชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 50 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากับ 75.00 % โดยการปนเปื้อนของชิ้นส่วนทั้งหมดเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ที่มีลักษณะสีขาวขุ่นบริเวณด้านล่างและรอบๆ ชิ้นส่วน แต่ชิ้นส่วนที่เกิดการปนเปื้อนในสัปดาห์แรกนี้ยังสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้**

**<u>ชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์</u>**

**จากตารางที่ 4 พบว่าผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของชิ้นส่วนปลายยอดสะละมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$) โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 91.67 % และชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l เพียงชนิดเดียวมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อน้อยที่สุด คือ 25.00 % ส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 15 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อลดลงโดยในสัปดาห์นี้มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากับ 50.00% และพบว่าในทุกวิธีการชิ้นส่วนเริ่มมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเล็กน้อย โดยส่วนใหญ่เริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลบริเวณด้านบนของชิ้นส่วน ยกเว้นชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีบางชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มตั้งแต่บริเวณด้านล่างจนเกือบถึงปลายของชิ้นส่วน และการปนเปื้อนของชิ้นส่วนทั้งหมดเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย โดยชิ้นส่วนที่เกิดการปนเปื้อนในสัปดาห์แรกมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มจนถึงสีดำและไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์

จากตารางที่ 4 พบว่าผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของชิ้นส่วนปลายยอดสะละมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$) โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 91.67 % สำหรับชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 15 mg/l , benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l และ benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 50 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อลดลงโดยในสัปดาห์นี้มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากับ 41.67 % , 50.00 %และ 66.67 % ตามลำดับ ชิ้นส่วนที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อในทุกวิธีการส่วนใหญ่เริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 2 โดยเฉพาะชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l ชิ้นส่วนที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในสัปดาห์ที่ 2 เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจนถึงสีดำทั้งชิ้นส่วน บางชิ้นส่วนมีน้ำสีน้ำตาลเยิ้มออกมาจากชิ้นส่วนจนไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้และตายในที่สุด

หลังจากปลายยอดมีอายุ 3 สัปดาห์จึงย้ายชิ้นส่วนปลายยอดไปยังอาหารสูตร Eeuwens ($Y_3$)(1976) ร่วมกับ BA 1 mg/l ที่ไม่มีสารกำจัดเชื้อรา (benomyl) และสารปฏิชีวนะ (rifampicin, cefotaxime)

ชิ้นส่วนอายุ 4-6 สัปดาห์

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์พบว่าทุกชิ้นส่วนที่ถูกย้ายไปยังอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ไม่มีการปนเปื้อนเกิดขึ้น เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของชิ้นส่วนปลายยอดสะละมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$) (ตารางที่ 4 )โดยชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 91.67 % และชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l เพียงชนิดเดียวมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อน้อยที่สุด คือ 25.00 % เมื่อชิ้นส่วนอายุ 6 สัปดาห์ (ตารางที่ 5) พบว่าชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีชิ้นส่วนตาย 58.33 % ชิ้นส่วนเจริญเติบโตต่อไปได้ 33.33% ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l และ benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีชิ้นส่วนเจริญเติบโตเท่ากันคือ 8.33 % สำหรับชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 15 mg/l ชิ้นส่วนไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ เนื่องจากการเกิดสีน้ำตาลขึ้นที่ชิ้นส่วน ทำให้ชิ้นส่วนไม่สามารถเจริญเติบโตและตายในที่สุด โดยพบว่าการเกิดสีน้ำตาลบนชิ้นส่วนมากขึ้นเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนเป็นระยะเวลานานขึ้น

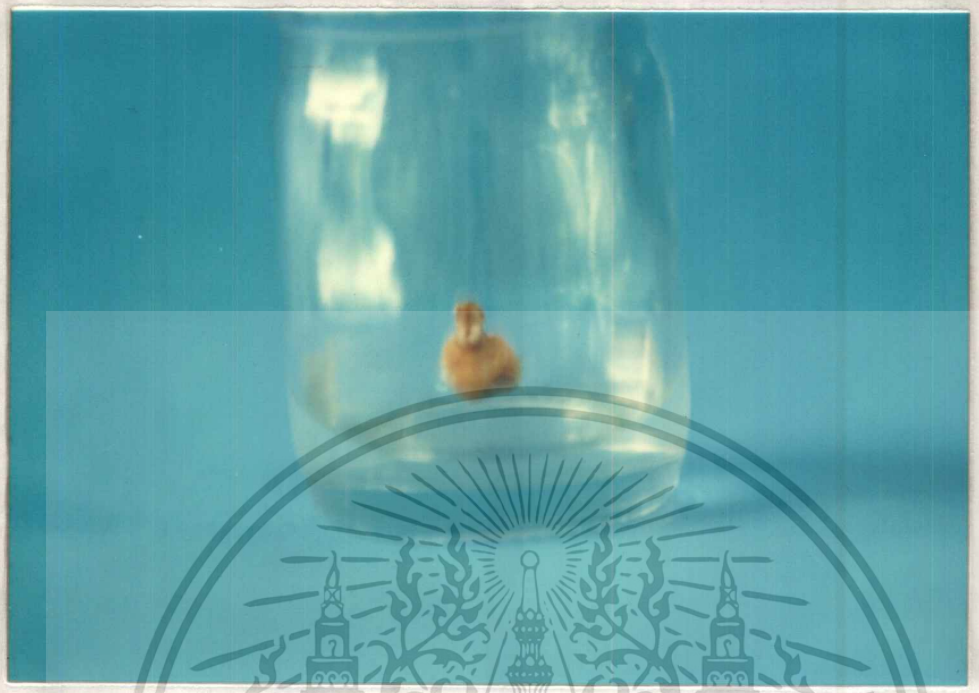
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) การเจริญเติบโตของชิ้นส่วน

จากตารางที่ 6 พบว่าเมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 1 สัปดาห์ ชิ้นส่วนปลายยอดในทุกวิธีการมีการเจริญเติบโตเป็นปกติ คือชิ้นส่วนปลายยอดมีสีเหลืองอ่อน มีลักษณะเหมือนกับชิ้นส่วนหลังจากการฟอกฆ่าเชื้อ และมีการเจริญเติบโตโดยมีขนาดเพิ่มขึ้น มีสีน้ำตาลเกิดขึ้นเล็กน้อยบริเวณบาดแผลที่เกิดจากการตัด ชิ้นส่วนปลายยอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 15 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตดีที่สุด คือ 3.92 คะแนน ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับวิธีการอื่นๆ สัปดาห์ที่ 2 ชิ้นส่วนในทุกวิธีการทดลองส่วนใหญ่ยังมีการเจริญเติบโตเป็นปกติ ชิ้นส่วนมีสีเหลืองอ่อน มีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์แรก แต่มีบางชิ้นส่วนเกิดสีน้ำตาลที่ปลายและฐานของชิ้นส่วนเล็กน้อย ส่วนบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วนมีสีน้ำตาลเข้มมากขึ้น โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 50 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตดีที่สุด คือ 3.33 คะแนน สัปดาห์ที่ 3 ชิ้นส่วนในทุกวิธีการส่วนใหญ่สามารถเจริญเติบโตต่อได้ มีบางชิ้นส่วนตายเนื่องจากการเกิดสีน้ำตาลทั้งชิ้นส่วน ทำให้คะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตในทุกวิธีการลดลง ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตดีที่สุด คือ 2.83 คะแนน และชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l เพียงชนิดเดียว มีคะแนนการเจริญเติบโตน้อยที่สุด คือ 1.41 คะแนน หลังจากทำการย้ายชิ้นส่วนในสัปดาห์ที่ 3 ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร $Y_3$ + BA 1 mg/l ที่ปราศจากสารกำจัดเชื้อรา (benomyl) และสารปฏิชีวนะ (rifampicin และ cefotaxime) พบว่า สัปดาห์แรกหลังจากย้ายชิ้นส่วนไปบนอาหารที่ปราศจากสารกำจัดเชื้อรา (benomyl) และสารปฏิชีวนะ (rifampicin และ cefotaxime) ทุกชิ้นส่วนของปลายยอดมีสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น แต่ชิ้นส่วนส่วนใหญ่ยังสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ มีเพียงบางชิ้นส่วนที่ตายจากการเกิดสีน้ำตาลของชิ้นส่วน เช่นเดียวกับสัปดาห์ที่ 3 (ในอาหารที่มีสารกำจัดเชื้อราและสารปฏิชีวนะ )โดยชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l และbenomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 50 mg/l มีแคลลัสสีส้มเกิดขึ้นโดยเกิดบริเวณส่วนฐานของชิ้นส่วนวิธีการละ 1 ชิ้นส่วน (ภาพที่ 3 ) ส่วนชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีแคลลัสสีส้มเกิดขึ้น 2 ชิ้นส่วนและ มีการแตกปลายยอดใหม่แทนปลายยอดเดิมเกิดขึ้น 1 ชิ้นส่วน (ภาพที่ 4 ) สัปดาห์ที่ 5-6 หลังจากเพาะเลี้ยงพบว่า คะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตยังคงลดลงเนื่องจากการเกิดสีน้ำตาลและการตายของชิ้นส่วน คะแนนเฉลี่ยของการเจริญเติบโตในสัปดาห์ที่ 6 มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) โดยชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตสูงที่สุด คือ 2.00 คะแนน แคลลัสที่เกิดขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 มีลักษณะสีส้มเข้มมากขึ้นเกือบเป็นสีน้ำตาลอ่อน ส่วนการเกิดแคลลัสในอาหารที่เคยมี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l และมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 50 mg/l มีลักษณะสีเข้มมากเช่นเดียวกับชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l



**ภาพที่ 3** แสดงการเกิดแคลลัสของปลายยอดสะละในอาหารสูตร $Y_3$ ที่มี BA 1 mg/l เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ (กำลังขยาย 1.31X)

**ภาพที่ 4** แสดงการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละในอาหารสูตร $Y_3$ ที่มี BA 1 mg/l เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ (กำลังขยาย 1.98X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4 แสดงเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime และหลังจากย้ายชิ้นส่วนลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime

| benomyl 50 mg/l ร่วมกับ | | % การปลอดเชื้อ ( ±SE)1/ | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| rifampicin (mg/l) | cefotaxime (mg/l) | เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime | | | หลังจากย้ายชิ้นส่วนลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime | | |
| | | 1 สัปดาห์ | 2 สัปดาห์ | 3 สัปดาห์ | 4 สัปดาห์ | 5 สัปดาห์ | 6 สัปดาห์ |
| 0 | 0 | 25.00±7.22b | 25.00±7.22c | 25.00±7.22c | 25.00±7.22c | 25.00±7.22c | 25.00±7.22c |
| 15 | 0 | 66.67±11.78a | 50.00±8.34bc | 41.67±7.22bc | 41.67±7.22bc | 41.67±7.22bc | 41.67±7.22bc |
| 25 | 0 | 66.67±0.00a | 66.67±7.22bc | 50.00±8.34bc | 50.00±8.34bc | 50.00±8.34bc | 50.00±8.34bc |
| 0 | 50 | 75.00±7.22a | 75.00±7.22ab | 66.67±11.78ab | 66.67±11.78ab | 66.67±11.78ab | 66.67±11.78ab |
| 0 | 100 | 91.67±7.22a | 91.67±7.22a | 91.67±7.22a | 91.67±7.22a | 91.67±7.22a | 91.67±7.22a |
| F-test | | ** | ** | ** | ** | ** | ** |
| CV(%) | | 28.86 | 24.66 | 28.95 | 31.88 | 31.88 | 31.88 |

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

**ตารางที่5** แสดงผลการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่อปลายยอดอายุ 6 สัปดาห์

| benomyl 50 mg/lร่วมกับ | | % การปลอดเชื้อ | %ชิ้นส่วนเจริญเติบโต | % ชิ้นส่วนตาย |
|---|---|---|---|---|
| rifampicin (mg/l) | cefotaxime (mg/l) | ( ±SE)[1/] | ( ±SE)[1/] | ( ±SE)[1/] |
| 0 | 0 | 25.00±7.22c | 8.33 ±3.61 b | 16.67 ±8.34 b |
| 15 | 0 | 41.67±7.22bc | 0.00 ±0.00 b | 41.67 ±7.22 a |
| 25 | 0 | 50.00±8.34bc | 8.33 ±3.61 b | 41.67 ±7.22 a |
| 0 | 50 | 66.67±11.78ab | 16.66± 4.17 ab | 50.00 ±8.34 a |
| 0 | 100 | 91.67±7.22a | 33.33 ±0.00 a | 58.33± 7.22 a |
| F-test | | ** | * | * |
| CV(%) | | 31.88 | 91.09 | 32.43 |

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่6 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของปลายอดสะละที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime และหลังจากย้ายชิ้นส่วนลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime

| benomyl 50 mg/l ร่วมกับ | | % คะแนนการเจริญเติบโต (±SE) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| rifampicin (mg/l) | cefotaxime (mg/l) | เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime | | | หลังจากย้ายชิ้นส่วนลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime | | |
| | | 1 สัปดาห์ | 2 สัปดาห์ | 3 สัปดาห์ | 4 สัปดาห์ | 5 สัปดาห์ | 6 สัปดาห์1/ |
| 0 | 0 | 2.00 ±0.28 | 1.75 ±0.22 | 1.41 ±0.14 | 1.41 ±0.14 | 1.25 ±0.14 | 1.08 ±0.08 b |
| 15 | 0 | 3.92 ±0.58 | 2.83 ±0.34 | 2.08 ±0.18 | 1.50 ±0.14 | 1.41 ±0.14 | 1.24 ±0.08 b |
| 25 | 0 | 3.50 ±0.08 | 2.83 ±0.64 | 2.16 ±0.38 | 1.91 ±0.22 | 1.49 ±0.26 | 1.24 ±0.14 b |
| 0 | 50 | 3.67 ±0.62 | 3.33 ±0.42 | 2.16 ±0.44 | 2.00 ±0.46 | 1.67 ±0.40 | 1.58 ±0.24 ab |
| 0 | 100 | 3.83 ±0.26 | 3.16 ±0.34 | 2.83 ±0.34 | 2.58 ±0.14 | 2.41 ±0.08 | 2.00 ±0.08 a |
| F-test | | ns | ns | ns | ns | ns | * |
| CV(%) | | 17.36 | 19.50 | 20.29 | 18.50 | 19.89 | 16.81 |

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 2.2 การศึกษาผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงใบอ่อนสะละ

(1) การปลอดเชื้อของชิ้นส่วน

ชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์

จากตารางที่ 7 พบว่าผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของชิ้นส่วนใบอ่อนสะละมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) โดยชิ้นส่วนใบอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารที่มีสารกำจัดเชื้อรา (benomyl) และสารปฏิชีวนะ (rifampicin , cefotaxime) ทุกวิธีการสามารถยับยั้งการปนเปื้อนได้ คือมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 100 % สำหรับชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่ปราศจากสารปฏิชีวนะและมีสารกำจัดเชื้อราเพียงชนิดเดียว (benomyl 50 mg/l) ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากับ 66.67 % โดยชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อในทุกวิธีการมีการเจริญปกติ ใบอ่อนเริ่มขยายขนาดลักษณะมีสีเหลืองอ่อน และการปนเปื้อนของชิ้นส่วนทั้งหมดเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ที่มีลักษณะสีขาวขุ่นบริเวณด้านล่างและรอบๆ ชิ้นส่วนเพียงเล็กน้อย

ชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์

จากตารางที่ 7 พบว่าผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของชิ้นส่วนใบอ่อนสะละไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงไปจากสัปดาห์ที่ 1 ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 100% และชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l เพียงชนิดเดียวมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อน้อยที่สุด คือ 55.56 % ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 15 และ benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากัน คือ 88.89 % และชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 50 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากับ 77.78 % โดยชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อในทุกวิธีการมีการเจริญปกติ ใบอ่อนเริ่มคลี่และขยายขนาดเพิ่มขึ้นมากกว่าสัปดาห์แรก ชิ้นส่วนยังคงมีลักษณะสีเหลืองอ่อน ยกเว้นชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีบางชิ้นส่วนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเล็กน้อย ซึ่งการปนเปื้อนของชิ้นส่วนทั้งหมดเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะสีขาวขุ่นบริเวณด้านล่างและรอบๆ ชิ้นส่วนซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

ชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์

จากตารางที่ 7 พบว่าผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของชิ้นส่วนใบอ่อนสะละไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อสูงที่สุด คือ 88.89 % ซึ่งลดลงจากสัปดาห์ที่ 2 และชิ้นส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l เพียงชนิดเดียวมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อน้อยที่สุด คือ 55.56 % ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 15 และ benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อลดลงโดยในสัปดาห์นี้มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากับ 66.67 % และ 77.78 %ตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 50 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อไม่เปลี่ยนแปลงไปจากสัปดาห์ที่ 2 โดยชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อในทุกวิธีการส่วนใหญ่ชิ้นส่วนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเล็กน้อย ยกเว้นชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l จากชิ้นส่วนที่เริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในสัปดาห์ที่ 2 มีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้นและลักษณะการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นในสัปดาห์นี้ จนทำให้บางชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตช้าลงและมีบางชิ้นส่วนตาย ซึ่งการปนเปื้อนของชิ้นส่วนทั้งหมดยังคงเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

หลังจากใบอ่อนมีอายุ 3 สัปดาห์จึงย้ายชิ้นส่วนใบอ่อนไปยังอาหารสูตร Eeuwens ($Y_3$)(1976) ร่วมกับ BA 1 mg/l ที่ไม่มีสารกำจัดเชื้อรา (benomyl) และสารปฏิชีวนะ (rifampicin, cefotaxime)

<u>ชิ้นส่วนอายุ 4-6 สัปดาห์</u>

จากตารางที่ 7 พบว่าทุกชิ้นส่วนที่ถูกย้ายไปยังอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ไม่พบการปนเปื้อนเกิดขึ้น โดยชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อสูงที่สุด คือ 88.89 % ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l และ benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 50 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากันคือ 77.78 % ส่วนชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 15 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากับ 66.67 % จากตารางที่ 8 พบว่าชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตสูงที่สุดเท่ากับ 66.67 % มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายเท่ากับ 22.22 % ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l, benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 15 mg/l และ benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตเท่ากัน คือ 44.44 % ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l เพียงชนิดเดียว มีเปอร์เซ็นต์การตายของชิ้นส่วนน้อยที่สุดคือ 11.11 % ซึ่งไม่แตกต่างจากวิธีการอื่นๆ โดยเปอร์เซ็นต์การตายของชิ้นส่วนเป็นผลมาจากลักษณะการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มมากขึ้นและมีสีน้ำตาลเข้มขึ้น จนทำให้บางชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีดำไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ และ ชิ้นส่วนในทุกวิธีการที่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ ชิ้นส่วนยังมีสีเหลืองอยู่โดยเฉพาะก้านใบ ซึ่งสีน้ำตาลบนชิ้นส่วนจะเกิดบริเวณขอบของชิ้นส่วนเท่านั้นและจะไม่พบลักษณะการเปลี่ยนเป็นสีดำขึ้นเลยบนชิ้นส่วน

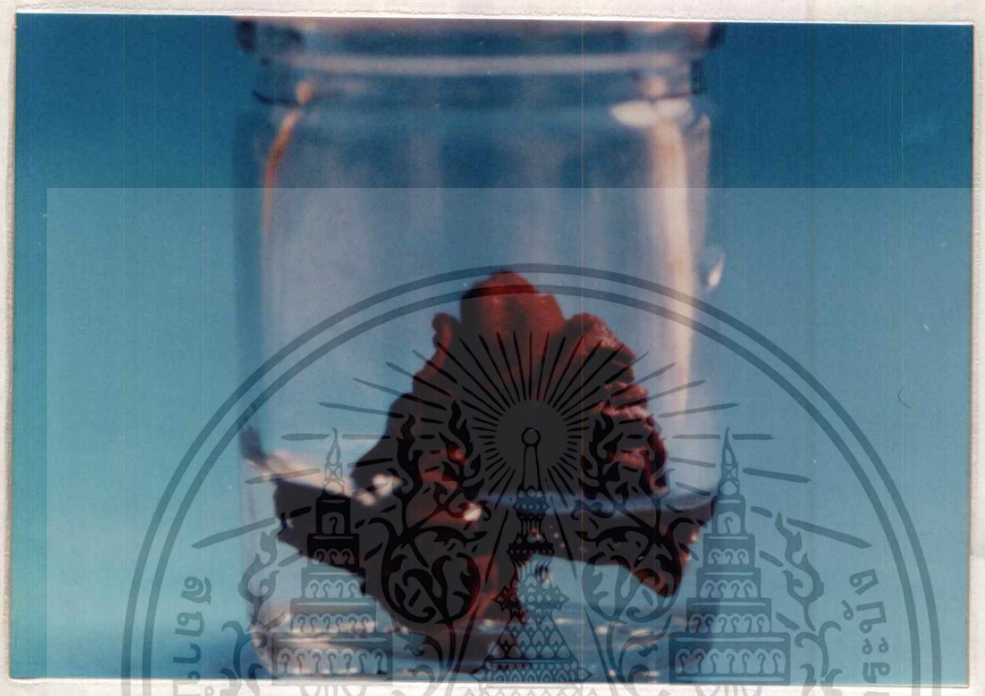
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) การเจริญเติบโตของใบอ่อน

จากตารางที่ 9 ผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนใบอ่อนสะละ ในสัปดาห์ที่ 1 พบว่า ชิ้นส่วนใบอ่อนมีการเจริญเติบโตปกติ คือ ใบอ่อนมีสีเหลืองอ่อน ปลายใบเริ่มคลี่ออก เพิ่มขนาดขึ้นเล็กน้อยจากวันที่ทำการทดลอง มีการเกิดสีน้ำตาลเล็กน้อยในบางชิ้นส่วน คะแนนเฉลี่ยของการเจริญเติบโตในทุกวิธีการเท่ากับ 4 คะแนน ยกเว้นในชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l เพียงอย่างเดียว มีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 3 คะแนน สัปดาห์ที่ 2 พบว่าทุกวิธีการ ชิ้นส่วนใบอ่อนมีการเจริญเติบโต ใบมีสีเหลือง ใบขยายขนาดและคลี่ใบออกมากกว่าสัปดาห์แรก และยังพบการเกิดสีน้ำตาลของชิ้นส่วนเพิ่มมากขึ้น ส่วนคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตพบว่า ใบอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตดีที่สุด 3.67 คะแนน และชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl เพียงอย่างเดียวมีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตต่ำที่สุด 2.67 คะแนน สัปดาห์ที่ 3 พบว่า ชิ้นส่วนใบอ่อนส่วนใหญ่มีสีเหลืองและสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ คะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตในอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 50 mg/l มีค่าเฉลี่ยของคะแนนสูงที่สุดคือ 3.22 คะแนน ซึ่งคะแนนส่วนใหญ่มีค่าคะแนนต่ำลง โดยเฉพาะชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยลดลงมาจากสัปดาห์ที่ 2 เนื่องจากชิ้นส่วนมีสีน้ำตาลเกิดขึ้น มากกว่า ½ ชิ้นส่วน ทำให้ชิ้นส่วนไม่ค่อยเจริญเติบโต คะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนในวิธีการนี้มีค่าเท่ากับ 2.11 คะแนน หลังจากทำการย้ายชิ้นส่วนในสัปดาห์ที่ 3 ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร $Y_3$ + BA 1 mg/l ที่ปราศจากสารกำจัดเชื้อรา (benomyl) และสารปฏิชีวนะ (rifampicin และ cefotaxime) พบว่า สัปดาห์แรกหลังจากย้ายชิ้นส่วนไปบนอาหารที่ปราศจากสารกำจัดเชื้อรา (benomyl) และสารปฏิชีวนะ (rifampicin และ cefotaxime) ชิ้นส่วนใบอ่อนในทุกวิธีการไม่มีการปนเปื้อนเกิดขึ้น และชิ้นส่วนสามารถขยายขนาดได้ใหญ่มาก และมีสีน้ำตาลเกิดขึ้นเกือบทุกชิ้นส่วน โดยเริ่มจากขอบใบด้านล่างก่อน แต่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l ชิ้นส่วนมีการเกิดสีน้ำตาลมาก บางชิ้นส่วนมีสีดำ และตายในที่สุด ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 50 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตดีที่สุด คือ 2.78 คะแนน สัปดาห์ที่ 5-6 หลังจากการเพาะเลี้ยง พบว่าทุกวิธีการมีการเจริญเติบโตลดลงเป็นผลมาจากการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นในการเพาะเลี้ยง ส่งผลให้ใบอ่อนมีการเจริญเติบโตที่ช้าลง ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l เพียงชนิดเดียว benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 50 mg/l และ benomyl 50 mg/l ร่วม cefotaxime 100 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตเท่ากันคือ 1.44 คะแนน โดยมีบางชิ้นส่วนใบอ่อนสามารถขยายขนาดได้ใหญ่มาก (ภาพที่ 5 ) สำหรับชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin 15 mg/l และ มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

rifampicin 25 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตเท่ากัน คือ 1.22 เนื่องจากการเกิดสีน้ำตาลมาก จนทำให้บางชิ้นส่วนมีสีดำ และตายในที่สุด



ภาพที่ 5 แสดงการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละในอาหารสูตร $Y_3$ ที่มี BA 1 mg/l เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ (กำลังขยาย 1.61X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่7 แสดงเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime และหลังจากย้ายชิ้นส่วนลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime

| benomyl 50 mg/l ร่วมกับ | | % การปลอดเชื้อ( ±SE) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| rifampicin (mg/l) | cefotaxime (mg/l) | เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime | | | หลังจากย้ายชิ้นส่วนลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime | | |
| | | 1 สัปดาห์[1/] | 2 สัปดาห์ | 3 สัปดาห์ | 4 สัปดาห์ | 5 สัปดาห์ | 6 สัปดาห์ |
| 0 | 0 | 66.67 ±10.70 b | 55.56 ±11.10 | 55.56 ±11.10 | 55.56 ±11.10 | 55.56 ±11.10 | 55.56 ±11.10 |
| 15 | 0 | 100 ±0.00 a | 88.89 ±6.40 | 66.67 ±0.00 | 66.67 ±0.00 | 66.67 ±0.00 | 66.67 ±0.00 |
| 25 | 0 | 100 ±0.00 a | 88.89 ±0.00 | 77.78 ±0.00 | 77.78 ±9.07 | 77.78 ±9.07 | 77.78 ±9.07 |
| 0 | 50 | 100 ±0.00 a | 77.78± 11.10 | 77.78 ±11.10 | 77.78 ±11.10 | 77.78 ±11.10 | 77.78 ±11.10 |
| 0 | 100 | 100 ±0.00 a | 100± 9.07 | 88.89 ±9.07 | 88.89 ±9.07 | 88.89 ±9.07 | 88.89 ±9.07 |
| F-test | | * | ns | ns | ns | ns | ns |
| CV(%) | | 14.64 | 22.52 | 25.81 | 25.81 | 25.81 | 25.81 |

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

**ตารางที่8** แสดงผลการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของใบอ่อนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่อใบอ่อนอายุ 6 สัปดาห์

| benomyl 50 mg/lร่วมกับ | | % การปลอดเชื้อ | %ชิ้นส่วนเจริญเติบโต | % ชิ้นส่วนตาย |
|---|---|---|---|---|
| rifampicin (mg/l) | cefotaxime (mg/l) | (±SE) | (±SE) | (±SE) |
| 0 | 0 | 55.56 ±11.10 | 44.44 ±6.41 | 11.11 ±5.24 |
| 15 | 0 | 66.67 ±0.00 | 44.44 ±6.41 | 22.22 ±6.41 |
| 25 | 0 | 77.78 ±9.07 | 44.44 ±6.41 | 33.33 ±0.00 |
| 0 | 50 | 77.78 ±11.10 | 55.56 ±19.24 | 22.22 ±6.41 |
| 0 | 100 | 88.89 ±9.07 | 66.67 ±11.10 | 22.22 ±6.41 |
| F-test | | ns | ns | ns |
| CV(%) | | 25.81 | 33.87 | 74.24 |

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่9** แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime และหลังจากย้ายชิ้นส่วนลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime

| benomyl 50 mg/l ร่วมกับ | | % คะแนนการเจริญเติบโต (±SE) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| rifampicin (mg/l) | cefotaxime (mg/l) | เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime | | | หลังจากย้ายชิ้นส่วนลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime | | |
| | | 1 สัปดาห์ | 2 สัปดาห์ | 3 สัปดาห์ | 4 สัปดาห์[1/] | 5 สัปดาห์[1/] | 6 สัปดาห์ |
| 0 | 0 | 3.00 ±0.48 | 2.67 ±0.33 | 2.44 ±0.41 | 2.00 ±0.33 ab | 1.89 ±0.29 ab | 1.44 ±0.07 |
| 15 | 0 | 4.00 ±0.00 | 3.33 ±0.28 | 2.11 ±0.19 | 1.44 ±0.08 b | 1.33 ±0.19 b | 1.22 ±0.07 |
| 25 | 0 | 4.00 ±0.00 | 3.67 ±0.28 | 2.11 ±0.28 | 1.22 ±0.10 b | 1.22 ±0.64 b | 1.22 ±0.10 |
| 0 | 50 | 4.00 ±0.00 | 3.22 ±0.41 | 3.22 ±0.41 | 2.78 ±0.69 a | 2.78 ±0.36 a | 1.44 ±0.17 |
| 0 | 100 | 4.00 ±0.00 | 3.40± 0.17 | 2.77 ±0.25 | 2.77 ±0.29 a | 2.77 ±0.29 a | 1.44 ±0.10 |
| F-test | | ns | ns | ns | * | * | ns |
| CV(%) | | 11.77 | 17.49 | 22.63 | 31.33 | 23.95 | 17.83 |

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## 4.2 วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การใช้สารเคมีในการฟอกฆ่าเชื้อ

เมื่อนำปลายยอดและใบอ่อนสะละมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ (ตารางที่ 1 และ 3) พบว่าวิธีการที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อจากการทดลอง คือ วิธีการที่ 4 ที่ใช้ ethanol 70% นาน 1 นาที + mercuric chloride 0.1 % เติม tween20 2 หยดนาน 10 นาที + calcium hypochlorite 5% เติม tween20 2 หยดนาน 30 นาที + calcium hypochlorite 1% เติมtween20 2 หยด นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที สามารถทำให้ส่วนของปลายยอดและใบอ่อนสะละปลอดเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด คือ 44.44% ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของสุเมธ อินทมาตย์ (2537) ที่รายงานว่า ตาไหลบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อสูงสุด 90 % ในเวลา 15 วัน เมื่อฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนในวิธีการเดียวกัน ส่วนในวิธีการที่ 3 สารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเหมือนกันมีความแตกต่างกันที่ความเข้มข้นและระยะเวลาในการฟอกของ calcium hypochlorite ทำให้ชิ้นส่วนอยู่ในสภาพปลอดเชื้อลดลง 10 % ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ความเข้มข้นของสารและเวลาที่ใช้อาจไม่เหมาะสม เวลาที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อน้อยเกินไปก็จะไม่ได้ผล ซึ่งการใช้ calcium hypochlorite เป็นเวลานานจะสามารถซึมผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ลึกกว่า ถึงแม้ว่าความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อที่ใช้ในการทดลองที่ 3 จะมีความเข้มข้นมากกว่าก็ตาม ซึ่งประสิทธิภาพของการกำจัดการปนเปื้อนของชิ้นส่วนพืชเป็นผลมาจากเวลา และความเข้มข้นของสารที่ใช้ให้เหมาะสม (รังสฤษดิ์ กาวีตั๊ะ. 2540)

จากตารางที่ 1 และ 3 พบว่าวิธีการที่ใช้ clorox (sodium hypochlorite 5.25 % w/w) 50 % เป็นเวลา 20 นาที ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์ การปลอดเชื้อน้อยกว่าการใช้ mercuric chloride ร่วมกับ calcium hypochlorite และชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ(ปลายยอดและใบอ่อน)ส่วนใหญ่ชิ้นส่วนจะตาย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ธีรวัฒน์ เลิศลอยปัญญาชัย (2536) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาที่เกิดจากเหง้าใต้ดินของเฮลิโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการใช้ calcium hypochlorite 5 % มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยกว่าการใช้ clorox 20% ในเวลาการฟอกฆ่าเชื้อเท่ากันคือ 20 นาที ดังที่ รังสฤษดิ์ กาวีตั๊ะ (2540) กล่าวว่า สารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อควรใช้หลายๆ ชนิดร่วมกัน จะให้ผลดีกว่าการใช้เพียงชนิดเดียว และประสิทธิภาพของสารฟอกฆ่าเชื้อจะสูงขึ้นถ้าใช้เวลาและความเข้มข้นของสารมากขึ้น แต่ถ้าใช้มากและนานเกินไปอาจทำอันตรายต่อความมีชีวิตของเซลล์ เนื้อเยื่อหรืออวัยวะของพืชได้ ซึ่งการใช้ clorox 50 % อาจมีความเข้มข้นมากเกินไปสำหรับการทำความสะอาดชิ้นส่วนของสะละ

จากการทดลองการทำความสะอาดโดยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ปลายยอดและใบอ่อนสะละพบว่าแหล่งกำเนิดของการปนเปื้อนเกิดขึ้นภายในชิ้นส่วนพืชและลักษณะของปลายยอดสะละประกอบด้วยกาบหุ้มจำนวนมาก ทำให้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 4 วิธีการเป็นเพียงการทำความสะอาดบริเวณผิวนอกของชิ้นส่วนเท่านั้น ไม่สามารถควบคุมการปนเปื้อนที่เกิดจากกาบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั้นในหรือมีแหล่งกำเนิดการปนเปื้อนภายในชิ้นส่วนของหน่อสะละเอง เช่นเดียวกับการทดลองของ รุ่งนภา วงศ์วิจิตร (2533) ที่เพาะเลี้ยงหวายตะค้าทองในสภาพปลอดเชื้อ พบผลการทดลองเช่นเดียวกัน คือทุกวิธีการที่ฟอกฆ่าเชื้อไม่สามารถทำความสะอาดเชื้อที่อาศัยภายในกาบหุ้มหรือการปนเปื้อนที่อาศัยอยู่ภายในท่อลำเลียงของหวายตะค้าทองได้ ซึ่ง Tisserat (1984) กล่าวว่าถ้าแหล่งกำเนิดของการปนเปื้อนเกิดขึ้นภายในชิ้นส่วนพืช แม้ทำการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว สารฟอกฆ่าเชื้อก็ไม่สามารถซึมผ่านเข้าไปภายในได้ ดังนั้นการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวจึงควรพิจารณาใช้สารฟอกฆ่าเชื้อที่มีความเข้มข้นและเวลาการใช้ที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดความเสียหายกับพืชน้อยที่สุด และ Smith and Thomas (1973) แนะนำว่าการใช้สารปฏิชีวนะใส่เข้าไปในอาหารสามารถป้องกันการ contamination ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในการต่อต้านการติดเชื้อจากภายในชิ้นส่วนได้

2. การใช้สารกำจัดเชื้อราร่วมกับสารปฏิชีวนะ

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนของสะละ (ปลายยอดและใบอ่อน) ในอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ นาน3 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการย้ายลงบนอาหารที่ปราศจาก benomyl , rifampicin และ cefotaxime พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l ชิ้นส่วนปลายยอดและใบอ่อนของสะละสามารถอยู่ในสภาพปลอดเชื้อได้มากที่สุด คือ 91.67 % และ 88.89 % ตามลำดับ ชิ้นส่วนปลายยอดมีการเกิดยอดใหม่แทนที่หน่อเดิมขึ้น และมีแคลลัสเกิดขึ้นบางชิ้นส่วน ส่วนของใบอ่อนนั้นมีการเจริญเติบโตที่ดี มีการเกิดสีน้ำตาลที่ชิ้นส่วนเล็กน้อย แต่ไม่พบการเกิดแคลลัส ทั้งนี้เนื่องมาจาก cefotaxime เป็นsubgroup ของ β-lactam ที่สามารถยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ในขณะการแบ่งเซลล์ของแบคทีเรีย (Mathias and Mukasa. 1987 และ Young *et al.* 1984) และ Selwyn (1986) กล่าวว่า β-lactam เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ peptidoglycan transpeptidase ซึ่งจะมีผลกับขั้นตอนสุดท้ายของการสร้างผนังเซลล์จนทำให้เซลล์แตกสลายไป จึงไม่น่าจะมีผลกับ metabolism ของพืช ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Tsang *et al.* (1989) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงคัพภะ *Pecea glauca* ที่มีอายุ 2 และ 9 วันในอาหารที่มี cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 200 μg/ml นาน 21 วัน จะทำให้คัพภะมีการเจริญเติบโตได้ 100 % ยกเว้นชิ้นส่วนที่มีอายุ 9 วัน บนอาหารที่มี cefotaxime ที่ความเข้มข้น 200 μg/ml จะทำให้คัพภะมีการเจริญเติบโต 95 % โดยไม่เกิดอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช จากตารางที่ 5 และ 8 พบว่าชิ้นส่วนปลายยอดและใบอ่อนสะละที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l มีอัตราการเจริญเติบโตต่อไปได้ 33.33 % และ 66.67 % ตามลำดับซึ่งการเจริญเติบโตของปลายยอดที่ต่ำเกิดมาจาก สีน้ำตาลเกิดขึ้นบริเวณชิ้นส่วน ทำให้ชิ้นส่วนชะลอหรือหยุดการเจริญเติบโตและตายในที่สุด ซึ่ง Sharma *et al.* (1980) กล่าวว่าการเกิดสีน้ำตาลของชิ้นส่วนเนื่องมาจาก polyphenol ในเนื้อเยื่อทำปฏิกิริยา oxidation เปลี่ยนเป็นสาร quinone ซึ่งมีสีน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเป็นพิษต่อพืช ทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโตและตายในที่สุด ส่วนในอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin ที่ความเข้มข้น 15 และ 25 mg/l ยังพบการปนเปื้อนสูงและสูงกว่าในอาหารที่ใช้ benomyl ร่วมกับ cefotaxime และมีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน จนทำให้ชิ้นส่วนทั้งปลายยอดและใบอ่อนในวิธีการนี้ส่วนใหญ่ตายและไม่สามารถเจริญต่อไปได้ ซึ่งสายสมร ลำยอง (2524) กล่าวว่า rifampicin เป็นสารปฏิชีวนะที่อยู่ในกลุ่มของ rifammycin สร้างขึ้นโดย *Streptomyces mediterranei* มีผลต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวกและ *Mycobacterium tuberculosis* แต่มีผลน้อยกับแบคทีเรียแกรมลบ อาจส่งผลให้ rifampicin ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการกำจัดแบคทีเรียที่อยู่ในชิ้นส่วนสะละ และ rifampicin เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการสังเคราะห์ RNA ของแบคทีเรียโดยจะจับและยับยั้งเอนไซม์ DNA dependent RNA polymerase ของแบคทีเรียที่ไวต่อ rifampicin ซึ่งเนื้อเยื่อปลายยอดและใบอ่อนของสะละอาจไวต่อ rifampicin จนไปรบกวนการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์ RNA ในชิ้นส่วนของสะละจนเกิดความเป็นพิษต่อชิ้นส่วน ทำให้ชิ้นส่วนมีสีน้ำตาลเข้มมาก บางชิ้นส่วนมีสีดำ และบางชิ้นส่วนปลายยอดมีน้ำสีน้ำตาลเยิ้มออกมาจนชิ้นส่วนไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้และตายในที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ พัชรินทร์ แซ่ลิ้ม (2537) ได้ทำการศึกษาการใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อราเพื่อขจัดการปนเปื้อนของเฮลิโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าชิ้นส่วนตายยอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี rifampicin ที่ความเข้มข้น 10, 15 และ 20 mg/l ทุกชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติและทำให้ชิ้นส่วนตาย

จากการทดลองนี้การใช้สารฟอกฆ่าเชื้อในการทดลองที่ 1 และการใช้ benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime ในการทดลองที่ 2 ทุกวิธีการพบว่า ชิ้นส่วนส่วนใหญ่ทั้งปลายยอดและใบอ่อนเกิดสีน้ำตาลขึ้นบนชิ้นส่วนและอาหาร ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสะละ ดังนั้น ในการทดลองต่อไปในอนาคตควรมีการใช้ activated charcoal และ cystein เติมลงในอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลของชิ้นส่วนและอาหาร เช่นเดียวกับการทดลองของ Sharma *et al.* (1980) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมเพศเมีย โดยใช้ชิ้นส่วนของราก , ก้านใบ, ปลายยอด และผลที่ไม่แก่ พบว่าปัญหาหลังการเพาะเลี้ยงคือการเกิดสีน้ำตาลขึ้นทั้งในอาหารและชิ้นส่วน ซึ่งปัญหาการเกิดสีน้ำตาลนี้แก้ไขได้โดยการเติม activated charcoal ลงในอาหารเหลว และเติม cystein ลงในอาหารแข็ง และ Tisserat (1979) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัม พบว่าการใช้ปลายยอดเลี้ยงในอาหารที่มี activated charcoal 0.1- 0.3 % สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลและสร้างส่วนต่างๆ ของชิ้นส่วนพืชได้

ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงมีความสำคัญที่จะบ่งชี้ความสำเร็จว่ามีมากน้อยเพียงใด เนื่องจากความสามารถในการเจริญพัฒนาของพืชแต่ละชิ้นส่วน อายุ แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับระยะเวลา ฤดูกาลในการเก็บเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ต้องคำนึงถึงความเหมาะสมของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**สูตรอาหาร ชนิด และปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งจะแตกต่างกันตามชนิดของพืช**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่5

# สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อทำความสะอาดชิ้นส่วนปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนของสะละ วิธีที่ดีที่สุด คือใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที , mercuric chloride 0.1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที + calcium hypochlorite 5 % + tween20 2 หยด นาน 30 นาที + calcium hypochlorite 1 % + tween20 2 หยด นาน 10 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆละ 5 นาที ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อดีที่สุดเท่ากัน คือ 44.44 % สำหรับการเลี้ยงปลายยอดจากหน่อและใบอ่อน ในอาหารที่มี benomyl 50 mg/l และ cefotaxime 100 mg/l สามารถทำให้ชิ้นส่วนปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนอยู่ในสภาพปลอดเชื้อมากที่สุด คือ 91.67 % และ 88.89 % ตามลำดับ และไม่เป็นพิษกับชิ้นส่วน ส่วนการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อเยื่อเกิดขึ้นในทุกวิธีการในการทดลอง และพบว่าเป็นปัญหาที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสะละในสภาพปลอดเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บรรณานุกรม


ถิรพงศ์ ญาณิสราพันธ์. 2528. "การเลี้ยงดัพภะปาล์มน้ำมันในสภาพปลอดเชื้อ." ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชไร่นา บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2528. **สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธีรวัฒน์ เลิศลอยปัญญา. 2536. "การศึกษาการเพิ่มปริมาณเฮลิโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.กรุงเทพฯ.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536. **เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.

พิมล เที่ยงธรรม. 2538. "การเพาะเลี้ยงกฤษณาในสภาพปลอดเชื้อ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

พัชรินทร์ แซ่ลิ้ม. 2537. "การใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อรา สำหรับการเพาะเลี้ยงเฮลิโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.กรุงเทพฯ

ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์. 2539. "ปลูกสะละต้องอิงข้อมูลปาล์ม." **วารสารเคหการเกษตร.** 24(1) : 52-60.

รุ่งนภา วงศ์วิจิตร. 2533. "การขยายพันธุ์หวายตะค้าทอง (*Calamus caesius* Bl.) โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อลำต้นอ่อน."วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ:หลักการและเทคนิค.** กรุงเทพฯ : สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สายสมร ลำยอง. 2524. **สารปฏิชีวนะและปฏิกริยาการต่อต้านจุลินทรีย์.** เชียงใหม่ : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก, อัมพิกา ปุนนจิต, ศิริพร วรกุลดำรงชัย และ เสริมสุข สลักเพ็ชร์. 2539. **สาระของสะละ.** กรุงเทพฯ : เจริญรัฐการพิมพ์.

สุธี ตั้นสกุล. 2541. "การขยายพันธุ์โมกซ้อนโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ." ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชา พืชสวนบัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุเมธ อินทมาตย์. 2537. "การศึกษาเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

อรดี สหวัชรินทร์. 2539. **หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ** . กรุงเทพฯ : ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อารีย์ วรัญญูวัฒน์. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์**. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์อติสรรค์.

Anonymous. 1994. Detection of pathogens and contaminations of plants and plant cell culture. **PhySource**. 5(1) :1-5.

Eeuwens, C.J. 1976. "Mineral requirement for growth and callus initiation of tissue explant excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and culture *in vitro*." **Physiol. Plant**. 36 : 23-28.

Haldemen, J.H.,R.L. Thomas and D.L. McKamy. 1987. Use of benomyl and rifampicin of *in vitro* shoot tip culture of *Camellia sinesis* and *C. japonica*. **HortScience**. 22(2) : 306-307.

Levin, R.,R. Stav.,Y. Alper and A.A. Watad. 1996. *In vitro* multiplication in liquid culture of Syngonium contaminated with *Bacillus* spp. and *Rathayibacter tritici*. **Plant Cell , Tissue and Organ Culture**. 45 : 227-280

Mathias, R.J. and C. Mukasa. 1987. The effect of cefotaxime on the growth and regeneration of callus from four varieties of Barley (*Hordeum vulgare* L.). **Plant Cell Reports**. 6 : 454-457.

Phillips, R.,S.M. Arnott and S.E. Kaplan. 1981. Antibiotic in plant tissue culture : Rifampicin effectively controls bacterial contaminations without affecting the growth of short-term explant cultures of *Heliunthus tuberosus*. **Plant Science Letters**. 21 : 235-240.

Selwyn, S. 1980. **The Beta-lactam Antibiotics.** London : Hodder and Stoughton. อ้างโดย Barrett, C. and A.C. Cassells. 1994. An evaluation of antibiotics for the elimination of *Xanthomonas campestris* pv. Pelargonii (Brown) from *Pelargonium x domesticum* cv. 'Grand Slam' explant *in vitro*. **Plant Cell , Tissue and Organ Culture**. 36 : 169-175

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sharma, D.R.,R. Kumari. and J.B. Chowdhury. 1980. "*In vitro* culture of female date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissue." **Euphytica.** 29 : 169-174.

Smith, W.K. and J.A.Thomas. 1973. The isolation and *in vitro* cultivation of cells of *Elaeis guineensis*. **Oleagineux.** 28 : 123-127 อ้างโดย Tisserat, B.1984. **Handbook of plant cell culture vol. 2.** U.S.A.: Macmillan Publishing Co.

Tisserat, B. 1979. "Propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro*." **Journal of Experimental Botany.** 30 : 1275-1283.

----------. 1984. **Handbook of plant cell culture vol. 2.** U.S.A.: Macmillan Publishing Co.

Tsang, E.W.T.,H. David and D.I. Dunstan. 1989. Toxicity of antibiotic on zygotic embryo of white spruce (*Picea glauca*) cultured ***in vitro***. **Plant Cell Reports.** 8 : 214-216.

Young, P.M.,A.S. Hutchins and M.L. Canfield 1984. Use of antibiotic to control bacteria in shoot culture of woody plants. **Plant Science Letter.** 34 : 203-209.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางผนวกที่ 1** องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์ $Y_3$ (Eeuwens)(1976)

| สารเคมี | มิลลิกรัมต่อลิตร |
|---|---|
| Macroelements | |
| $NaH_2PO_4.H_2O$ | 312.0 |
| $KNO_3$ | 2020.0 |
| $CaCl_2.2H_2O$ | 249.0 |
| $MgSO_4.7H_2O$ | 247.0 |
| $NH_4Cl$ | 535.0 |
| KCl | 1492.0 |
| Microelements | |
| $Na_2$-EDTA | 37.30 |
| $FeSO_4.7H_2O$ | 13.90 |
| $H_3BO_3$ | 3.10 |
| $MnSO_4.4H_2O$ | 11.20 |
| $ZnSO_4.2H_2O$ | 7.20 |
| KI | 8.30 |
| $Na_2MoO_4.2H_2O$ | 0.24 |
| $CoCl_2.6H_2O$ | 0.24 |
| $CuSO_4.5H_2O$ | 0.25 |
| $NiCl_2.6H_2O$ | 0.024 |
| Organic compound | |
| MyO-inositol | 100.0 |
| Nicotinic acid | 0.05 |
| Pyridoxin-HCl | 0.05 |
| Thiamine-HCl | 0.50 |
| Ca D-pantothenate | 0.05 |
| Biotin | 0.05 |
| Sucrose | 45,000 |
| pH | 5.5-5.7 |

ที่มา : Eeuwens(1976)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 3 | 1352.61 | 450.86 | 1.09$^{ns}$ | 4.07 | 7.59 |
| Error | 8 | 3295.38 | 411.92 | | | |
| **Total** | 11 | 4647.99 | | | | |

Grand Mean = 27.07 CV = 74.98 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 3** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของปลายยอดสะละซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 3 | 782.04 | 260.68 | 0.89$^{ns}$ | 4.07 | 7.59 |
| Error | 8 | 2346.13 | 293.27 | | | |
| **Total** | 11 | 3128.17 | | | | |

Grand Mean = 12.41 CV = 138.03 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การตายของปลายยอดสะละซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 3 | 1173.06 | 391.02 | 1.33 ns | 4.07 | 7.59 |
| Error | 8 | 2346.13 | 293.27 | | | |
| **Total** | 11 | 3519.19 | | | | |

Grand Mean = 18.12 CV = 94.53 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 5** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 3 | 897.26 | 299.09 | 1.18 ns | 4.07 | 7.59 |
| Error | 8 | 2035.10 | 254.39 | | | |
| **Total** | 11 | 2932.36 | | | | |

Grand Mean = 47.96 CV = 33.26 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 6** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 3 | 362.58 | 120.86 | 0.79 ns | 4.07 | 7.59 |
| Error | 8 | 1221.01 | 152.63 | | | |
| **Total** | 11 | 1583.59 | | | | |

Grand Mean = 39.99 CV = 30.89 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 7** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 3 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 3 | 293.40 | 97.80 | 2.33 ns | 4.07 | 7.59 |
| Error | 8 | 367.14 | 45.89 | | | |
| **Total** | 11 | 660.54 | | | | |

Grand Mean = 34.88 CV = 19.42 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 8** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 3 | 491.89 | 163.96 | 8.92** | 4.07 | 7.59 |
| Error | 8 | 147.13 | 18.39 | | | |
| **Total** | 11 | 639.02 | | | | |

Grand Mean = 33.13 CV = 12.94 %

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

**ตารางที่ 9** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของสะละซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 3 | 843.15 | 281.05 | 1.90$^{ns}$ | 4.07 | 7.59 |
| Error | 8 | 1185.31 | 148.16 | | | |
| **Total** | 11 | 2028.46 | | | | |

Grand Mean = 18.08 CV = 67.31 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 10** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การตายของใบอ่อนสะละซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 3 | 234.27 | 78.09 | $0.57^{ns}$ | 4.07 | 7.59 |
| Error | 8 | 1103.49 | 137.94 | | | |
| **Total** | 11 | 1337.76 | | | | |

Grand Mean = 22.66 CV = 51.83 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 11** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 5906.34 | 1476.59 | 5.54** | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 3995.62 | 266.37 | | | |
| **Total** | 19 | 9901.96 | | | | |

Grand Mean = 56.55 CV = 28.86%

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 12** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 5616.91 | 1404.23 | 8.02** | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 2626.03 | 175.07 | | | |
| **Total** | 19 | 8242.94 | | | | |

Grand Mean = 53.65 CV = 24.66 %

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

**ตารางที่ 13** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 3 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 5849.58 | 1462.39 | 6.78** | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 3236.78 | 215.79 | | | |
| **Total** | 19 | 9086.36 | | | | |

Grand Mean = 50.73 CV = 28.95 %

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 14** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 6482.70 | 1620.67 | 6.38** | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 3812.62 | 254.17 | | | |
| **Total** | 19 | 10295.32 | | | | |

Grand Mean = 50.00 CV = 31.88 %

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

**ตารางที่ 15** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 6482.70 | 1620.67 | 6.38** | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 3812.62 | 254.17 | | | |
| **Total** | 19 | 10295.32 | | | | |

Grand Mean = 50.00 CV = 31.88 %

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 16** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 6482.70 | 1620.67 | 6.38** | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 3812.62 | 254.17 | | | |
| **Total** | 19 | 10295.32 | | | | |

Grand Mean = 50.00 CV = 31.88 %

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

**ตารางที่ 17** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 2599.70 | 649.93 | 3.45* | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 2825.76 | 188.38 | | | |
| **Total** | 19 | 5425.46 | | | | |

Grand Mean = 15.07 CV = 91.09 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 18** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การตายของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 2312.49 | 578.12 | 3.67* | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 2361.05 | 157.40 | | | |
| **Total** | 19 | 4673.54 | | | | |

Grand Mean = 38.69 CV = 32.43 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**ตารางที่ 19** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ (Logarithmic Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 0.1257 | 0.0314 | 2.71 ns | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 0.1737 | 0.0116 | | | |
| **Total** | 19 | 0.2994 | | | | |

Grand Mean = 0.62 CV = 17.36 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 20** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ (Logarithmic Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 0.0954 | 0.0238 | 1.99 ns | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 0.1800 | 0.0120 | | | |
| **Total** | 19 | 0.2754 | | | | |

Grand Mean = 0.56 CV = 19.50 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 21** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 3 สัปดาห์ (Logarithmic Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 0.0777 | 0.0194 | 2.03 ns | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 0.1435 | 0.0095 | | | |
| **Total** | 19 | 0.2212 | | | | |

Grand Mean = 0.48 CV = 20.29 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 22** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Logarithmic Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 0.0747 | 0.0186 | 2.74 ns | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 0.1021 | 0.0068 | | | |
| **Total** | 19 | 0.1768 | | | | |

Grand Mean = 0.45 CV = 18.50 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 23** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ (Logarithmic Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 0.0810 | 0.0202 | 3.02 ns | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 0.1004 | 0.0066 | | | |
| **Total** | 19 | 0.1814 | | | | |

Grand Mean = 0.41 CV = 19.89 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 24** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของปลายยอดสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ (Logarithmic Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 0.0679 | 0.0169 | 4.15* | 3.06 | 4.89 |
| Error | 15 | 0.0614 | 0.0040 | | | |
| **Total** | 19 | 0.1293 | | | | |

Grand Mean = 0.38 CV = 16.81 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**ตารางที่ 25** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 2068.82 | 517.21 | 3.49* | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 1482.36 | 148.24 | | | |
| **Total** | 14 | 3551.18 | | | | |

Grand Mean = 83.14 CV = 14.64 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 26** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 2853.61 | 713.40 | 2.74 ns | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 2606.81 | 260.68 | | | |
| **Total** | 14 | 5460.42 | | | | |

Grand Mean = 71.70 CV = 22.52 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 27** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 3 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 1555.77 | 388.94 | 1.49 ns | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 2606.81 | 260.68 | | | |
| **Total** | 14 | 4162.58 | | | | |

Grand Mean = 62.55 CV = 25.81 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 28** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 1555.77 | 388.94 | 1.49 ns | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 2606.81 | 260.68 | | | |
| **Total** | 14 | 4162.58 | | | | |

Grand Mean = 62.55 CV = 25.81 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 29** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 1555.77 | 388.94 | 1.49 ns | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 2606.81 | 260.68 | | | |
| **Total** | 14 | 4162.58 | | | | |

Grand Mean = 62.55 CV = 25.81 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 30** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของใบอ่อนสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 1555.77 | 388.94 | 1.49 ns | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 2606.81 | 260.68 | | | |
| **Total** | 14 | 4162.58 | | | | |

Grand Mean = 62.55 CV = 25.81 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 31** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 732.46 | 183.11 | 0.73 ns | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 2492.20 | 249.22 | | | |
| **Total** | 14 | 3224.66 | | | | |

Grand Mean = 46.61 CV = 33.87 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 32** การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การตายของใบอ่อนสะละหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 782.04 | 195.51 | 0.62 ns | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 3128.16 | 312.82 | | | |
| **Total** | 14 | 3910.20 | | | | |

Grand Mean = 23.82 CV = 74.24 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 33** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 1 สัปดาห์

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 2.40 | 0.60 | 3.00 ns | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 2.00 | 0.20 | | | |
| **Total** | 14 | 4.40 | | | | |

Grand Mean = 3.80 CV = 11.77 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 34** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 2 สัปดาห์

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 1.67 | 0.42 | 1.28 ns | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 3.26 | 0.33 | | | |
| **Total** | 14 | 4.93 | | | | |

Grand Mean = 3.27 CV = 17.49 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 35** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 3 สัปดาห์

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 2.71 | 0.68 | 2.06 ns | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 3.28 | 0.33 | | | |
| **Total** | 14 | 5.99 | | | | |

Grand Mean = 2.53 CV = 22.63 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 36** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละ หลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 6.33 | 1.58 | 3.87* | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 4.10 | 0.41 | | | |
| **Total** | 14 | 10.43 | | | | |

Grand Mean = 2.04 CV = 31.33 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**ตารางที่ 37** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละ หลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 5 สัปดาห์

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 6.81 | 1.70 | 5.86* | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 2.90 | 0.29 | | | |
| **Total** | 14 | 9.71 | | | | |

Grand Mean = 1.99 CV = 23.95 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 38** การวิเคราะห์ผลทางสถิติที่มีผลต่อคะแนนการเจริญเติบโตของใบอ่อนสะละ หลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin และ cefotaxime เมื่ออายุ 6 สัปดาห์

| Source | df | SS | MS | F-test | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Treatment | 4 | 0.17 | 0.04 | 0.75 ns | 3.48 | 5.99 |
| Error | 10 | 0.58 | 0.05 | | | |
| **Total** | 14 | 0.75 | | | | |

Grand Mean = 1.35 CV = 17.83 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้