สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาการควบคุมการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์

Study on Control of Contamination for Tissue Culture of *Nymphaea spp.*(hybrid) "Director G. T. Moore"

นภาวรรณ ผลมณี

NAPAWAN PONMANEE

อพ.
ล1991
2548
เลขหมู่.....T108880
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....-2 ส.ค. 2553

b.....12229052
i.....

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาพืชสวน

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Study on Control of Contamination for Tissue Culture of *Nymphaea spp.*(hybrid) "Director G. T. Moore"

NAPAWAN PONMANEE

A SPECIAL PROBLEM SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONG'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	การศึกษาการควบคุมการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนภาวรรณ ผลมณี
รหัสประจำตัว	46062612
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขา	พืชสวน
พ.ศ.	2548
อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ	ผศ.ดร. สุเม อรัญนารถ

บทคัดย่อ

ศึกษาวิธีการขจัดการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์ ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนปลายยอดจากเหง้ามาฟอกฆ่าเชื้อ โดยทำการทดลอง 3 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 มี 2 การทดลองย่อย คือ การทดลองย่อยที่ 1 ใช้สารกำจัดเชื้อรา (benomyl 50 mg/l) ร่วมกับ สารปฏิชีวนะ (cefotaxime 100 mg/l และ rifampicin 25 mg/l) เติมลงในอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม IAA 3 µM ร่วมกับ 2iP 10 µM โดยใช้สูตรฟอกฆ่าเชื้อคือ 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 หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที และการทดลองย่อยที่ 2 ใช้สารกำจัดเชื้อรา (benomyl 0.5, 1 และ 2 g/l) ร่วมกับ สารปฏิชีวนะ (rifampicin 150 และ 300 mg/l) เขย่าร่วมกับชิ้นส่วนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้สูตรฟอกฆ่าเชื้อเดียวกับการทดลองย่อยที่ 1 และนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม IAA 3 µM ร่วมกับ 2iP 10 µM และ benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l การทดลองที่ 2 มี 2 การทดลองย่อย คือ การทดลองย่อยที่ 1 ใช้สารกำจัดโรคพืช (phytomycin 1 และ 2%) เขย่าร่วมกับชิ้นส่วนเป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ก่อนการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้สูตรฟอกฆ่าเชื้อเดียวกับการทดลองย่อยที่ 1 และนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม IAA 3 µM ร่วมกับ 2iP 10 µM และ benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l และ การทดลองย่อยที่ 2 ใช้สารกำจัดโรคพืช (oxytrep 1 และ 2%) เขย่าร่วมกับชิ้นส่วนเป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ก่อนการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้สูตรฟอกฆ่าเชื้อเดียวกับการทดลองย่อยที่ 1 และนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม IAA 3 µM ร่วมกับ 2iP 10 µM และ benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l สำหรับการทดลองที่ 3 ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อ มี 2 วิธีการ คือ วิธีการที่ 1 ใช้ ethanol 70% นาน 1 นาที + clorox 30% เติม tween20 2 หยด นาน 15 นาที + mercuric chloride 1% เติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

tween20 2 หยด นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที และวิธีการที่ 2 ใช้ ethanol 70% นาน 1 นาที + clorox 30% เติม tween20 2 หยด นาน 15 นาที + mercuric chloride 2% เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที และนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม IAA 3 µM ร่วมกับ 2iP 10 µM และ benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l

จากการทดลองพบว่า การทดลองที่ 1 และ 2 ไม่เหมาะสมในการขจัดการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของปลายยอดจากเหง้าของบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์ได้ สำหรับในการทดลองที่ 3 พบว่า การใช้ ethanol 70% นาน 1 นาที + clorox 30% เติม tween20 2 หยด นาน 15 นาที + mercuric chloride 2% เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที ไม่พบการปนเปื้อนของชิ้นส่วนและมีชิ้นส่วนที่สามารถเจริญเติบโตได้เท่ากับ 16.67%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title : Study on Control of Contamination for Tissue Culture of *Nymphaea spp.*(hybrid) "Director G. T. Moore"

By : Napawan Ponmanee

Major : Horticulture

Department : Horticulture

Faculty : Agricultural Technology

Advisor : Assist Prof.Dr. Sumay Arunyanart

Abstract

For sterilization of shoot tips, 3 experiments were conducted. First experiment consisted of 2 subexperiment. First subexperiment : fungicide (50 mg/l benomyl) and antibiotics (100 mg/l cefotaxime and 250 mg/l rifampicin) were added to 1/2MS medium supplemented with 3 µM IAA + 10µM 2iP. All explants were sterilized in normal procedure which was following method : explants were sterilized in 70% ethanol for 1 min then rinsed in 0.1% mercuric chloride (plus 2 drops of tween 20) for 10 min and agitated in 5% calcium hypochlorite (plus 2 drops of tween 20) for 30 min and followed by 1% calcium hypochlorite (plus 2 drops of tween 20) for 10 min and finally rinsed three times in sterile distilled water. Second subexperiment : explants were shaken with sterilizing agents containing combination of 0.5, 1 or 2 g/l benomyl and 150 or 300 mg/l rifampicin for 24 hours before sterilized in normal procedure. Explants were transferred to 1/2MS medium supplemented with 3 µM IAA + 10µM 2iP + 50 mg/l benomyl + 100 mg/l cefotaxime. Second experiment consisted of 2 subexperiments. First subexperiment : explants were shaken with 1 or 2 % phytomycin for 12 or 24 hours before sterilized in normal procedure. Second subexperiment : explants were shaken with 1 or 2 % oxytrep for 12 or 24 hours before sterilized in normal procedure. All explants from both subexperiments were cultured on 1/2MS medium supplemented with 3 µM IAA + 10µM 2iP + 50 mg/l benomyl + 100 mg/l cefotaxime. Third experiment contained 2 treatments of surface sterilization. First treatment : explants were soaked in 70% ethanol for 1 min then shaken in 30% clorox + tween20 2 drops for 15 min followed by agitating in 1% mercuric chloride + tween20 2 drops for 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

min and then rinsed three times in sterile distilled water. Second treatment : explants were soaked in 70% ethanol for 1 min then shaken in 30% clorox + tween20 2 drops for 15 min followed by agitating in 2% mercuric chloride + tween20 2 drops for 10 min and then rinsed three times in sterile distilled water. All explants were cultured on 1/2MS medium supplemented with 3 µM IAA + 10µM 2iP + 50 mg/l benomyl + 100 mg/l cefotaxime.

All explants from experiment 1 and 2 were contaminated. However, 16.67% of clean and survived explants were achieved when explants were sterilized in 70% ethanol for 1 min and then shaken in 30% clorox + 2 drops of tween20 for 15 min followed by 10 min in 2% mercuric chloride + 2 drops of tween20 and rinsed threes times in sterile distilled water.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเม อรัญนารถ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำตลอดจนแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆ อีกทั้งยังช่วยแก้ไขปัญหาพิเศษเล่มนี้จนลุล่วงไปด้วยดี และข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ดร.เสริมลาภ วสุวัต ที่กรุณาเรื่องคำแนะนำต่างๆเกี่ยวกับบัวประดับและชิ้นส่วนของบัวประดับที่นำมาเพาะเลี้ยงในปัญหาพิเศษเล่มนี้

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ๆน้องๆ และเพื่อนๆทุกคนที่คอยกรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจ และขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งเป็นสถานศึกษาและปฏิบัติงานในการทำปัญหาพิเศษเล่มนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

นภาวรรณ ผลมณี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II
คำนิยม.....V
สารบัญ.....VI
สารบัญตาราง.....VII
สารบัญภาพ.....VIII
สารบัญตารางภาคผนวก.....IX
คำย่อและสัญลักษณ์.....XII

บทที่ 1 บทนำ.....1
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน.....13
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....19
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....36
บรรณานุกรม.....37
ภาคผนวก.....40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบัวประดับบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin....20
ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน benomylร่วมกับ rifampicin ที่ความเข้มข้นต่างๆ....23
ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ....25
ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายของชิ้นส่วนบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์....26
ตารางที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน oxytrep ด้วยวิธีการต่างๆ....28
ตารางที่ 6 แสดงเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายของชิ้นส่วนบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน oxytrep ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์....28
ตารางที่ 7 แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อ ด้วยวิธีต่างๆ....31
ตารางที่ 8 แสดงเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อ ด้วยวิธีต่างๆ....31
ตารางที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายของชิ้นส่วนบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อ ด้วยวิธีต่างๆ....32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะชิ้นส่วนตายที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ทุกวิธีการ
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์.....26
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโตที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ
ด้วยวิธีการที่ 2 และเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS + IAA 3 µM + 2iP 10 µM
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 6 สัปดาห์.....32

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก

หน้า

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์ Murashige&Skoog (1962).....41
ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
บนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 วัน.....42
ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
บนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 5 วัน.....42
ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
บนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 7 วัน.....43
ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
ที่ผ่านการเขย่าใน benomyl ร่วมกับ rifampicin
ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 วัน.....43
ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
ที่ผ่านการเขย่าใน benomyl ร่วมกับ rifampicin
ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 5 วัน.....44
ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
ที่ผ่านการเขย่าใน benomyl ร่วมกับ rifampicin
ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 7 วัน.....44
ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
ที่ผ่านการเขย่าใน benomyl ร่วมกับ rifampicin
ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 10 วัน.....45
ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
ที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์.....45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 10 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
ที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์.....46
ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
ที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3-4 สัปดาห์.....46
ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายของปลายยอดบัวประดับ
ที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์.....47
ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
ที่ผ่านการเขย่าใน oxytrep ด้วยวิธีการต่างๆ
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์.....47
ตารางที่ 14 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
ที่ผ่านการเขย่าใน oxytrep ด้วยวิธีการต่างๆ
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 2-4 สัปดาห์.....48
ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายของปลายยอดบัวประดับ
ที่ผ่านการเขย่าใน oxytrep ด้วยวิธีการต่างๆ
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์.....48
ตารางที่ 16 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์.....49
ตารางที่ 17 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับ
ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 2-6 สัปดาห์.....49
ตารางที่ 18 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของปลายยอดบัวประดับ
ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์.....50
ตารางที่ 19 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของปลายยอดบัวประดับ
ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์.....50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 20 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของปลายยอดบัวประดับ
ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 5-6 สัปดาห์.....51
ตารางที่ 21 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่ตายของปลายยอดบัวประดับ
ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์.....51
ตารางที่ 22 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่ตายของปลายยอดบัวประดับ
ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์.....52
ตารางที่ 23 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่ตายของปลายยอดบัวประดับ
ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 5-6 สัปดาห์.....52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อและสัญลักษณ์

MS	Murashige&Skoog (1962)
IAA	indoleacetic acid
2iP	2-isopentenyladenine
mg/l	มิลลิกรัมต่อลิตร
g/l	กรัมต่อลิตร
µM	ไมโครโมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

บัวจัดเป็นพืชน้ำอายุหลายฤดู ชนิดที่นิยมนำมาปลูกเป็นไม้ประดับ ได้แก่สกุล Nymphaea ที่มีชื่อสามัญว่า water lily หรือที่ไทยเรียกว่า อุบลชาติ ซึ่งได้แก่ กลุ่มบัวผันและบัวเผื่อน ซึ่งบัวกลุ่มนี้ปัจจุบันมาการปลูกเป็นไม้ประดับกันมาก (สุปราณี วนิชชานนท์. 2540) เพราะความเชื่อที่ว่า หากมีสายน้ำอยู่ในบริเวณบ้านแล้วจะนำความสดชื่นเยือกเย็นมาสู่ และบัวถือเป็นไม้มงคล จึงมีผู้นิยมปลูกบัวในสระน้ำ บ่อน้ำ หรืออ่างน้ำในบริเวณบ้าน (กรรณิกา โพธิ์สามต้น และ วรัชฎา ขำเลิศ. 2541) ในประเทศไทยตลาดการซื้อขายบัวเป็นไม้ดอกไม้ประดับกำลังขยายตัวมากขึ้นตามความนิยม ลักษณะของตลาดจะเป็นการซื้อขายพันธุ์ และต้นกล้าเพื่อนำไปปลูกเป็นเป็นไม้ดอกไม้ประดับต่อไปและส่วนใหญ่จะเป็นตลาดท้องถิ่น ตลาดที่สำคัญในประเทศไทย เช่น ตลาดต้นไม้เทเวศน์ เชิงสะพานพระปิ่นเกล้า สวนจตุจักร ตามสวนและบ้านที่มีการปลูกเลี้ยงบัวประดับจำหน่าย (คุณา นนทพัฒน์. 2546) ในการปลูกบัวเป็นการค้าผู้ปลูกต้องใช้กระถางหรือพื้นที่จำนวนมากในการขยายพันธุ์ และการขยายพันธุ์ของบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์นี้จะต้องตัดแยกเหง้าที่มีตาและหน่อ ซึ่งเหง้าจะเจริญเติบโตตามแนวนอนใต้ผิวดิน และเมื่อโตเต็มที่จะแตกตาและโตขึ้นเป็นหน่อเพื่อเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ต่อไป (คุณา นนทพัฒน์. 2546) แต่เนื่องจากบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์นี้มีการแตกต้นหรือหัวใหม่ยาก และมีการพักตัวในฤดูหนาว (เสริมลาภ วสุวัต. 2538) จึงทำให้การขยายพันธุ์บัวนี้ไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการขยายพันธุ์อีกวิธีหนึ่ง ที่สามารถผลิตต้นกล้าได้ในจำนวนมาก ในระยะเวลารวดเร็ว และยังสามารถเก็บรักษาพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ได้ด้วย จึงมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้มาพัฒนาการขยายพันธุ์ ซึ่งเป็นพืชที่ขยายพันธุ์ยาก และปัญหาสำคัญของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวประดับนี้ คือ การปนเปื้อนของของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเริ่มจากการทำชิ้นส่วนของพืชให้สะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารให้มีชีวิตรอดและมีการเจริญเติบโต (ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536) การขจัดสิ่งปนเปื้อนและเชื้อจุลินทรีย์ออกจากผิวชิ้นส่วนพืชโดยการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อซึ่งมีหลายชนิด ประสิทธิภาพของสารฟอกฆ่าเชื้อขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารฟอกฆ่าเชื้อที่ใช้ จึงต้องทดสอบหาปริมาณที่เหมาะสมก่อน (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540) ในการทดลองนี้ จึงเป็นการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการขจัดการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเริ่มต้น และ ศึกษาถึงผลของการปนเปื้อน และ การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเริ่มต้นของบัวอุบลชาติพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์ หลังจากการฟอกฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้ว เพื่อเป็นแนวทางในการขยายพันธุ์บัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์

1.3 ขอบเขตการศึกษา

ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการขจัดการปนเปื้อนชิ้นส่วนเริ่มต้น (ปลายยอดของเหง้าที่อยู่ใต้ดิน) และศึกษาถึงผลของการปนเปื้อนต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์หลังจากการฟอกฆ่าเชื้อ

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

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับบัว

บัวเป็นพันธุ์ไม้น้ำชนิดหนึ่ง มีเหง้าและหัวในเลนตมแตกใบและดอกออกจากเหง้าหรือหัว ใบและดอกบางชนิดลอยเสมอน้ำ บางชนิดชูใบและดอกสูงกว่าน้ำ นักวิทยาศาสตร์จึงจัดบัวเป็นพืชน้ำในตระกูล Nymphaeaceae และมีความเชื่อว่า บัวสายเป็นดอกไม้ประจำชาติของอียิปต์ และชาวอียิปต์โบราณก็ใช้ดอกบัวเป็นดอกไม้ศักดิ์สิทธิ์สำหรับบูชาเทพเจ้า สำหรับประเทศไทยได้รับอารยธรรมอินเดียมาตั้งแต่สมัยโบราณ โดยเฉพาะในส่วนที่เกี่ยวข้องกับพุทธศาสนา ปัจจุบันเราจึงมักจะเห็นผู้ที่รักต้นไม้ทั้งหลายนำบัวมาปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับไว้ในบริเวณบ้านเรือนกันมากขึ้น เพราะดอกบัวนอกจากจะมีสีสันสวยสดงดงามแล้ว ยังมีกลิ่นหอม ทำให้บรรยากาศรอบๆบริเวณปลูกสดชื่น ประกอบกับบัวเป็นพืชที่ปลูกง่าย ขยายพันธุ์ได้เร็ว และสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี จึงทำให้มีผู้นิยมปลูกบัวเป็นไม้ดอกไม้ประดับเพิ่มมากขึ้น ซึ่งมีทั้งบัวประดับในภาชนะจำกัด หรือในกระถางสระน้ำข้างบ้านและแหล่งน้ำต่างๆ ทำให้บริเวณที่ปลูกบัวมองดูมีชีวิตชีวามากขึ้น (คุณา นนทพัฒน์. 2546)

2.1.1 **ลักษณะทางพฤกษศาสตร์** (สุปรานี วนิชชานนท์. 2540)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวอุบลชาติ

ในประเทศไทย บัวที่พบส่วนมากเป็นอุบลชาติ ซึ่งมีลักษณะที่ใช้ประกอบการจำแนกพันธุ์ดังนี้

ใบ ลักษณะของใบที่พบทั่วไปมีอยู่ 2 ลักษณะ คือ เป็นวงกลมและเป็นรูปไข่ ความกว้างของใบเมื่อใบแก่เต็มที่จะขึ้นอยู่กับสภาพของการปลูกและสิ่งแวดล้อม ขอบใบมี 4 ลักษณะ คือ ขอบใบเรียบ ขอบใบย่น ขอบใบจักมนไม่เป็นระเบียบ และขอบใบจักแหลมเป็นระเบียบ หูใบพบมี 3 ลักษณะ คือ ปลายมน ปลายเว้า และปลายแหลม ส่วนสีของใบจะแตกต่างกันไปทั้งใบอ่อนและใบแก่ ใบจะมีทั้งลักษณะที่มีขนและไม่มีขน

ดอก ดอกตูมจะมี 3 ลักษณะ คือ ทรงดอกป้อม ทรงดอกค่อนข้างป้อม ทรงดอกยาว ดอกบานก็จะมี 3 ลักษณะ เหมือนกัน คือ ดอกบานป้อมรูปถ้วย ดอกบานแผ่ครึ่งวงกลม ดอกบานแผ่ค่อนวงกลม ดอกจะประกอบด้วยกลีบเลี้ยง กลีบดอก ก้านชูอับเกสรตัวผู้ อับละอองตัวผู้ เกสรตัวเมีย และรังไข่ สีของกลีบดอก ถ้าเป็นพวกบัวฝรั่งจะมี 5 สี คือ ขาว ชมพู แดง เหลือง และส้มอมแสด พวกบัวผันบัวเผื่อนมีเกือบทุกสียกเว้นสีดำ ส่วนพวกบัวสายมี 3 สี ขาว ชมพู และแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลีบเลี้ยง กลีบเลี้ยงด้านนอกของบางพันธุ์ นอกจากจะมีสีเขียวแล้ว ยังมีลายเส้นหรือจุดประบนกลีบเลี้ยงอีกด้วย ส่วนด้านบนของกลีบเลี้ยง จะมีสีเดียวกันกับกลีบดอก กลีบเลี้ยงมีประมาณ 4 กลีบ

กลีบดอก จะมีลักษณะทั้งกลีบเรียวยาว ปลายกลีบเรียวแหลมหรือมน โคนกลีบครึ่งล่างกว้าง ครึ่งปลายเรียวแหลมหรือมน ความซ้อนของกลีบแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ซ้อนน้อย คือมีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกรวมกันไม่ถึง 20 กลีบ ซ้อน คือ กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรวมกัน 20-30 กลีบ ซ้อนมาก คือ กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรวมกัน 30 กลีบ

2.1.2 **การขยายพันธุ์** (คุณา นนทพัฒน์. 2546)

การขยายพันธุ์บัวมีหลายวิธี ส่วนใหญ่นิยมใช้วิธีขยายพันธุ์โดยการตัดแยกเอาส่วนต้นที่เจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ไปปลูกได้เลย (ทั้งบัวประเภทยืนต้นและล้มลุก) อย่างไรก็ตามยังมีวิธีการขยายพันธุ์บัวอีกหลายวิธี เช่น

1. การปลูกด้วยเมล็ด

โดยทั่วไปนักปลูกเลี้ยงบัวที่ปลูกเป็นการค้ามักจะปลูกต้นแม่ในบ่อเลี้ยงโดยเฉพาะ โดยจะปล่อยให้ดอกและฝักติดเมล็ดจมน้ำและงอกเป็นต้นอ่อนขึ้นมาเอง จากนั้นจึงถอนย้ายต้นอ่อนไปปลูกในกระถางหรือภาชนะ หรือสถานที่อื่นๆตามต้องการ แต่สำหรับผู้ปลูกบัวลูกผสมที่มีการผสมขึ้นมาใหม่ๆมักจะมีเมล็ดน้อย เมล็ดมีขนาดเล็กมาก และแต่ละเมล็ดมีค่า บางพันธุ์อาจจะอ่อนแอ ดังนั้น การปลูกขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดจึงต้องพิถีพิถันมากกว่าปกติ

2. การตัดแยกเหง้าที่มีตาและหน่อ

ลำต้นของบัวในเขตอบอุ่นและหนาวจะเจริญเติบโตเป็นเหง้า 2 ชนิดด้วยกัน คือ

1) เหง้าที่เจริญเติบโตตามแนวนอนใต้ผิวดิน และเมื่อโตเต็มที่จะแตกตา และโตขึ้นเป็นหน่อเพื่อเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ต่อไป

2) เหง้าที่เจริญเติบโตออกรอบทิศใต้ผิวดิน ซึ่งมีการแตกตาและหน่อออกเป็นกระจุกคล้ายกำปั้นและค่อยๆเจริญขยายออกไปทุกทิศทาง

3. การตัดแยกเหง้าที่มีต้นอ่อน

บัวที่มีเหง้าแก่เต็มที่และมีต้นอ่อนต้นใหม่เจริญเติบโตขึ้นสามารถตัดแยกไปปลูกได้ทันทีโดยไม่ต้องเสียเวลาปลูกเลี้ยงในกระถาง

4. การตัดแยกต้นอ่อนจากต้นแม่

บัวในเขตร้อน เมื่อหัวแก่เต็มที่แล้วจะมีต้นอ่อนเกิดขึ้นมาจากตาบนหัวของต้นแม่ การขยายพันธุ์ทำได้โดยการปลิดต้นอ่อนที่ผลิใบลอยเหนือน้ำ แล้วแยกไปปลูกในที่ใหม่ได้ตามต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 **ลักษณะประจำพันธุ์ของไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์** (เสริมลาภ วสุวัต. 2538)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Nymphaea spp.*(hybrid)

ชื่อสามัญ Director G. T. Moore

ชื่อไทย ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์

ถิ่นกำเนิด สหรัฐอเมริกา

เป็นบัวผันพันธุ์ลูกผสม ซึ่งคัดเลือกจากลูกผสมปล่อย (open pollinated) ของ *Nymphaea colorata* โดย Dr. George H.Pring แล้วตั้งชื่อเป็นเกียรติแก่ Dr. George T. Moore ผู้อำนวยการสวนพฤกษชาติ Missouri Botanical Gardens เมืองเซนต์หลุยส์ รัฐมิสซูรี่ สหรัฐอเมริกา ในปี พ.ศ. 2484 ดร.เสริมลาภ วสุวัต นำมาจากประเทศสหรัฐอเมริกา เมื่อปี พ.ศ. 2514

ลักษณะทั่วไป

ใบ เป็นรูปไข่ เส้นผ่าศูนย์กลาง 15-25 เซนติเมตร ขอบใบจักมนย่น หูใบปิด ใบอ่อนด้านบนสีเขียวอ่อน มีแถบสีม่วงอมน้ำตาล ด้านล่างสีเขียวอ่อนเหลือบม่วง ใบแก่ด้านบนสีเขียวเข้ม แถบจะจางลงจนเกือบไม่เห็น ด้านล่างสีม่วงอ่อนเหลือบเขียว

ก้านใบ ก้านดอก สีน้ำตาลอมแดง ไม่มีขน

ดอก ดกและทยอยออกตามกัน ดอกตูมมีลักษณะป้อม บาน 3-4 วัน ในช่วงเช้าถึงเย็น ดอกบานแผ่รูปครึ่งวงกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 15-20 เซนติเมตร กลีบดอกซ้อน โคนกลีบเลี้ยงและกลีบดอกกว้างปลายเรียว กลีบเลี้ยงด้านนอกสีเขียวด้านในสีเหมือนกลีบดอก คือ สีม่วง เกสรตัวเมียและโคนก้านเกสรตัวผู้สีเหลืองสด ก้านชูเกสรตัวผู้และอับเกสรตัวผู้สีม่วง

สภาวะเหมาะสม

ดิน วัสดุปลูกส่วนใหญ่เป็นดินเหนียวที่มีธาตุโปแตสเซียมค่อนข้างสูง ไม่ควรใช้ดินที่มีซากอินทรียวัตถุที่ยังย่อยไม่หมด เพราะจะทำให้น้ำเสียได้

แสงแดด ควรปลูกบัวในบริเวณที่มีแสงแดดกึ่งร่มกึ่งแดดหรือได้รับแสงแดดไม่ต่ำกว่า 5 ชั่วโมงในแต่ละวัน

น้ำ ระดับความลึกของน้ำที่บัวต้องการ ควรอยู่ในระดับน้ำตื้นและลึกปานกลาง พื้นผิวน้ำกว้าง 0.3 - 1 ตารางเมตร

การพักตัว

มีการพักตัวในฤดูหนาว

การขยายพันธุ์

แตกต้นหรือหัวใหม่ยาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์

เป็นไม้ประดับ ปลูกในอ่างหรือบ่อซีเมนต์ลึกไม่เกิน 1 เมตร และใช้เป็นไม้ตัดดอกได้ดีมาก เพราะก้านดอกและกลีบดอกแข็ง

ลักษณะพิเศษ

ทนต่อโรคและสิ่งแวดล้อมได้ดีมาก ปลูกง่าย จึงเหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการปลูกเลี้ยงแบบง่ายๆ

2.2 การขจัดสิ่งปนเปื้อน (disinfection หรือ disinfestations)

ในการแยกเนื้อเยื่อพืชมาเลี้ยง กระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญและขาดไม่ได้คือ การขจัดสิ่งปนเปื้อนโดยใช้เทคนิค disinfection หรือ disinfestations เพื่อขจัดสิ่งสกปรกและเชื้อจุลินทรีย์ออกจากผิวของเนื้อเยื่อ โดยไม่ได้มุ่งขจัดสิ่งปนเปื้อนที่อาจติดมาภายใน แต่มีจุดมุ่งหมายสำคัญ 2 ประการ คือ

1. ขจัดหรือลดปริมาณจุลินทรีย์ ไม่ให้มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จนทำให้เกิดความเสียหายแก่เนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยงได้

2. เพื่อลดผลของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจไปเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อความเป็นกรดและด่าง (pH) การเคลื่อนย้ายธาตุอาหารและสารกระตุ้นการเจริญเติบโตจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงและการปลดปล่อยสารต่างๆที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการทางชีวเคมีของสิ่งมีชีวิต (metabolic by-products) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อน (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540)

โดยทั่วๆไปแล้ว การขจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากผิว (surface sterilization หรือ disinfection) ทำได้ยากในชิ้นส่วนพืชที่มีขนหรือผิวขรุขระไม่เรียบ (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540) การเตรียมเนื้อเยื่อพืชในบางครั้งสามารถที่จะเลือกเนื้อเยื่อของพืชที่มีลักษณะตามที่ต้องการได้ เช่น เนื้อเยื่อพืชบางชนิดอาจมีเชื้อราเจริญอยู่ตามผิวจำนวนมาก การฟอกฆ่าเชื้อของเนื้อเยื่อพืชบางชนิดอาจจะนำเนื้อเยื่อนั้นไปแช่ในน้ำและให้น้ำจากก๊อกไหลผ่านกระทบกับเนื้อเยื่อนั้นนานๆ (1-2 ชั่วโมง) วิธีนี้อาจจะช่วยลดจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเนื้อเยื่อที่มีซอกเล็กซอกน้อยจำนวนมาก (บุญยืน กิจวิจารณ์. 2540) จึงควรใช้สารฟอกฆ่าเชื้อ (sterilizing agents หรือ disinfectants) หลายๆชนิด ปัจจุบันมีการรายงานเรื่องชนิด ความเข้มข้น ระยะเวลา และประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการฟอกกำจัดเชื้อที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดังนี้

1. calcium hypochlorite ($CaOCl_2$) ความเข้มข้นที่ใช้ 9-10% ระยะเวลาที่ใช้ 5-30 นาที ประสิทธิภาพในการฟอกกำจัดเชื้อดีมาก

2. sodium hypochlorite (NaOCl) ความเข้มข้นที่ใช้ 0.25-2.65% ระยะเวลาที่ใช้ 5-30 นาที ประสิทธิภาพในการฟอกกำจัดเชื้อดีมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. hydrogen peroxide (H_2O_2) ความเข้มข้นที่ใช้ 10-12% ระยะเวลาที่ใช้ 5-15 นาที ประสิทธิภาพในการฟอกกำจัดเชื้อดี

4. mercuric chloride ($HgCl_2$) ความเข้มข้นที่ใช้ 0.1-1.0% ระยะเวลาที่ใช้ 2-10 นาที ประสิทธิภาพในการฟอกกำจัดเชื้อดีพอใช้ (ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536)

สารฟอกกำจัดเชื้อที่นิยมใช้มากที่สุดคือ sodium hypochlorite (NaOCl) มีชื่อการค้าที่รู้จักดี คือ clorox มีจำหน่ายในท้องตลาดด้วยความเข้มข้น 10-14% w/v available chlorine เมื่อใช้ควรเจือจางด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:10 อาจใช้สารจับใบ (surfactant) เพื่อช่วยให้สารฟอกกำจัดเชื้อเข้าไปในผิวของเนื้อเยื่อที่ไม่เรียบหรือมีขนได้ดีขึ้น เช่น Tween-20 (poly-oxyethylene sorbitan monolaurate) หรือ teepol ความเข้มข้น 0.05% หรือประมาณ 1-2 หยด หรือใช้ผงซักฟอก (detergent) ในปริมาณที่พอเหมาะ โดยทั่วไปนิยมนำมาใส่ในขวด erlenmeyer flask บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 50-150 rpm (round per minute หรือ รอบต่อนาที) นาน 15-30 นาที เพื่อช่วยในการทำงานของสารฟอกกำจัดเชื้อมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ประสิทธิภาพของสารฟอกกำจัดเชื้อเหล่านี้เป็นผลมาจากการตอบสนองต่อ เวลา และปริมาณของสารที่ใช้ (time–dose response) โดยปกติประสิทธิภาพจะมากขึ้นถ้าใช้เวลาและความเข้มข้นของสารมากขึ้น แต่ถ้าใช้มากเกินไปอาจทำอันตรายต่อความมีชีวิตของเซลล์ เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะของพืชได้ จึงต้องทดสอบหาปริมาณที่เหมาะสมก่อน (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540)

2.3 สารปฏิชีวนะ (antibiotic)

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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)

2.4 สารกำจัดเชื้อรา (fungicide)

benomyl เป็นสารกำจัดเชื้อราอยู่ในกลุ่ม benzimidazole ซึ่งจัดเป็นยากำจัดเชื้อราชนิดดูดซึม (systemic fungicides) พิษของ benomyl กว้างโดยเฉพาะใช้กับโรคทางใบ ราก และหัว เชื้อสาเหตุคือ เชื้อในดิน (soil borne) และพบว่า benomyl จะมีพิษเมื่อละลายน้ำ (ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2528)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พัชรินทร์ แซ่ลิ้ม (2537) ศึกษาการใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อรา เพื่อขจัดการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฮลิโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ชิ้นส่วนจากตายอดหรือตาข้างมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มีน้ำมะพร้าว 150 ml/l, BA 5 mg/l, พบว่า วิธีการที่ดีที่สุดในการขจัดการปนเปื้อนของ *Heliconia sticta* คือ อาหารที่มี benomyl 50 mg/l ซึ่งสามารถขจัดเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วนได้ 33.33% และชิ้นส่วนที่เจริญเติบโตได้ 22.22% และพบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี rifampicin ทุกระดับความเข้มข้นมีการเจริญเติบโตและทำให้ชิ้นส่วนตาย ส่วนการขจัดการปนเปื้อนของ *H. densiflora* นั้น พบว่า อาหารที่มี cefotaxime 50 mg/l ร่วมกับ benomyl 50 mg/l สามารถขจัดเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วนได้ 33.33% ชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตได้ 25% และมีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตสูงสุด หลังจากย้ายชิ้นส่วนมาเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อรา

กาญจนรี พงษ์ฉวี และคณะ (2542) ศึกษาการเพาะขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำ ผมหอม (*Cryptocoryne tonkinensis* Gagnepain) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อผมหอมที่ให้ผลดีที่สุดคือ การใช้สารฟอกฆ่าเชื้อ clorox 4%ที่เติม tween20 2 หยด นาน 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที และ mercuric chloride 2% ที่เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที แล้วนำชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS โดยชิ้นเนื้อเยื่อของผมหอมมีอัตราการรอดเฉลี่ยสูงถึง 90% และมีอัตราการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เพียง 10%

โศรดา หะลี (2542) ทดลองกำจัดแบคทีเรียที่ปนเปื้อนภายในต้นหน้าวัวพันธุ์ NAGAI ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำส่วนลำต้นหน้าวัว เขย่าในสารแคงเกอร์-เอ็กซ์ (a.i. :

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

streptomycin 20%, oxytetracyclin 2.5%, procaine penicillin G 2.5%) เข้มข้น 0 2 4 และ 8% นาน 30 นาที พบว่า สามารถกำจัดแบคทีเรียได้ 0 40 60 และ 60% ตามลำดับ แต่ภายหลังการกำจัดเชื้อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของชิ้นส่วนพืชลดลง

ศราวุฒิ คิ้วเที่ยง (2544) ศึกษาการใช้สูตรฟอกฆ่าเชื้อเพื่อขจัดการปนเปื้อน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสะละในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนมาฟอกฆ่าเชื้อ จากการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อโดยทำความสะอาดปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนของสะละ 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 และวิธีการที่ 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% ตามลำดับ และมีชิ้นส่วนที่สามารถเติบโตได้เท่ากับ 33.33% และ 66.67% ตามลำดับ

โอฬาร สุวรรณศิริศิลป์ (2546) ศึกษาการใช้สูตรฟอกฆ่าเชื้อ เพื่อขจัดการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบานบุรีหอมในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ชิ้นส่วนตาข้างมาฟอกฆ่าเชื้อ พบว่า การใช้ ethanol 70% นาน 1 นาที + clorox 20%+tween20 2-3 หยด นาน 20 นาที + clorox 10%+tween20 2-3 หยด นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที และนำชิ้นส่วนไปเลี้ยงในอาหารสูตร WPM (Lloyd&McCown) (1981) ที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l สามารถทำให้ชิ้นส่วนอยู่ในสภาพปลอดเชื้อและเจริญเติบโตได้ที่ 55.56%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันเพ็ญ มีนกาญจน์ (2547) ศึกษาการขยายพันธุ์บอนแดง โดยทำการฟอกฆ่าเชื้อส่วนยอด พบว่า สารฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดของบอนแดงที่เหมาะสมคือ การฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วย sodium hypochlorite 4% นาน 15 นาที แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วย mercuric chloride 2% นาน 10 นาที มีผลให้ชิ้นเนื้อเยื่อปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ต่ำที่สุด และมีอัตราการรอดสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยมีอัตราการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์เฉลี่ย 23.33±16.100% และอัตรารอดเฉลี่ย 90.00±16.100%

Haldemen *et al.* (1987) พบว่า การใช้สารกำจัดเชื้อรา (benomyl) ร่วมกับ สารปฏิชีวนะ (rifampicin) จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมการติดเชื้อราและแบคทีเรีย จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของ *Camellia sinensis* หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอาหารที่เติม benomyl ความเข้มข้น 1 2 หรือ 4 g/l ร่วมกับ rifampicin ความเข้มข้น 10 25 หรือ 50 mg/l จะสามารถลดการติดเชื้อ ซึ่งอาหารที่เติม benomyl 1 g/l ร่วมกับ rifampicin 10 mg/l มีเปอร์เซนต์การปลอดเชื้อสูงสุดที่ 100% โดยไม่มีผลข้างเคียงที่เป็นพิษ

MacDonald (1987) ศึกษาสูตรฟอกฆ่าเชื้อ 5 สูตร ที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อหัว (bulb) ของ *Nerine sarniensis* ซึ่งผลที่ดีที่สุดคือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วย benlate (benomyl) 0.2% เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง และ ตามด้วย sodium hypochlorite 20% เป็นเวลา 25 นาที ถึงขั้นตอนนี้พบว่ามีการปนเปื้อนอยู่ประมาณ 90% หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนไปตัดและทำการฟอกฆ่าเชื้ออีกครั้งโดยใช้สูตรฟอกฆ่าเชื้อเดิม สุดท้ายก็ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ขั้นตอนนี้พบการปนเปื้อนแค่ 6-15%

Jenk *et al.* (1990) ใช้ใบอ่อนของ Nymphaea 'Daubeniana' โดยตัดใบมาเลี้ยงในน้ำสะอาดให้เจริญแล้วตัดเฉพาะส่วนต้นอ่อนโดยให้รอยตัดห่างจากฐานรองต้นอ่อน 3 mm. ผ่านน้ำไหลนาน 30 นาที ตัดขนออกแล้วผ่านน้ำไหลอีกครั้งนาน 30 นาที นำไปฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้ ethanol 50% นาน 90 วินาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ฟอกด้วย sodium hypochlorite 1.31% (v/v) +tween20 2 หยด นาน 12 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที นำไปเลี้ยงใน liquid basal medium (BM) 1/2MS + sucrose 87.6 mM + thiamine-HCl 1.2 µM + myo-inositol 0.56 mM + 2iP 10 µM + IAA 3 µM

Leifert *et al.* (1992) ศึกษาผลของสารปฏิชีวนะเพื่อกำจัดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียโดยการเพาะเลี้ยงปลายยอดของ Clematis cv. Montana Rubens, Delphinium cv. 803 Hoeta cv. Blue Wedgewood, Iris germanica cv. 5 ster Admiral และ Photinia fraseri cv. Red Robin ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีสารปฏิชีวนะ 1 ชนิดหรือมากกว่านั้น ที่มีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ในการเพาะเลี้ยงปลายยอดของพืชทั้งหมดพบว่า อัตราการเกิดยอดลดลง ซึ่งสารปฏิชีวนะเหล่านั้นประกอบไปด้วย aminoglycoside (streptomycin หรือ gentamicin), beta-lactam antibiotics

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(carbenicillin และ cephalothin) และ rifampicin ซึ่งใน delphinium และ clematis อัตราการเกิดยอดลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะเพิ่มขึ้น หลังจากนั้น 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่ประกอบด้วย streptomycin, carbenicillin และ rifampicin อย่างละ 100 mg/l ทำให้ I. germanica, Delphinium และ P. fraawei, Clematis และ Hosta มีอัตราการเกิดยอด 56%, 50%, 42% และ 16% ตามลำดับ

Wagih *et al.* (1995) การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของอ้อยพันธุ์ NCo.310 โดยการนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย sodium hypochlorite 4% เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วย carbenicillin 100 mg/l, nystatin 25 mg/l และ benlate 100 mg/l (benomyl) แล้วนำไปผ่านขบวนการ double heat treatment โดยที่ครั้งแรกให้ความร้อนที่ 50^{0}C เป็นเวลา 120 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนอีกครั้งที่ 61^{0}C เป็นเวลา 30 นาที สำหรับอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงคือ อาหารสูตร 1/2MS ที่เติม วุ้น 8 g/l, ซูโครส 30 g/l, NAA 2 mg/l และ malt extract 500 mg/l ผลของการใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับการให้ความร้อนสามารถกำจัดการปนเปื้อนได้ 94% และสามารถกำจัดเชื้อไวรัสฟิจิได้ 28%

Levin *et al.* (1996) พบว่า ในการเพาะเลี้ยง *Syngonium* ในอาหารเหลวที่มีซูโครสที่ผ่านการกรอง โดยหลังจาก 30 วัน จะมีการผลิตยอด 19.5 ยอด/น้ำหนักสดเป็นกรัมของเชื้อที่ใส่ลงไป และเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนยอดที่ได้จากอาหารที่ไม่ผ่านการกรอง ซึ่งมีจำนวนยอด 8.7 ยอด และเมื่อย้ายไปยังอาหารที่มี rifampicin ความเข้มข้น 30 mg/l จะมีการสร้างยอด 67% และอาหารที่ไม่ใส่ rifampicin จะมีการสร้างยอดเพียง 40%

Peiris *et al.* (1998) ศึกษาการเพิ่มจำนวนในสภาพปลอดเชื้อของ Satin wood *(Chloroxylon swietenia)* โดยใช้ตาข้าง โดยเริ่มแรกทำการฟอกฆ่าเชื้อโดยการแช่ย่าชิ้นส่วนในสารละลาย benomyl ร่วมกับ streptomycin ความเข้มข้น 600 mg/l ประมาณ 15 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS ที่มี benlate เข้มข้น 250 mg/l ร่วมกับ streptomycin เข้มข้น 300 mg/l มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อที่ 48%

Ramirez และ Salazar (1998) พบว่านำใบของต้น *Psidium guajava* L. เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำมาผ่านน้ำไหลเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปแช่ย่าใน benomyl 14 g/l ร่วมกับ rifampicin 300 mg/l เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol 70% เป็นเวลา 1 นาที และ calcium hypochlorite 10% เป็นเวลา 15 นาที

Biasi *et al.* (1999) ได้ทำการศึกษาสภาพปลอดเชื้อที่ดีของปลายยอด *Japanese persimmon* CV. Fuyu โดยส่วนปลายยอดเตรียมโดยแช่ใน benomyl 2 g/l เวลา 16 ชั่วโมง ก่อนทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนและนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS พบว่ามีชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อ 90% และ สามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ 50%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ganesh และ Sreenath (1999) ศึกษาการฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกาแฟพันธุ์ Catimor/Cauvery S. 4347 ด้วย sodium hypochlorite ความเข้มข้น 0.05, 0.5 และ 1% หรือ mercuric chloride ความเข้มข้น 0.05 0.1 และ 1% เป็นเวลา 0 5 10 และ 15 นาที ผลการทดลองพบว่า ชิ้นส่วนข้อที่ treated ด้วย sodium hypochlorite 1% เป็นเวลา 15 นาที และ mercuric chloride 0.1% เป็นเวลา 5 นาที ให้ผลดีที่สุด

Santana *et al.* (2003) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้เนื้อแข็ง *Annona cauliflora, A. bahiensis, A. glabra* ในสภาพปลอดเชื้อ งานทดลองนี้จะเปรียบเทียบสูตรฟอกฆ่าเชื้อต่างๆ โดยจะใช้สารกำจัดเชื้อรา benlate 500 (benomyl 50%) ที่มีความเข้มข้น 0 1 2 และ4 g/l และสารปฏิชีวนะ ampicillin ที่มีความเข้มข้น 0 1 2 และ 4 mg/l ผลการทดลองพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบนั้น การใช้ benomyl ที่ความเข้มข้น 1 g/l มีประสิทธิภาพสามารถกำจัดเชื้อราได้ทั้งหมด ส่วนการใช้ ampicillin ที่ความเข้มข้น 0-4 mg/l พบว่ายังไม่สามารถควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียได้ และหลังจากที่ฟอกฆ่าเชื้อใบของ *Annona* sp. แล้ว พบว่า ค่าเฉลี่ยของชิ้นส่วนที่มีชีวิตนั้นมีความแตกต่างกันทางสถิติ

Reddy และ Reddy (2003) ศึกษาผลของสารฟอกฆ่าเชื้อคือ mercuric chloride, sodium hypochlorite, alcohol 10 %, streptomycin 0.50% และ bavistin (carbendazime) 1.00% โดยใช้ชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของ parwal *(Trichosanthes dioica)* 4 สายพันธุ์ คือ Swarna Alaukik Elite Selection-1 Swarna Rekha และ male พบว่าการนำชิ้นส่วนไปแช่ใน mercuric chloride 0.05% เป็นเวลา 5 นาที จะได้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด คือ 96% และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของข้อของ Swarna Alaukik Elite Selection-1 Swarna Rekha และ Male คือ 98.6%, 98.1%, 97.9% และ 97.4% ตามลำดับ

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 กระบอกตวง บีกเกอร์ ปิเปตต์ แท่งแก้วคนสาร และขวดแก้วขนาดเล็กพร้อมฝาปิด

3. สารเคมีสำหรับการเตรียมอาหาร

- สูตรอาหาร Murashige&Skoog (1962) (ดูภาคผนวก)

4. สารควบคุมการเจริญเติบโต

- IAA (indoleacetic acid)
- 2iP (2-isopentenyladenine)

5. สารเคมีสำหรับปรับความเป็นกรด-ด่าง

- NaOH 1 N
- HCl 1 N

6. สารปฏิชีวนะ

- cefotaxime
- rifampicin
- amoxycillin

7. สารกำจัดเชื้อรา

- hinomyl (เป็นชื่อทางการค้าประกอบด้วย benomyl 50% w/w)

8. สารเคมีกำจัดโรคพืช

- phytomycin (ประกอบด้วย streptomycin sulfate 18% และ oxytetracyclin hydrochloride 1.5 %)

- oxytrep (ประกอบด้วย streptomycin sulfate 20%, oxytetracyclin hydrochloride 5 %, procaine penicillin G 3% และ Innert Ingredient 72%)

9. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ

- ethanol 70%
- clorox

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- mercuric chloride
- calcium hypochlorite
- tween 20

10. อุปกรณ์ถ่ายภาพ

11. บัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์

3.2 วิธีการ

3.2.1 การเตรียมสูตรอาหาร 1/2 MS (Murashige&Skoog. 1962)

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 50 ml ส่วน microelement และ organic compound ที่มีความเข้มข้น 100 เท่า จะใช้ 5 ml จากนั้นเติมน้ำตาล 15 กรัม และใส่ IAA ความเข้มข้น 3 µM และ 2iP ความเข้มข้น 10 µM แล้วปรับ pH ของอาหารเท่ากับ 5.5-5.7 ด้วย NaOH 1 N หรือ HCl 1 N และใส่วุ้นแล้วนำไปต้ม หลังจากนั้นนำไปกรอกใส่ขวดขนาดเล็กนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 20 นาที

3.2.2 การเตรียมเหง้าที่อยู่ใต้ดิน

1. นำเหง้าที่อยู่ใต้ดินมาทำการล้างน้ำให้สะอาด แล้วตัดส่วนก้านใบ ดอก และราก ที่มีสิ่งสกปรกออก จากนั้นนำไปผ่านน้ำไหลนานประมาณ 1 ชั่วโมง

2. นำชิ้นส่วนไปฟอกฆ่าเชื้อตามขั้นตอน ดังนี้

   1) ethanol 70% นาน 1 นาที
   2) mercuric chloride 0.1% เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที
   3) calcium hypochlorite 5% เติม tween20 2 หยด นาน 30 นาที
   4) calcium hypochlorite 1% เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที
   5) ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที

3.2.3 สภาพห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นำไปเก็บไว้ในที่มีแสง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส โดยมีช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

3.2.4 วิธีการทดลอง

<u>การทดลองที่ 1</u> การศึกษาผลของสารกำจัดเชื้อราและสารปฏิชีวนะที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์

1.1 การศึกษาผลของ benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin เมื่อใส่ลงในอาหารที่มีผลต่อการปลอดเชื้อ และการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงปลายยอดของบัวประดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำเหง้าของบัวประดับ มาฟอกฆ่าเชื้อดังในวิธีการ 3.2.2 หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin ในระดับต่างๆ ตามวิธีการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design มี 2 treatment จำนวน 2 ซ้ำ ดังนี้

1. benomyl 50 mg/l + cefotaxime 100 mg/l

2. benomyl 50 mg/l + rifampicin 25 mg/l

วิธีการ

เตรียมอาหารสูตรพื้นฐาน 1/2 MS ที่เติม IAA 3 µM + 2iP 10 µM และใส่ benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ตาม treatment combination โดยการเตรียมสูตรอาหารพื้นฐาน และเติม benomyl 50 mg/l นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที หลังจากนั้นทำการกรอง cefotaxime และ rifampicin ให้ปลอดเชื้อด้วย filter ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ภายในตู้ laminar flow ปิเปต cefotaxime และ rifampicin ลงในอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่มีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส แล้วเทลงขวดขนาดเล็กในตู้ laminar flow จากนั้นตัดชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้

การบันทึกผล

1. บันทึกชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน

2. บันทึกชิ้นส่วนที่ตาย

3. จำนวนชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโต

1.2 การศึกษาผลของการแช่ชิ้นส่วนใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ในรูปของสารละลายที่มีผลต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของปลายยอดบัวประดับ

นำเหง้าของบัวประดับมาล้างทำความสะอาด ตัดก้านใบ ดอก ราก ที่มีสิ่งสกปรกออก จากนั้นนำไปผ่านน้ำไหลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาแช่ในสารกำจัดเชื้อรา benomyl ร่วมกับ สารปฏิชีวนะ rifampicin ในรูปสารละลายความเข้มข้นต่างๆ และทำการแช่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนทำการฟอกฆ่าเชื้อ โดยมีวิธีการดังนี้

วิธีการที่ 1 แช่ในสารละลาย benomyl 0.5 g/l + rifampicin 150 mg/l

วิธีการที่ 2 แช่ในสารละลาย benomyl 0.5 g/l + rifampicin 300 mg/l

วิธีการที่ 3 แช่ในสารละลาย benomyl 1.0 g/l + rifampicin 150 mg/l

วิธีการที่ 4 แช่ในสารละลาย benomyl 1.0 g/l + rifampicin 300 mg/l

วิธีการที่ 5 แช่ในสารละลาย benomyl 2.0 g/l + rifampicin 150 mg/l

วิธีการที่ 6 แช่ในสารละลาย benomyl 2.0 g/l + rifampicin 300 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อดังวิธีการที่ 3.2.2.2 จากนั้นตัดชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม IAA 3 µM และ 2iP 10µM ร่วมกับ การใส่สารกำจัดเชื้อรา benomyl 50 mg/l และ สารปฏิชีวนะ cefotaxime 100 mg/l โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design แต่ละ treatment มี 2 ซ้ำๆ ละ 6 ชิ้น

การบันทึกผล

1. บันทึกชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน
2. บันทึกชิ้นส่วนที่ตาย
3. จำนวนชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโต

<u>การทดลองที่ 2</u> การศึกษาผลของสารเคมีกำจัดโรคพืช (phytomycin และ oxytrep) ที่มีต่อการปลอดเชื้อ และการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์

2.1 การศึกษาผลของการเขย่าชิ้นส่วนในสารเคมีกำจัดโรคพืช (phytomycin) ในรูปของสารละลายที่มีต่อการควบคุมการปนเปื้อน และการเจริญเติบโตของปลายยอดบัวประดับ

นำเหง้าของบัวประดับมาล้างทำความสะอาด ตัดก้านใบ ดอก ราก ที่มีสิ่งสกปรกออก จากนั้นนำไปผ่านน้ำไหลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาเขย่าในสารเคมีกำจัดโรคพืช (phytomycin) ในรูปสารละลายความเข้มข้นและระยะเวลาตามวิธีการที่กำหนด ก่อนทำการฟอกฆ่าเชื้อ โดยมีวิธีการดังนี้

วิธีการที่ 1 เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง

วิธีการที่ 2 เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง

วิธีการที่ 3 เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

วิธีการที่ 4 เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

หลังจากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อดังวิธีการที่ 3.2.2.2 จากนั้นตัดชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม IAA 3 µM และ 2iP 10µM ร่วมกับ การใส่สารกำจัดเชื้อรา benomyl 50 mg/l และ สารปฏิชีวนะ cefotaxime 100 mg/l โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design แต่ละ treatment มี 2 ซ้ำๆ ละ 3 ชิ้น

การบันทึกผล

1. บันทึกชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน
2. บันทึกชิ้นส่วนที่ตาย
3. จำนวนชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโต

2.2 การศึกษาผลของการเขย่าชิ้นส่วนในสารเคมีกำจัดโรคพืช (oxytrep) ในรูปของสารละลายที่มีต่อการควบคุมการปนเปื้อน และการเจริญเติบโตของปลายยอดบัวประดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

นำเหง้าของบัวประดับมาล้างทำความสะอาด ตัดก้านใบ ดอก ราก ที่มีสิ่งสกปรกออก จากนั้นนำไปผ่านน้ำไหลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาเขย่าในสารเคมีกำจัดโรคพืช (oxytrep) ในรูปสารละลายความเข้มข้นและระยะเวลา ตามวิธีการที่กำหนด ก่อนทำการฟอกฆ่าเชื้อ โดยมีวิธีการดังนี้

วิธีการที่ 1 เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง

วิธีการที่ 2 เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง

วิธีการที่ 3 เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

วิธีการที่ 4 เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

หลังจากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อดังวิธีการที่ 3.2.2.2 จากนั้นตัดชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม IAA 3 µM และ 2iP 10µM ร่วมกับ การใส่สารกำจัดเชื้อรา benomyl 50 mg/l และ สารปฏิชีวนะ cefotaxime 100 mg/l โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design แต่ละ treatment มี 2 ซ้ำๆ ละ 3 ชิ้น

การบันทึกผล

1. บันทึกชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน
2. บันทึกชิ้นส่วนที่ตาย
3. จำนวนชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโต

<u>การทดลองที่ 3</u> การศึกษาผลของสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีต่อการปลอดเชื้อ และการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์วีจีทีมัวร์

นำเหง้าของบัวประดับมาล้างทำความสะอาด ตัดก้านใบ ดอก ราก ที่มีสิ่งสกปรกออก จากนั้นนำไปผ่านน้ำไหลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ ตามที่กำหนด โดยมีวิธีการดังนี้

วิธีการที่ 1

1. ethanol 70% นาน 1 นาที
2. clorox 30% + tween20 2-3 หยด นาน 15 นาที
3. mercuric chloride 1% + tween20 2-3 หยด นาน 10 นาที
4. ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที

วิธีการที่ 2

1. ethanol 70% นาน 1 นาที
2. clorox 30% + tween20 2-3 หยด นาน 15 นาที
3. mercuric chloride 2% + tween20 2-3 หยด นาน 10 นาที
4. ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

108880

จากนั้นตัดชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว และก่อนนำไปใส่ในขวดเพาะเลี้ยงทำการจุ่มชิ้นส่วนลงในยาปฏิชีวนะ (amoxicillin 1%) แล้วจึงนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม IAA 3 µM และ 2iP 10µM ร่วมกับ การใส่สารกำจัดเชื้อรา benomyl 50 mg/l และ สารปฏิชีวนะ cefotaxime 100 mg/l บันทึกผลการทดลองทุกสัปดาห์ และย้ายลงในอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม IAA 3 µM และ 2iP 10 µM ที่ไม่มีสารกำจัดเชื้อราและสารปฏิชีวนะ 2 สัปดาห์หลังการเพาะเลี้ยง โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design แต่ละ treatment มี 2 ซ้ำๆ ละ 3 ชิ้น

การบันทึกผล

1. บันทึกชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน
2. บันทึกชิ้นส่วนที่ตาย
3. จำนวนชิ้นส่วนที่มีการเกิดยอด

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

เริ่มทำการทดลอง พฤศจิกายน 2547

สิ้นสุดการทดลอง กันยายน 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 ผลการทดลอง

<u>การทดลองที่ 1</u> การศึกษาผลของสารกำจัดเชื้อราและสารปฏิชีวนะที่มีต่อการปลอดเชื้อ และการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์

การทดลองที่1.1 การศึกษาผลของ benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin เมื่อใส่ลงในอาหารที่มีผลต่อการปลอดเชื้อ และการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงปลายยอดของบัวประดับ

<u>ชิ้นส่วนอายุ 3 วัน</u>

ผลของ benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin เมื่อใส่ลงในอาหารสังเคราะห์ต่อการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 3 วัน พบว่า การใช้ benomyl ความเข้มข้น 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime ความเข้มข้น 100 mg/l และการใช้ benomyl ความเข้มข้น 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin ความเข้มข้น 25 mg/l มีผลต่อการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 1) โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ความเข้มข้น 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin ความเข้มข้น 25 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 0% (ไม่มีการปนเปื้อน) และชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ความเข้มข้น 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime ความเข้มข้น 100 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 16.67% การปนเปื้อนของชิ้นส่วนเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมชิ้นส่วนทั้งหมดและแผ่ขยายไปทั่วอาหาร ในแบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล บริเวณด้านบนของชิ้นส่วนและรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหาร ชิ้นส่วนมีลักษณะด้านบนมีสีน้ำตาลซีดและด้านล่างมีสีน้ำตาลเข้ม

<u>ชิ้นส่วนอายุ 5 วัน</u>

ผลของ benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin เมื่อใส่ลงในอาหารสังเคราะห์ต่อการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 5 วัน พบว่า การใช้ benomyl ความเข้มข้น 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime ความเข้มข้น 100 mg/l และการใช้ benomyl ความเข้มข้น 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin ความเข้มข้น 25 mg/l มีผลต่อการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 1) โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ความเข้มข้น 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime ความเข้มข้น 100 mg/l มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 58.33%และชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ความเข้มข้น 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin ความเข้มข้น 25 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 66.67%โดยการปนเปื้อนทั้งหมดเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีแบคทีเรียเล็กน้อยในเชื้อรามีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมทั่วชิ้นส่วน แบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดบริเวณด้านข้างของชิ้นส่วนและบริเวณรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหาร ชิ้นส่วนมีลักษณะด้านบนมีสีน้ำตาลซีดและด้านล่างมีสีน้ำตาลเข้ม

ชิ้นส่วนอายุ 7 วัน

ผลของ benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin เมื่อใส่ลงในอาหารสังเคราะห์ต่อการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 7 วัน พบว่า การใช้ benomyl ความเข้มข้น 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime ความเข้มข้น 100 mg/l และการใช้ benomyl ความเข้มข้น 50 mg/l ร่วมกับ rifampicin ความเข้มข้น 25 mg/l มีผลต่อการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 1) และทั้ง 2 วิธีการมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน 100% โดยเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดในวันที่ 7 ภายหลังจากทำการทดลอง โดยการปนเปื้อนทั้งหมดเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีแบคทีเรียเล็กน้อย ในเชื้อรามีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมทั่วชิ้นส่วน แบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล เกิดบริเวณด้านข้างของชิ้นส่วนและบริเวณรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหาร ชิ้นส่วนมีลักษณะด้านบนมีสีน้ำตาลซีดและด้านล่างมีสีน้ำตาลเข้ม

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบัวประดับบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin

อาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ	%ชิ้นส่วนปนเปื้อน (±SE)		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
cefotaxime 100 mg/l	16.67±15.22	50.00±20.41	100±0.00
rifampicin 25 mg/l	0.00±0.00	66.67±19.25	100±0.00
t-test	ns	ns	ns

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่1.2 การศึกษาผลของการเขย่าชิ้นส่วนใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ในรูปของสารละลายที่มีผลต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของปลายยอดบัวประดับ

ชิ้นส่วนอายุ 3 วัน

ผลของการเขย่าชิ้นส่วนใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ในรูปของสารละลายต่อการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 3 วัน พบว่า การเขย่าชิ้นส่วนใน benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 g/l ร่วมกับ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 300 mg/l มีผลต่อการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 2) โดยที่ชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 1 และ 2 g/l ร่วมกับ rifampicin 150 และ 300 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 0% (ไม่มีการปนเปื้อน) ส่วนชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 0.5 g/l ร่วมกับ rifampicin 300 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 18.34% และชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 0.5 g/l ร่วมกับ rifampicin 150 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 16.67% โดยการปนเปื้อนทั้งหมดเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีแบคทีเรียเล็กน้อย ในเชื้อรามีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมทั่วชิ้นส่วน แบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล เกิดบริเวณด้านข้างของชิ้นส่วนและบริเวณรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหาร ชิ้นส่วนมีลักษณะด้านบนมีสีน้ำตาลซีดและด้านล่างมีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนตรงกลางมีสีเขียวอ่อนๆ ของก้านใบ

ชิ้นส่วนอายุ 5 วัน

ผลของการเขย่าชิ้นส่วนใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ในรูปของสารละลายต่อการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 5 วัน พบว่า การเขย่าชิ้นส่วนใน benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 g/l ร่วมกับ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 300 mg/l มีผลต่อการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 2) โดยชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 2.0 g/l ร่วมกับ rifampicin 150 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 19.45% ส่วนชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 1.0 g/l ร่วมกับ rifampicin 150 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 66.67% ส่วนชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 0.5 g/l ร่วมกับ rifampicin 300 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 64.17%, ชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 1.0 g/l ร่วมกับ rifampicin 300 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 49.09%, ชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 0.5 g/l ร่วมกับ rifampicin 150 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 40.97% และชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 2.0 g/l ร่วมกับ rifampicin 300 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 40% การปนเปื้อนของชิ้นส่วนเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมชิ้นส่วนทั้งหมดและแผ่ขยายไปทั่วอาหาร ในแบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล โดยจะเยิ้มออกมาจากบริเวณด้านบนของชิ้นส่วนและรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหาร ชิ้นส่วนมีลักษณะด้านบนมีสีน้ำตาลซีดและด้านล่างมีสีน้ำตาลเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชิ้นส่วนอายุ 7 วัน

ผลของการเขย่าชิ้นส่วนใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ในรูปของสารละลายต่อการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 7 วัน พบว่า การเขย่าชิ้นส่วนใน benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 g/l ร่วมกับ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 300 mg/l มีผลต่อการปลอดเชื้อแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 2) โดยชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 1.0 g/l ร่วมกับ rifampicin 300 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 62.73% ส่วนชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 2.0 g/l ร่วมกับ rifampicin 150 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 100% โดยเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดภายใน 7 วันหลังจากวันที่ทำการทดลอง ส่วนชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 0.5 g/l ร่วมกับ rifampicin 150 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 93.75%, ชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 0.5 g/l ร่วมกับ rifampicin 300 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 91.67%, ชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 2.0 g/l ร่วมกับ rifampicin 300 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 85% และ ชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 1.0 g/l ร่วมกับ rifampicin 150 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 66.67% การปนเปื้อนเกิดจากแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาลรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหารและมีสีเขียวเยิ้มออกมาจากด้านบนและด้านข้างของชิ้นส่วนและแผ่ขยายลงไปบนอาหาร ในเชื้อรามีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมชิ้นส่วนทั้งหมดและแผ่ขยายไปทั่วอาหาร ชิ้นส่วนมีลักษณะด้านบนมีสีน้ำตาลซีดและด้านล่างมีสีน้ำตาลเข้ม

ชิ้นส่วนอายุ 10 วัน

ผลของการเขย่าชิ้นส่วนใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ในรูปของสารละลายต่อการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 10 วัน พบว่า การเขย่าชิ้นส่วนใน benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 g/l ร่วมกับ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 300 mg/l มีผลต่อการปลอดเชื้อแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 2) โดยทุกวิธีการเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดภายในวันที่ 10 ภายหลังจากวันที่ทำการทดลอง โดยที่ชิ้นส่วนที่เกิดการปนเปื้อนนี้มีการเจริญเติบโตในส่วนของใบและรากเกิดขึ้นในชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 0.5 g/l ร่วมกับ rifampicin 300 mg/l และ ชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลาย benomyl 1.0 g/l ร่วมกับ rifampicin 150 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่ 4.55% และ 8.34% ตามลำดับ การปนเปื้อนเกิดจากแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาลรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหารและมีสีเขียวเยิ้มออกมาจากด้านบนและด้านข้างของชิ้นส่วนและแผ่ขยายลงไปบนอาหาร ในเชื้อรามีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมชิ้นส่วนทั้งหมดและแผ่ขยายไปทั่วอาหาร ชิ้นส่วนมีลักษณะด้านบนมีสีน้ำตาลซีดและด้านล่างมีสีน้ำตาลเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ที่ความเข้มข้นต่างๆ

การเขย่าร่วมกันของ		% ชิ้นส่วนปนเปื้อน			
benomyl (g/l)	rifampicin (mg/l)	3 วัน	5 วัน	7 วัน	10 วัน
0.5	150	16.67±11.78	40.97±2.45	93.75±4.41ab	100±0.00
0.5	300	18.34±1.18	64.17±4.13	91.67±5.89ab	100±0.00
1.0	150	0.00±0.00	66.67±0.00	66.67±0.00b	100±0.00
1.0	300	0.00±0.00	49.09±21.86	62.73±12.22b	100±0.00
2.0	150	0.00±0.00	19.45±1.96	100.00±0.00a	100±0.00
2.0	300	0.00±0.00	40.00±0.00	85.00±3.34ab	100±0.00
F-test		ns	ns	*	ns
CV(%)		68.24	39.26	14.41	0.00

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>การทดลองที่ 2</u> การศึกษาผลของสารเคมีกำจัดโรคพืช (phytomycin และ oxytrep) ที่มีต่อการควบคุมการปนเปื้อน และการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์

การทดลองที่ 2.1 **การศึกษาผลของการเขย่าชิ้นส่วนในสารเคมีกำจัดโรคพืช (phytomycin) ในรูปของสารละลายที่มีต่อการควบคุมการปนเปื้อน และการเจริญเติบโตของบัวประดับ**

<u>ชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์</u>

ผลของการเขย่าชิ้นส่วนใน phytomycin ในรูปของสารละลายที่มีต่อการการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 1 สัปดาห์ พบว่า การเขย่าชิ้นส่วนใน phytomycin ความเข้มข้น 1 และ 2% เป็นระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีผลต่อการการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 3) โดยชิ้นส่วนที่เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 0% (ไม่มีการปนเปื้อน) ส่วนชิ้นส่วนที่เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง และ เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 50% และ ชิ้นส่วนที่เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 33.34% การปนเปื้อนของชิ้นส่วนเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมชิ้นส่วนทั้งหมดและแผ่ขยายไปทั่วอาหาร ในแบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล โดยจะเยิ้มออกมาจากบริเวณด้านบนของชิ้นส่วน และรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหาร

<u>ชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์</u>

ผลของการเขย่าชิ้นส่วนใน phytomycin ในรูปของสารละลายที่มีต่อการการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 2 สัปดาห์ พบว่า การเขย่าชิ้นส่วนใน phytomycin ความเข้มข้น 1 และ 2% เป็นระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีผลต่อการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 3) โดยชิ้นส่วนที่เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 16.67% ส่วนชิ้นส่วนที่เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง และเขย่าใน phytomycin เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 50% โดยที่ในสัปดาห์ที่ 2 นี้ มีการเจริญเติบโตของส่วนใบและรากเกิดขึ้นในชิ้นส่วนที่เขย่าใน phytomtcin เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง และ เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่ 16.67% บริเวณรอบๆโคนของชิ้นส่วนจะมีสีดำและมีการปล่อยสารสีน้ำตาลออกมาในอาหาร ทำให้ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตช้าลง โดยการปนเปื้อนทั้งหมดเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีแบคทีเรียเล็กน้อย ในเชื้อรามีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมทั่วชิ้นส่วน แบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล เกิดบริเวณด้านข้างของชิ้นส่วนและบริเวณรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชิ้นส่วนอายุ 3-4 สัปดาห์

ผลของการเขย่าชิ้นส่วนใน phytomycin ในรูปของสารละลายที่มีต่อการการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 3 สัปดาห์ พบว่า การเขย่าชิ้นส่วนใน phytomycin ความเข้มข้น 1 และ 2% เป็นระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีผลต่อการการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 3) โดยชิ้นส่วนที่เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 16.67% ส่วนชิ้นส่วนที่เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 66.67% ส่วนชิ้นส่วนที่เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง และ เขย่าใน phytomycin เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเท่ากันที่ 50% เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์ เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนไม่แตกต่างจากสัปดาห์ที่ 3 โดยที่ชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโตในสัปดาห์ที่ 2 นั้น ต่อมาได้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียขึ้น มีลักษณะสีเขียวเยิ้มออกมาจากด้านข้างของชิ้นส่วน แต่ชิ้นส่วนก็ยังสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ คือ สามารถงอกใบ ราก และยอดใหม่เกิดขึ้นได้ ส่วนชิ้นส่วนที่ไม่มีการปนเปื้อนนั้นก็ไม่มีการเจริญเติบโตของใบและรากเช่นกัน ยังคงเป็นชิ้นส่วนสีน้ำตาลซีดๆเหมือนเดิม ชิ้นส่วนเหล่านี้เป็นชิ้นส่วนที่ตายทั้งหมด (ภาพที่ 1) มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่ตายเท่ากับ 100% (ตารางที่ 4) ส่วนบริเวณรอบๆโคนของชิ้นส่วนจะมีสีดำและมีการปล่อยสารสีน้ำตาลลงในอาหาร

ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ

phytomycin		%ชิ้นส่วนปนเปื้อน(±SE)			
เข้มข้น (%)	เวลา (ชม.)	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
1	12	0.00±0.00	16.67±11.78	16.67±11.78	16.67±11.78
2	12	50.00±11.79	50.00±11.79	50.00±11.79	50.00±11.79
1	24	50.00±35.36	50.00±35.36	50.00±35.36	50.00±35.36
2	24	33.34±23.57	50.00±11.79	66.67±23.57	66.67±23.57
F-test		ns	ns	ns	ns
CV(%)		122.28	89.46	90.48	90.48

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายของชิ้นส่วนบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

phytomycin		% ชิ้นส่วนตาย
เข้มข้น (%)	เวลา (ชม.)	
1	12	100±0.00
2	12	100±0.00
1	24	100±0.00
2	24	100±0.00
F-test		ns
CV(%)		0.00

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะชิ้นส่วนตายที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ทุกวิธีการ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์ (กำลังขยาย 2.67X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2.2 การศึกษาผลของการเขย่าชิ้นส่วนในสารเคมีกำจัดโรคพืช (oxytrep) ในรูปของสารละลายที่มีต่อการควบคุมการปนเปื้อน และการเจริญเติบโตของบัวประดับ

ชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์

ผลของการเขย่าชิ้นส่วนใน oxytrep ในรูปของสารละลายที่มีต่อการการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 1 สัปดาห์ พบว่า การเขย่าชิ้นส่วนใน oxytrep ความเข้มข้น 1 และ 2% เป็นระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีผลต่อการการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 5) โดยชิ้นส่วนที่เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงและ เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 33.33% ส่วนชิ้นส่วนที่เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 100% โดยเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดภายใน 1 สัปดาห์ หลังจากวันที่ทำการทดลอง และชิ้นส่วนที่เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 66.67% การปนเปื้อนของชิ้นส่วนเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมชิ้นส่วนทั้งหมดและแผ่ขยายไปทั่วอาหาร ในแบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล โดยจะเยิ้มออกมาจากบริเวณด้านบนของชิ้นส่วนและรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหาร

ชิ้นส่วนอายุ 2-4 สัปดาห์

ผลของการเขย่าชิ้นส่วนใน oxytrep ในรูปของสารละลายที่มีต่อการการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบัวประดับเมื่ออายุ 2 สัปดาห์ พบว่า การเขย่าชิ้นส่วนใน oxytrep ความเข้มข้น 1 และ 2% เป็นระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีผลต่อการการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 5) โดยชิ้นส่วนที่เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงและ เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 50% ส่วนชิ้นส่วนที่เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 100% โดยเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดภายใน 1 สัปดาห์ หลังจากวันที่ทำการทดลอง และชิ้นส่วนที่เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 83.34% โดยที่ในสัปดาห์ที่ 2 นี้ มีการเจริญเติบโตของส่วนใบและรากเกิดขึ้น ในชิ้นส่วนที่เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 1% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง และ เขย่าใน oxytrep เข้มข้น 2% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่ 16.67% แต่ชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโตของใบและรากนี้ เกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย มีลักษณะสีเขียวเยิ้มออกมาจากด้านข้างของชิ้นส่วน แต่ชิ้นส่วนก็ยังสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ คือ สามารถงอกใบ ราก และยอดใหม่เกิดขึ้นได้ บริเวณรอบๆโคนของชิ้นส่วนจะมีสีดำและมีการปล่อยสารสีน้ำตาลออกมาในอาหาร ทำให้ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตช้าลง เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 และ 4 สัปดาห์ เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนไม่แตกต่างจากสัปดาห์ที่ 2 โดยชิ้นส่วนที่ไม่มีการปนเปื้อนนั้นก็ไม่มีการเจริญเติบโตของใบและรากเช่นกัน ยังคง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นชิ้นส่วนสีน้ำตาลซีดๆ เหมือนเดิม ชิ้นส่วนเหล่านี้เป็นชิ้นส่วนที่ตายทั้งหมด มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่ตายเท่ากับ 100% (ตารางที่ 6) ส่วนบริเวณรอบๆโคนของชิ้นส่วนจะมีสีดำ และมีการปล่อยสารสีน้ำตาลลงในอาหาร การปนเปื้อนของชิ้นส่วนเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมชิ้นส่วนทั้งหมดและแผ่ขยายไปทั่วอาหาร ในแบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล โดยจะเยิ้มออกมาจากบริเวณด้านบนของชิ้นส่วนและรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหาร

ตารางที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน oxytrep ด้วยวิธีการต่างๆ

oxytrep		%ชิ้นส่วนปนเปื้อน(±SE)			
เข้มข้น (%)	เวลา (ชม.)	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
1	12	66.67±23.57	83.34±11.78	83.34±11.78	83.34±11.78
2	12	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
1	24	33.33±0.00	50.00±11.79	50.00±11.79	50.00±11.79
2	24	33.33±0.00	50.00±11.79	50.00±11.79	50.00±11.79
F-test		ns	ns	ns	ns
CV(%)		34.06	28.82	28.82	28.82

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 6 แสดงเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายของชิ้นส่วนบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน oxytrep ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

Oxytrep		% ชิ้นส่วนตาย
เข้มข้น (%)	เวลา (ชม.)	
1	12	100±0.00
2	12	100±0.00
1	24	100±0.00
2	24	100±0.00
F-test		ns
CV(%)		0.00

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>การทดลองที่ 3</u> การศึกษาผลของสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีต่อการปลอดเชื้อ และการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์

1. การปนเปื้อนของชิ้นส่วน

<u>ชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์</u>

ผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อต่อการปลอดเชื้อของบัวประดับเมื่อชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 2 วิธี มีผลต่อการปลอดเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 7) โดยชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 0% (ไม่มีการปนเปื้อน) และชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 50% การปนเปื้อนของชิ้นส่วนเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมชิ้นส่วนทั้งหมดและแผ่ขยายไปทั่วอาหาร ในแบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล โดยจะเยิ้มออกมาจากบริเวณด้านบนของชิ้นส่วนและรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหาร

<u>ชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์</u>

ผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อต่อการปลอดเชื้อของบัวประดับเมื่อชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 2 วิธี มีผลต่อการปลอดเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) (ตารางที่ 7) โดยชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 0% (ไม่มีการปนเปื้อน) และชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 83.34% การปนเปื้อนของชิ้นส่วนเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุมชิ้นส่วนทั้งหมดและแผ่ขยายไปทั่วอาหาร ในแบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นปนสีน้ำตาล โดยจะเยิ้มออกมาจากบริเวณด้านบนของชิ้นส่วนและรอบๆชิ้นส่วนที่สัมผัสอาหาร

หลังจากชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์ จึงย้ายชิ้นส่วนไปยังอาหารสูตร 1/2 MS ร่วมกับ IAA 3 µM และ 2ip 10 µM ที่ไม่มีสารกำจัดเชื้อรา (benomyl) และสารปฏิชีวนะ (cefotaxime)

2. การเจริญเติบโตของชิ้นส่วน

หลังจากย้ายชิ้นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี benomyl และ cefotaxime เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 2 วิธี มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 8) โดยชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่ 50% แต่ชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 1 ไม่พบการเกิดยอด โดยลักษณะการเจริญเติบโตของยอด ใบ และก้านยืดยาวออกมา มีสีเขียวอ่อน ลักษณะของบริเวณโคนของชิ้นส่วนมีสีดำและมีการปล่อยสารสีน้ำตาลลงในอาหาร จึงทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ และตัดส่วนที่มีสีดำออก

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์ การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนมีการเปลี่ยนแปลงไปจากสัปดาห์ที่ 3 โดยเมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่ใช้วิธีฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 2 วิธี มีผลต่อการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของชิ้นส่วนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 8) โดยชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดลดลงที่ 33.34% ลักษณะของการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนนั้น มีจำนวนใบเกิดใหม่ ขนาดของใบ ความยาวของก้านใบ และจำนวนใบเพิ่มขึ้น มีลักษณะสีเขียวอ่อน บริเวณส่วนยอดตรงกลางมีเส้นใยขาวๆใสๆ เกิดขึ้นคล้ายกับปลายยอดของบัวประดับในสภาพธรรมชาติ และพบว่ามีชิ้นส่วนที่เกิดยอดบางส่วนเปลี่ยนจากสีเขียวกลายเป็นสีน้ำตาลทั้งชิ้นส่วนและตายลงในที่สุด ชิ้นส่วนที่ตายนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 9) โดยชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่ตายที่ 66.67% ลักษณะของบริเวณโคนของชิ้นส่วนมีสีดำ และมีการปล่อยสารสีน้ำตาลลงในอาหาร มีผลทำให้การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนช้าลงและตายในที่สุด

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 5-6 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่ใช้วิธีฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 2 วิธี มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 8) โดยชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดลดลงที่ 16.67% ลักษณะของการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนนั้นมีจำนวนใบเกิดใหม่ ขนาดของใบ ความยาวของก้านใบ และจำนวนใบเพิ่มขึ้น แต่ยังไม่มีรากเกิดขึ้น ขอบใบม้วนเล็กน้อย ปลายใบเกิดรอยไหม้สีน้ำตาลเล็กน้อย ใบและก้านมีลักษณะสีเขียวอ่อน บริเวณส่วนยอดตรงกลางมีเส้นใยขาวๆใสๆ เกิดขึ้นคล้ายกับปลายยอดของบัวประดับในสภาพธรรมชาติ (ภาพที่ 2) และพบว่ามีชิ้นส่วนที่เกิดยอดบางส่วนเปลี่ยนจากสีเขียวกลายเป็นสีน้ำตาลทั้งชิ้นส่วนและตายลงในที่สุด ชิ้นส่วนที่ตายนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 9) โดยชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่ตายที่ 83.34% ลักษณะของบริเวณโคนของชิ้นส่วนมีสีดำ และมีการปล่อยสารสีน้ำตาลลงในอาหาร มีผลทำให้การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนช้าลงและตายในที่สุด เมื่อชิ้นส่วนอายุ 6 สัปดาห์ ชิ้นส่วนไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างไปจากสัปดาห์ที่ 5 การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเป็นไปได้ตามปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการ	%ชิ้นส่วนปนเปื้อน(±SE)					
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6
วิธีการที่ 1	50.00±20.41	83.33±15.21	83.33±15.21	83.33±15.21	83.33±15.21	83.33±15.21
วิธีการที่ 2	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
t-test	*	**	**	**	**	**

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99%

ตารางที่ 8 แสดงเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการ	%ชิ้นส่วนที่เกิดยอด(±SE)			
	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6
วิธีการที่ 1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
วิธีการที่ 2	50.00±20.41	33.34±19.25	16.67±15.21	16.67±15.21
t-test	*	ns	ns	ns

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายของชิ้นส่วนบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการ	%ชิ้นส่วนตาย(±SE)			
	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6
วิธีการที่ 1	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
วิธีการที่ 2	50.00±20.41	66.67±19.25	83.33±15.21	83.33±15.21
t-test	*	ns	ns	ns

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

ภาพที่ 2. แสดงลักษณะชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโตที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการที่ 2 และเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2MS + IAA 3 µM + 2iP 10 µM เมื่อชิ้นส่วนอายุ 6 สัปดาห์ (กำลังขยาย 2.83X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 วิจารณ์ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของบัวประดับบนอาหารที่เติมสารกำจัดเชื้อรา (benomyl 50 mg/l) ร่วมกับสารปฏิชีวนะ (cefotaxime 100 mg/l และ rifampicin 25 mg/l) และการทดลองใช้สารกำจัดเชื้อรา (benomyl 0.5 1 และ 2 g/l) ร่วมกับสารปฏิชีวนะ (rifampicin 150 และ 300 mg/l) เขย่าในรูปสารละลายก่อนฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนนั้น พบว่าไม่มีความเข้มข้นใดที่เหมาะสมในการควบคุมการปนเปื้อนของชิ้นส่วน (ตารางที่ 1) (ตารางที่ 2) สาเหตุที่การฟอกฆ่าเชื้อไม่ได้ผลอาจเนื่องมาจากมีการสะสมของเชื้อซึ่งเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนอยู่มาก รวมถึงประสิทธิภาพความเข้มข้นและเวลาของสารกำจัดเชื้อราและสารปฏิชีวนะยังไม่เหมาะสมในการขจัดการปนเปื้อน ดังที่ธรรมศักดิ์ สมมาตย์ (2528) กล่าวว่า benomyl มีบทบาทในการกำจัดเชื้อราชั้น Ascomycetes แต่สารนี้ไม่สามารถใช้ได้ผลกับโรคที่เกิดจากเชื้อราชั้นต่ำ (ชั้น Phycomycetes) และโรคราน้ำค้างได้ และสายสมร ลำยอง (2524) กล่าวถึง cefotaxime ว่าจะมีผลต่อต้านแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ และต่อต้านเอ็นไซม์ penicilinase ของ staphylocci แต่ถูกทำลายโดยเอ็นไซม์ β -lactamases ที่สร้างโดยแบคทีเรียแกรมลบบางชนิด และ กล่าวถึง rifampicin ไว้ว่าเป็นสารปฏิชีวนะที่อยู่ในกลุ่มของ rifammycin สร้างขึ้นโดย *Streptomyces mediterranei* มีผลต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก *Mycobacterium tuberculosis* แต่มีผลน้อยกับแบคทีเรียแกรมลบ อาจส่งผลให้ rifampicin ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการกำจัดแบคทีเรียที่อยู่ในชิ้นส่วนบัวประดับได้ ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองของศราวุฒิ คิ้วเที่ยง (2544) ที่รายงานว่าการเพาะเลี้ยงปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนสะละในอาหารที่มี benomyl 50 mg/l ร่วมกับ cefotaxime 100 mg/l สามารถทำให้ชิ้นส่วนปลายยอดจากหน่อและใบอ่อนอยู่ในสภาพปลอดเชื้อดีที่สุด คือ 91.67% และ 88.89% ตามลำดับ และมีชิ้นส่วนที่สามารถเติบโตได้เท่ากับ 33.33% และ 66.67% ตามลำดับ และตามที่ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์ (2540) กล่าวว่า เทคนิคในการลดการปนเปื้อนภายในเนื้อเยื่อของพืชนั้นควรนำชิ้นพืชไปแช่ในสารปฏิชีวนะ 1 คืนก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อเพื่อแก้ปัญหาการปนเปื้อนของชิ้นส่วนพืชต่อไป

การทดลองใช้สารกำจัดโรคพืช (phytomycin และ oxytrep) เขย่าในรูปสารละลายก่อนฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วน พบว่า วิธีการที่เหมาะสมในการใช้ phytomycin และ oxytrep ความเข้มข้น 1 และ 2% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง เขย่าในรูปสารละลายก่อนฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วน คือ วิธีการที่เขย่าใน phytomycin 1% นาน 12 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 16.67% ส่วนวิธีการที่เขย่าใน oxytrep 1% นาน 24 ชั่วโมง และ วิธีการที่เขย่าใน oxytrep 2% นาน 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเท่ากันที่ 50% (ตารางที่ 3 และ 5) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของโศรดา หะลี (2542) ที่รายงานว่า การทดลองกำจัดแบคทีเรียที่ปนเปื้อนภายในต้นหน้าวัวพันธุ์ NAGAI ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำส่วนลำต้นหน้าวัวเขย่าในสารแคงเกอร์-เอ็กซ์ (a.i. :

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

streptomycin 20%, oxytetracyclin 2.5%, procaine penicillin G 2.5%) เข้มข้น 0 2 4 และ 8% นาน 30 นาที พบว่า สามารถกำจัดแบคทีเรียได้ 0 40 60 และ 60% ตามลำดับ แต่ภายหลังการกำจัดเชื้อ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของชิ้นส่วนพืชลดลง ถึงแม้ว่าในการทดลองนี้จะมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำ แต่ชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อที่เหลืออยู่ทั้งหมด ไม่พบการเจริญเติบโตซึ่งชิ้นส่วนเหล่านี้เป็นชิ้นส่วนที่ตายแล้วทั้งหมด (ตารางที่ 4 และ 6) จากการทดลองวิธีฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดของบัวประดับ พบว่าแหล่งกำเนิดของการปนเปื้อนเกิดขึ้นเนื่องจากลักษณะของปลายยอดบัวประดับประกอบด้วยซอกเล็กซอกน้อยจำนวนมาก จึงทำให้สารฟอกฆ่าเชื้อที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่สามารถควบคุมการปนเปื้อนได้ เช่นเดียวกับการทดลองของ ศราวุฒิ คิ้วเที่ยง (2544) ที่เพาะเลี้ยงปลายยอดสะละในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าผลการทดลองของทุกวิธีการฟอกฆ่าเชื้อไม่สามารถทำความสะอาดเชื้อที่อยู่ภายในกาบหุ้มของปลายยอดสะละได้ ดังนั้นการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวจึงควรพิจารณาใช้สารฟอกฆ่าเชื้อที่มีความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสม

เมื่อนำปลายยอดของบัวประดับมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ พบว่า วิธีการที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อจากการทดลอง คือ วิธีการที่ 2 ที่ใช้ ethanol 70% นาน 1 นาที + clorox 30% เติม tween20 2 หยด นาน 15 นาที + mercuric chloride 2% เติม tween20 2 หยด นาน 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที สามารถทำให้ปลายยอดของบัวประดับไม่พบการปนเปื้อนเกิดขึ้น มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 0% (ตารางที่ 7) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่ 16.67% (ตารางที่ 8) และเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายที่ 83.34% (ตารางที่ 9) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ กาญจนรี พงษ์ฉวีและคณะ (2542) ได้ทำการฟอกฆ่าเชื้อผมหอมที่ให้ผลดีที่สุด คือ การใช้ clorox 4% นาน 10 นาที และ mercuric chloride 2% นาน 10 นาที โดยชิ้นเนื้อเยื่อของผมหอมมีอัตราการรอดเฉลี่ยสูงถึง 90% และมีอัตราการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เพียง 10% และ การทดลองของ วันเพ็ญ มีนกาญจน์ (2547) ได้ทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดของบอนแดง คือ การใช้ sodium hypochlorite 4% นาน 15 นาที และตามด้วย mercuric chloride 2% นาน 10 นาที มีผลให้ชิ้นเนื้อเยื่อมีอัตราการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์เฉลี่ย 23.33±16.100% และมีอัตรารอด 90.00±16.100% ดังที่ ธรรมศักดิ์ สมมาตย์ (2528) กล่าวว่า mercuric chloride เป็นสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันและฆ่าเชื้อโรค มีการใช้เป็นยากำจัดเชื้อราในหญ้า และ ตามที่ประศาสตร์ เกื้อมณี (2536) กล่าวไว้ว่า มีการใช้ mercuric chloride ในการทำความสะอาดตัวอย่างเนื้อเยื่อที่จะนำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ปราศจากเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้ความเข้มข้นประมาณ 0.1-1.0% นาน 2-10 นาที แต่ในการทดลองนี้ พบว่า การใช้ mercuric chloride ความเข้มข้น 1% ไม่สามารถควบคุมการปนเปื้อนที่ติดอยู่ที่ผิวของเนื้อเยื่อให้หมดไปได้ จึงได้ทดลองเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2% พบว่า สามารถควบคุมการปนเปื้อนได้ทั้งหมด และ ได้ทดลองใช้ sodium hypochlorite หรือ clorox ดังที่ บุญยืน กิจวิจารณ์ (2540) กล่าวว่า สารฆ่าเชื้อควรเป็นสารที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถกำจัดออกได้ง่าย เนื่องจากสารนี้มีพิษอาจมีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อ สารบางชนิดแตกตัวและมีพิษน้อยและสามารถล้างออกได้ง่าย เช่น sodium hypochlorite จึงทดลองนำมาใช้แทน calcium hypochlorite ที่ใช้ในการทดลองที่ 1 และ 2 ซึ่งพบว่าชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในการทดลองที่ 1 และ 2 มีทั้งชิ้นส่วนที่เกิดการปนเปื้อนและชิ้นส่วนตาย อาจเป็นผลมาจากความเป็นพิษของสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีต่อกันและมีผลต่อการเจริญของชิ้นส่วน และตามที่รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ (2540) กล่าวว่า สารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อควรใช้หลายๆชนิดร่วมกัน จะให้ผลดีกว่าใช้เพียงชนิดเดียว และประสิทธิภาพของสารฟอกกำจัดเชื้อเหล่านี้เป็นผลมาจากการตอบสนองต่อ เวลา และปริมาณของสารที่ใช้ (time–dose response) โดยปกติประสิทธิภาพจะมากขึ้นถ้าใช้เวลาและความเข้มข้นของสารมากขึ้น

ในการทดลองนี้ถึงแม้ว่าจะสามารถควบคุมการปนเปื้อนได้แล้วแต่พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่ต่ำและมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายสูง ดังนั้นจึงต้องคำนึงถึงวิธีการที่เหมาะสมที่จะทำให้ชิ้นส่วนมีการเกิดยอดที่สูงขึ้นอาจจะใช้เทคนิคระหว่างการฟอกฆ่าเชื้อร่วมด้วย และนอกจากนี้ต้องศึกษาสูตรอาหาร ชนิด และปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งแตกต่างกันตามชนิดของพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการใส่สารกำจัดเชื้อรา (benomyl) ร่วมกับสารปฏิชีวนะ (cefotaxime และ rifampicin) ลงในอาหารเพาะเลี้ยง รวมถึงการใช้สารกำจัดเชื้อรา (benomyl) ร่วมกับสารปฏิชีวนะ (rifampicin) ในการเขย่าในรูปสารละลายก่อนการฟอกฆ่าเชื้อในความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ในทุกวิธีการยังไม่สามารถขจัดการปนเปื้อนในชิ้นส่วนปลายยอดของบัวประดับได้ ซึ่งในทุกวิธีการเกิดการปนเปื้อนทั้งหมด และการศึกษาการใช้สารกำจัดโรคพืช (phytomycin และ oxytrep) ในการเขย่าในรูปสารละลายก่อนการฟอกฆ่าเชื้อในความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ พบว่า วิธีการที่เขย่าใน phytomycin 1% นาน 1 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 16.67% และวิธีการที่เขย่าใน oxytrep 1%และ 2% นาน 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 50% แต่ชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อนี้เป็นชิ้นส่วนตาย ส่วนการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อทำความสะอาดชิ้นส่วนปลายยอดของบัวประดับ มี 2 วิธีการ คือ วิธีการที่ 1 ใช้ ethanol 70% นาน 1 นาที + clorox 30% เติม tween20 2 หยด นาน 15 นาที + mercuric chloride 1% เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที และวิธีการที่ 2 ใช้ ethanol 70% นาน 1 นาที + clorox 30% เติม tween20 2 หยด นาน 15 นาที + mercuric chloride 2% เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที และนำชิ้นส่วนไปเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS + IAA 3 µM + 2ip 10 µM + benomyl 50 mg\l + cefotaxime 100 mg\l พบว่า วิธีที่ดีที่สุดคือ การใช้ ethanol 70% นาน 1 นาที + clorox 30% เติม tween20 2 หยด นาน 15 นาที + mercuric chloride 2% เติม tween20 2 หยด นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที สามารถขจัดการปนเปื้อนที่ติดมากับชิ้นส่วนปลายยอดของบัวประดับได้ทั้งหมด โดยไม่พบการปนเปื้อนเลย และมีเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่เกิดยอดได้ที่ 16.67% ส่วนการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อเยื่อพบว่าเกิดขึ้นในทุกวิธีการของการทดลอง และพบว่าเป็นปัญหาที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวประดับในสภาพปลอดเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรรณิกา โพธิ์สามต้น และ วรัชฎา ขำเลิศ. 2541. "การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวสาย". โครงการวิจัย สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตพระนครศรีอยุธยา หันตรา, พระนครศรีอยุธยา.

กาญจนรี พงษ์ฉวี, พัฒนพงษ์ ชูแสง และ วิจารณ์ ทองมีเอียด. 2542. "การขยายพันธุ์ผมหอมโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ". เอกสารวิชาการฉบับที่ 3. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ จตุจักร, กรุงเทพฯ.

คุณา นนทพัฒน์. 2546. **การปลูกบัวประดับ**. กรุงเทพฯ : พี พี เวิลด์ มีเดีย จำกัด.

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

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2540. **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. ขอนแก่น : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

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

พัชรินทร์ แซ่ลิ้ม. 2537. "การใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อราสำหรับเลี้ยงเฉลิโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ".ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

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

วันเพ็ญ มีนกาญจน์. 2547. "การขยายพันธุ์บอนแดงโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ". **วารสารการประมง**. 52(2) : 148 -160.

ศราวุฒิ คิ้วเที่ยง. 2544. "การศึกษาการควบคุมการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสะละ" ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.กรุงเทพฯ.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. อุดรธานี : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสถาบันราชภัฏอุดรธานี.

โศรดา หะลี. 2542. "การใช้สารปฏิชีวนะเพื่อกำจัดแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัวพันธุ์ NAGAI" ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุปราณี วนิชชานนท์. 2540. **บัวประดับ.** กรุงเทพฯ : **เพื่อนเกษตร.**

เสริมลาภ วสุวัต. 2538. **บัวไม้ตัดดอก.** กรุงเทพฯ : **บ้านและสวน.**

โอฬาร สุวรรณศิริศิลป์. 2546. **"การควบคุมการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบานบุรีหอม". ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.**

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

Biasi, L.A., D.C. Carvalho., A.Andrade and F. Zanette. 1999. *In vitro* establishment of *Japanese persimmon* CV.Fuyu through shoot tip culture. Revista Brasileira de Fructicultura. 21 (3) : 279-283.

Ganesh, D.S. and H.L. Sreenath. 1999. Improved method of explant preparation for micropropagation of coffee through node culture. Journal of Plantation Crop. 27 : 31-38

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

Jenk M.A., M.E.Kane, F.Marousky, D.McConnell and T.Sheehan. 1990. In vitro establishment and epiphyllous plantlet regeneration of Nymphaea 'Daubeniana'. HortScience. 25 (12) : 1664.

Levin, R., R.Stav, Y.Alper and A.Watad. 1996. In vitro multiplication in liquid culture of Syngonium contaminated with Bacillus spp. and Rathayi bacter tritici. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 45 (3) : 277-280.

Leifert,C., H. Camotta and W. Waites. 1992. Effect of contamination of antibiotic on micropropagated Clematis, Delphinium, Hosta, Iris and Photinia. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 29 (2) : 153-160.

MacDonald, M. 1987. Sterilization of nerines using the twin scaling Technique. Combined Proceedings, International Plant Propagator's Society. 37 : 205-210

Peiris, S.E., B.C. Peiris, M.M. Muthuthanthirige and H.P. Gurasena. 1998. In vitro regeneration of satin wood (*Chloroxylon swietenia).* MPTS Research Network Faculty of Agriculture University of Peradeniya. Peradeniya. Sri Lanka.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 *Heliumthus tuberosus*. Plant Science Letters. 21 : 235-240.

Ramirez, V.M. and Y.E. Salazar. 1998. Method of disinfection and effect of cytokinins on in vitro culture of leaf segment of *Psidium guajava* L. Revista de la Facuttad de Agronomia. 15 (2) :162-173.

Reddy, K.R. and K.M. Reddy. 2003. Effect of surface sterilants on the survival of explant of four genotype of parwal. Journal of Research ANGRAU. 31 : 48-53.

Santana, J., R.Paiva, M.Aloufa and E.Lemos. 2003. Efficiency of ampicillin and benomyl at controlling contamination of Annonaceae leaf segment culture in vitro. Fruits Paris. 58 (6) : 357-361.

Wagih, M.E., G.H. Gordon, C.C. Ryan and S.W Adkins. 1995. Delopment of axillary bud culture technique for Fiji disease viws elimination in sugarcane. Australian Journal of Botany. 43 (1) : 135-143.

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 Letters. 34 : 203 - 209.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์ Murashige&Skoog (1962)

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณ(mg/l)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
KI	0.83
$MnSO_4.4H_2O$	22.3
H_3BO_3	6.2
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Na_2EDTA	37.3
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
Nicotinic acid	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Glycine	2.0
Myo-inositol	100
Pyridoxine-HCl	0.5
Sucrose	30,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 วัน (t-test procedure)

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error	Minimum	Maximum
1	6	16.67	40.82	16.67	0	100.00
2	6	0.00	0.00	0.00	0	0.00

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	1.00	5.0	0.3632
Equal	1.00	10.0	0.3409

NOTE: All values are the same for one CLASS level.

CV. = 331.67%

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin เมื่อชิ้นส่วนอายุ 5 วัน (t-test procedure)

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error	Minimum	Maximum
1	6	50.00	54.77	22.36	0	100.00
2	6	66.67	51.64	21.08	0	100.00

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	-0.5423	10.0	0.5995
Equal	-0.5423	10.0	0.5995

For H0: Variances are equal, F' = 1.12 DF = (5,5) Prob>F' = 0.9003

CV. = 84.52%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ cefotaxime และ rifampicin เมื่อชิ้นส่วนอายุ 7 วัน (t-test procedure)

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error	Minimum	Maximum
1	6	100.00	0	0	100.00	100.00
2	6	100.00	0	0	100.00	100.00

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	.	.	.
Equal	.	.	.

NOTE: All values are the same for one CLASS level.

CV. = 0.00%

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 วัน ($\sqrt{x+1}$ transformation)

Source	DF	SS	MS	F–test	F-table	
					F.05	F.01
Model	5	22.77	4.55	2.58^{ns}	4.39	8.75
Error	6	10.60	1.77			
Total	11	33.37				

Grand Mean = 1.95 CV. = 68.24%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 5 วัน

Source	DF	SS	MS	F – test	F-table	
					F.05	F.01
Model	5	3059.94	611.99	1.82^{ns}	4.39	8.75
Error	6	2018.49	336.41			
Total	11	5078.42				

Grand Mean = 46.72 CV. = 39.26%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 7 วัน

Source	DF	SS	MS	F –test	F-table	
					F.05	F.01
Model	5	2322.35	464.47	3.23*	4.39	8.75
Error	6	863.92	143.99			
Total	11	3186.27				

Grand Mean = 83.30 CV. = 14.41%

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 10 วัน (Arcsine Transformation)

Source	DF	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Model	5	0.00	0.00	0.00^{ns}	4.39	8.75
Error	6	0.00	0.00			
Total	11	0.00				

Grand Mean = 88.38 CV. = 0.00%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

Source	DF	SS	MS	F –test	F-table	
					F.05	F.01
Model	3	2517.38	839.13	0.63^{ns}	6.59	16.7
Error	4	5366.09	1341.52			
Total	7	7883.48				

Grand Mean = 29.95 CV. = 122.28%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

Source	DF	SS	MS	F –test	F-table	
					F.05	F.01
Model	3	1058.95	352.98	0.30^{ns}	6.59	16.7
Error	4	4709.83	1177.46			
Total	7	5768.78				

Grand Mean = 38.36 CV. = 89.46%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3-4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

Source	DF	SS	MS	F –test	F-table	
					F.05	F.01
Model	3	1929.45	643.15	0.43^{ns}	6.59	16.7
Error	4	5931.25	1482.81			
Total	7	7860.699				

Grand Mean = 42.56 CV. = 90.48%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายของปลายยอดบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน phytomycin ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

Source	DF	SS	MS	F –test	F-table	
					F.05	F.01
Model	3	0.00	0.00	0.00^{ns}	6.59	16.7
Error	4	0.00	0.00			
Total	7	0.00				

Grand Mean = 88.38 CV. = 0.00%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน oxytrep ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

Source	DF	SS	MS	F –test	F-table	
					F.05	F.01
Model	3	3882.81	1294.27	3.672^{ns}	6.59	16.7
Error	4	1411.93	352.98			
Total	7	5294.74				

Grand Mean = 55.17 CV. = 34.06%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน oxytrep ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 2-4 สัปดาห์

Source	DF	SS	MS	F –test	F-table	
					F.05	F.01
Model	3	3750.67	1250.22	3.00^{ns}	6.59	16.7
Error	4	1666.67	416.67			
Total	7	5417.33				

Grand Mean = 70.83 CV. = 28.82%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตายของปลายยอดบัวประดับที่ผ่านการเขย่าใน oxytrep ด้วยวิธีการต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

Source	DF	SS	MS	F –test	F-table	
					F.05	F.01
Model	3	0.00	0.00	0.00^{ns}	6.59	16.7
Error	4	0.00	0.00			
Total	7	0.00				

Grand Mean = 88.38 CV. = 0.00%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 1 สัปดาห์

(t-test procedure)

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error	Minimum	Maximum
1	6	50.00	54.77	22.36	0	100.00
2	6	0.00	0.00	0.00	0	0.00

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	2.2361	5.0	0.0756
Equal	2.2361	10.0	0.0493

NOTE: All values are the same for one CLASS level.

CV. = 173.21%

ตารางที่ 17 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของปลายยอดบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 2-6 สัปดาห์

(t-test procedure)

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error	Minimum	Maximum
1	6	83.33	40.82	16.67	0	100.00
2	6	0.00	0.00	0.00	0	0.00

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	5.0000	5.0	0.0041
Equal	5.0000	10.0	0.0005

NOTE: All values are the same for one CLASS level.

CV. = 118.32%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 18 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของปลายยอดบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์

(t-test procedure)

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error	Minimum	Maximum
1	6	0.00	0.00	0.00	0	0.00
2	6	50.00	54.77	22.36	0	100.00

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	-2.2361	5.0	0.0756
Equal	-2.2361	10.0	0.0493

NOTE: All values are the same for one CLASS level.

CV. = 173.21%

ตารางที่ 19 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของปลายยอดบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์

(t-test procedure)

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error	Minimum	Maximum
1	6	0.00	0.00	0.00	0	0.00
2	6	33.33	51.64	21.08	0	100.00

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	-1.5811	5.0	0.1747
Equal	-1.5811	10.0	0.1449

NOTE: All values are the same for one CLASS level.

CV. = 223.61%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 20 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของปลายยอดบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 5-6 สัปดาห์

(t-test procedure)

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error	Minimum	Maximum
1	6	0.00	0.00	0.00	0	0.00
2	6	16.67	40.82	16.67	0	100.00

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	-1.0000	5.0	0.3632
Equal	-1.0000	10.0	0.3409

NOTE: All values are the same for one CLASS level.

CV. = 331.67%

ตารางที่ 21 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่ตายของปลายยอดบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์

(t-test procedure)

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error	Minimum	Maximum
1	6	100.00	0.00	0.00	100.00	100.00
2	6	50.00	54.77	22.36	0.00	100.00

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	2.2361	5.0	0.0756
Equal	2.2361	10.0	0.0493

NOTE: All values are the same for one CLASS level.

CV. = 57.74%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 22 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่ตายของปลายยอดบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์

(t-test procedure)

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error	Minimum	Maximum
1	6	100.00	0.00	0.00	100.00	100.00
2	6	66.67	51.64	21.08	0.00	100.00

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	1.5811	5.0	0.1747
Equal	1.5811	10.0	0.1449

NOTE: All values are the same for one CLASS level.

CV. = 44.72%

ตารางที่ 23 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนที่ตายของปลายยอดบัวประดับที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 5-6 สัปดาห์

(t-test procedure)

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error	Minimum	Maximum
1	6	100.00	0.00	0.00	100.00	100.00
2	6	83.33	40.82	16.67	0.00	100.00

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	1.0000	5.0	0.3632
Equal	1.0000	10.0	0.3409

NOTE: All values are the same for one CLASS level.

CV. = 30.15%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้