ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

การควบคุมการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบานบุรีหอม

Control of Contamination for Tissue Culture of *Odontadenia speciosa*

โดย
นายโอฬาร สุวรรณศิริศิลป์

ได้รับความเห็นชอบจาก

....
(ผศ.ดร. สุเม อรัญนารถ)
อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

....
(รศ.สมภพ ฐิตะวสันต์)
หัวหน้าภาควิชาพืชสวน
วันที่.....25.....เดือน.......พ.ศ.....46....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ
ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

การควบคุมการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบานบุรีหอม
Control of Contamination for Tissue Culture of *Odontadenia speciosa*

โดย
นายโอฬาร สุวรรณศิริศิลป์

อาจารย์ที่ปรึกษา
ผศ.ดร.สุเม อรัญนารถ

เสนอ
ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2546

ปพ.
อ991ก
2546
ลขหมู่..........
ลขทะเบียน 51308
วัน,เดือน,ปี - 8 ก.ค. 2547
b. 11396 จน X
i. ....
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง การควบคุมการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบานบุรีหอม

ชื่อนักศึกษา นาย โอฬาร สุวรรณศิริศิลป์

รหัสประจำตัว 44045134

สาขา เทคโนโลยีการผลิตพืช ภาควิชา พืชสวน

คณะ เทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. สุเม อรัญนารถ

บทคัดย่อ

ศึกษาการใช้สูตรฟอกฆ่าเชื้อเพื่อขจัดการปนเปื้อน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบานบุรีหอมในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนตาข้างมาฟอกฆ่าเชื้อ จากการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อโดยทำความสะอาดชิ้นส่วนตาข้างบานบุรีหอม มี 4 วิธีการ คือ วิธีการที่ 1 ใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที + clorox 30 % + tween 20 2-3 หยด นาน 20 นาที+ clorox 20 % + tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที ,วิธีการที่ 2 ใช้ ethanol 70 % นาน 1 นาที+ clorox 20 % + tween 20 2-3 หยด นาน 20 นาที+ clorox 10 % + tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที , วิธีการที่ 3 ethanol 70 % นาน 1 นาที+ $HgCl_2$ 0.5 % +tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที , วิธีการที่ 4 ethanol 70 % นาน 1 นาที+ $HgCl_2$ 0.1% + tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที+ $Ca(OCl_2)$ 10 % + tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที+ $Ca(OCl_2)$ 5 % + tween 20 2-3 หยด นาน 20 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที และนำชิ้นส่วนไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) และการศึกษาการใช้สารกำจัดเชื้อราโดยการฉีดพ่น และการเขย่าในรูปสารละลาย รวมถึงการใช้สารปฏิชีวนะเขย่าร่วมด้วยไม่ส่งผลดีต่อการขจัดการปนเปื้อนในตาข้างบานบุรีหอมได้ สำหรับการศึกษาการเพาะเลี้ยงตาข้างบานบุรีหอมในอาหารสูตร WPM(Lloyd & McCown)(1981) ที่มีสารปฏิชีวนะและสารกำจัดเชื้อรา พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนในอาหารที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l สามารถทำให้ชิ้นส่วนอยู่ในสภาพปลอดเชื้อและเจริญเติบโตได้ที่ 55.56 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title : Control of Contamination for Tissue Culture of *Odontadenia speciosa*

By : Oran Suwansirisin

Department : Horticulture

Faculty : Horticulture

Advisor : Assist Prof.Dr.Sumay Aranyanart

Abstract

Methods of surface sterilization for tissue culture of *Odontadenia speciosa* were studied. Axillary buds were steriled with 4 treatments of the following methods, treatment 1:soaked in 70 % ethanol for 1 minute shaken in 30 % clorox + tween 20 2-3 drops for 20 minutes follwed by agitating in 20 % clorox + tween 20 2-3 drops for 10 minutes , treatment 2 : soaked in 70 % ethanol for 1 minute ,shaken in 20 % clorox + tween 20 2-3 drops for 20 minutes followed by agitating in 10 % clorox + tween 20 2-3 drops for 10 minutes , treatment 3 : soaked in 70 % ethanol for 1 minute shaken in 0.5 % mercuric chloride + tween 20 2-3 drops for 10 minutes and treatment 4 :soaked in 70 % ethanol for 1 minute shaken in mercuric chloride + tween 20 2-3 drops for 10 minutes followed by agitating in 10 % calcium hypochlorite + tween 20 2-3 drops for 10 minutes and 5 % calcium hypochlorite + tween 20 2-3 drops for 20 minutes and each method then rinsed three time in sterile distilled water. Excised axillary buds were cultured on MS (1962) medium. The explants were also sprayed or shaken with benomyl or rifampicin before culturing. The contamination of explants still expressed. However , The non-infected explants (about 55.56%) were achieved when cultured the axillary buds on WPM(Lloyd & McCown) (1981) medium containing 2 mg/l benomyl and 25 mg/l rifampicin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเม อรัญนารถ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำตลอดจนแก้ไขปัญหาและอุปสรรค์ต่าง ๆ อีกทั้งยังช่วยแก้ไขปัญหาพิเศษเล่มนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณ วรุณี ปัณฑิตานนท์ ที่กรุณาเรื่องชิ้นส่วนของบานบุรีหอมที่นำมาเพาะเลี้ยงในปัญหาพิเศษเล่มนี้

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ คุณแม่ อากู๋ พี่ชาย พี่ ๆ และเพื่อน ๆ ที่คอยกรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจ และขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งเป็นสถานศึกษาและปฏิบัติงานในการทำปัญหาพิเศษเล่มนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

นายโอพาร สุวรรณศิริศิลป์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	ก
สารบัญภาคผนวก	ข
สารบัญภาพ	ค
คำย่อที่ใช้ในรายงานนี้	ง
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	7
ผลการทดลอง	13
วิจารณ์การทดลอง	24
สรุปผลการทดลอง	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	29

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบานบุรีหอมที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ 19

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบานบุรีหอมที่ผ่านการฉีดพ่นและการเขย่าสารกำจัดเชื้อราด้วยวิธีการต่าง ๆ.................................... 20

ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบานบุรีหอมที่ผ่านการเขย่าสารกำจัดเชื้อราร่วมกับสารปฏิชีวนะด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 วัน....... 21

ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบานบุรีหอมที่บนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 1 และ 2 สัปดาห์...........................21

ตารางที่ 5 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบานบุรีหอมเมื่อย้ายลงอาหาร WPM ที่ไม่มี benomyl และ rifampicin เมื่ออายุ 3-6 สัปดาห์....................22

ตารางที่ 6 แสดงเปอร์เซนต์การปนเปื้อนเมื่อชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์ , เปอร์เซ็นต์การตาย และเปอร์เซนต์การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่อายุ 3-6 สัปดาห์ 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาคผนวก

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 1	สูตรอาหาร Murashige & Skoog (1962)	30
ตารางที่ 2	สูตรอาหาร Woody Plant Medium (1981)	31
ตารางที่ 3	การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 3 วัน	32
ตารางที่ 4	การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 5 วัน	32
ตารางที่ 5	การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 7 วัน	33
ตารางที่ 6	การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฉีดพ่นและเขย่าในสารกำจัดเชื้อราด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 3 วัน	33
ตารางที่ 7	การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฉีดพ่นและเขย่าในสารกำจัดเชื้อราด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 5 วัน	34
ตารางที่ 8	การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฉีดพ่นและเขย่าในสารกำจัดเชื้อราด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 7 วัน	34
ตารางที่ 9	การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการเขย่าในสารกำจัดเชื้อรา benomyl และสารปฏิชีวนะ rifampicinวิธีต่างๆ เมื่ออายุ 3 วัน	35
ตารางที่ 10	การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 1 สัปดาห์	36
ตารางที่ 11	การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 2 สัปดาห์	36
ตารางที่ 12	การวิเคราะห์ทางสถิติที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 3 สัปดาห์	37
ตารางที่ 13	การวิเคราะห์ทางสถิติที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 4 สัปดาห์	37
ตารางที่ 14	การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซนต์การตายของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 4 สัปดาห์	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ทางสถิติที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 5 สัปดาห์.....38

ตารางที่ 16 การวิเคราะห์ทางสถิติที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....39

ตารางที่ 17 การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซนต์การเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 6 สัปดาห์.....39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

ภาพที่ 1 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM ที่มี NAA 1 mg/l และ BAP 5 mg/l และเคยเลี้ยงใน benomyl ร่วมกับ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 6 สัปดาห์........12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อและสัญลักษณ์

BAP	6- benzyldadenine or –benzylaminopurine
NAA	α- napthalene acetic acid
MS	Murashige & Skoog
WPM	Woody Plant Medium
cm.	เซนติเมตร
g/l	กรัมต่อลิตร
mg/l	มิลลิกรัมต่อลิตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

บานบุรีหอม หรือบานบุรีแสด เป็นพืชในตระกูล Apocynaceae เป็นไม้ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในอเมริกาใต้ มีลักษณะเด่นได้แก่ สีดอกที่แปลกตา มีกลิ่นหอม และมีช่อดอกที่สวยงาม ซึ่งนำไปปลูกเป็นพันธ์ไม้ประดับประเภท garden landscape โดยทำเป็นซุ้มเรือนไม้ประดับได้เป็นอย่างดี (วิทย์,2536)

การขยายพันธุ์บานบุรีหอมมี 2 วิธีคือ การตอนและการปักชำ (วิทย์,2536) ซึ่งการขยายพันธุ์ทั้ง 2 วิธียังมีเปอร์เซนต์การเกิดรากที่ต่ำ พันธุ์ไม้ดังกล่าวจึงไม่เป็นที่แพร่หลายมากนักเนื่องจากอุปสรรค์ดังกล่าว จึงมีความคิดที่จะขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้ได้ต้นปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็วซึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นจะประสพความสำเร็จหรือไม่ คือการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเริ่มต้น ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาถึงวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการขจัดการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเริ่มต้น และศึกษาถึงผลของการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบานบุรีหอมหลังจากการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อใช้เป็นแนวทางในการขยายพันธุ์บานบุรีหอมด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

บานบุรีหอม

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Odontadenia speciosa*

วงศ์ : APOCYNACEAE

ชื่อสามัญ : Mandevilla speciosa

บานบุรีหอม มีถิ่นกำเนิดในแถบอเมริกาใต้ มีอยู่ประมาณ 1,500 ชนิด (Franes.1972)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น บานบุรีหอมเป็นพรรณไม้เถา จะเลื้อยเถายาวเกี่ยวเกาะพันไม้พุ่มและพุ่มไม้ใหญ่ ๆ

ใบ ลักษณะของใบมนรี ปลายใบแหลม โคนใบมน ขอบใบเรียบ ใบเป็นสีเขียว

ดอก ลักษณะของดอกเป็นดอกช่อ อยู่ตามปลายกิ่งของต้น ช่อ ๆ หนึ่งมีดอกอยู่ประมาณ 5-8 ดอก จะทยอยออก ดอกมีสีเหลืองแสด โคนดอกมีลักษณะเป็นหลอด แฉกกลีบเวียนคล้ายกงจักร มีจุดริ้วสีส้ม ป้ายโคนดอกกลีบ ดอกบานเต็มที่ประมาณ 2-3 นิ้ว ดอกจะมีกลิ่นหอม (วิทย์.2536)

การขจัดสิ่งปนเปื้อน (Disinfection หรือ disinfestation)

ในการแยกเนื้อเยื่อพืชมาเลี้ยง กระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญและขาดไม่ได้ คือ การขจัดสิ่งปนเปื้อนโดยเทคนิค disinfection หรือ disinfestation เพื่อขจัดสิ่งสกปรกและเชื้อจุลินทรีย์ออกจากผิวของเนื้อเยื่อ (รังสฤษดิ์ .2540) เนื่องมาจากในสภาพธรรมชาติส่วนต่าง ๆ ของพืชมีเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ติดอยู่ ไม่ว่าจะเป็นเชื้อรา หรือ แบคทีเรีย อันเป็นตัวการสำคัญของการปนเปื้อน (contamination) ในอาหารเพาะเลี้ยง เพราะเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และจะทำให้อาหารเน่าเสียอย่างรวดเร็ว ชิ้นส่วนพืชก็จะเน่าตายไปด้วย (ประศาสตร์.2536) สำหรับการขจัดสิ่งปนเปื้อนที่อาจติดมากับชิ้นส่วนพืชมีจุดมุ่งหมายสำคัญ 2 ประการคือ

1.ขจัดหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ไม่ให้มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จนทำให้เกิดความเสียหายแก่เนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยงได้

2.เพื่อลดผลของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อความเป็นกรดและด่าง (pH) การเคลื่อนย้ายธาตุอาหารและสารกระตุ้นการเจริญเติบโตจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง และการปลดปล่อยสารต่าง ๆ ที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการทางชีวเคมีของสิ่งมีชีวิต (metabolic by products) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อน (รังสฤษดิ์.2540)

ปัจจุบันมีสารเคมีหลายชนิดและวิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อของตัวอย่างพืช ให้มีความปลอดเชื้อ ซึ่งผู้ทำการเพาะเลี้ยงต้องใช้ดุลยพินิจในการเลือกใช้ให้เกิดความเหมาะสมกับเนื้อเยื่อพืช และประสิทธิภาพที่จะได้รับ สารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อมีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. แอลกอฮอล์ (alocohol) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 70-95 เปอร์เซนต์ เวลาที่ใช้ประมาณ 2-5 นาที ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีมาก

2. คลอรอกซ์ (clorox) เป็นน้ำยาที่ใช้กันทั่วไปตามบ้านเรือน ที่จริงแล้วคือสารละลายที่มีส่วนผสมของโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 5.25 w/w ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 5-20 นาที ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีมาก

3. เมอคิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ0.1-1.0 เปอร์เซนต์เวลาที่ใช้ประมาณ 2-10 นาที ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีพอสมควร

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

ประสิทธิภาพของสารฟอกกำจัดเชื้อเหล่านี้เป็นผลมาจากการตอบสนองต่อเวลาและปริมาณของสารที่ใช้ (time-dose response) โดยปกติประสิทธิภาพจะสูงขึ้นถ้าใช้เวลาและความเข้มข้นของสารมากขึ้น แต่ถ้าใช้มากเกินไปอาจทำอันตรายต่อความมีชีวิตของเซลล์เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะของพืชได้ จึงต้องทดสอบหาปริมาณที่เหมาะสมก่อน (รังสฤษดิ์ .2540)

สารกำจัดเชื้อรา (fungicide)

Benomyl เป็นสารกำจัดเชื้อราอยู่ในกลุ่ม Benzimdazole ซึ่งเป็นยากำจัดเชื้อราประเภทดูดซึม (systemic fungicides) พิษของ Benomyl กว้างโดยเฉพาะใช้กับโรคทางใบ ราก และหัว เชื้อสาเหตุ คือเชื้อในดิน (soil borne) และพบว่า Benomyl จะมีพิษเมื่อละลายน้ำ (ธรรมศักดิ์.2538)

สารปฏิชีวนะ (Antibiotic)

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

rifampicin อยู่ในกลุ่มของ rifamycin ซึ่งเป็นสารปฏิชีวนะที่สร้างขึ้นโดย *Streptomyces mediterranei* สารกลุ่มนี้จะมีผลต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก (Gram+) และ *Mycobacterium tuberculosis* แต่มีผลน้อยกับแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-) สำหรับ rifampicin เป็นสารในกลุ่มกึ่งสังเคราะห์ธรรมชาติ สำหรับผลที่มีต่อแบคทีเรียนั้น เกี่ยวข้องเฉพาะกับการยับยั้งการสังเคราะห์ RNA โดยจะจับและยับยั้งเอนไซม์ DNA dependent RNA Polymerase ของแบคทีเรียที่ไวต่อสารนี้ (สายสมร.2524) ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ 15 μg/ml จะเป็นอันตราย (Toxic) ต่อพวก microbes และจะเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช (Phytotoxic) ที่ระดับความเข้มข้น 25 μg/ml สารที่ใช้เป็นตัวทำละลาย Rifampicin คือ Ethanol และ Chloroform (Anonymous.1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Handro *et al.* (1988) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเพิ่มจำนวนของ *Mandevilla velutina* จากต้นพันธุ์ในธรรมชาติ โดยการเพาะเลี้ยงจาก ใบ ลำต้น และราก ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร LS (1965) โดยใส่ 2,4-D หรือ NAA อัตรา (0.005-0.5mg/l)หรือ IAA อัตรา (0.1-1.0mg/l)ร่วมกับ BAP ในอัตรา (0.5-5 mg/l) ในช่วงหลังจากเปลี่ยนอาหารซึ่งชักนำให้เกิดแคลลัสเป็นเวลา 18 เดือนปรากฏว่าแคลลัสที่ย้ายไปยังอาหารที่มี BAP 5.0 mg/l ร่วมกับ NAA 0.1 mg/l ให้ผลการทดลองที่ดีคือ แคลลัสสามารถพัฒนาเป็นยอดได้

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

พิมล (2538) พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดและใบของกฤษณา โดยการใช้สารละลาย mercuric chloride ความเข้มข้น 0.5 % เติม tween 20 2-3 หยด เป็นเวลา 10 นาที สามารถลดเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วย clorox ระดับความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งการฟอกฆ่าเชื้อด้วย clorox ยังมีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนที่สูง

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

สมภาคและคณะ (2537) ได้ศึกษาเกี่ยวกับสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพบางชนิด กล่าวถึง Benomyl สามารถป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช สำคัญบางชนิดได้ถึง 16 เชื้อ ได้แก่ *Acrocylindrium oryze* , *Cercospora arachidicola* , *C. canesens* , *C. henningsii* , *Cercosporidium personatum* , *Ceratocystis paradosa* , *Colletotrichum gloesporioiles* , *Corynespora cassicola* ,*Fusarium moniliforme* , *Helminthosporium oryzae* , *Nigrospora sp.* , *Oidium sp.* , *Phyllaactinia corylea* , *Pyricularia oryzae* , *Rhyzoctonia solani* และ *Thanatephorus cacumeris*

Seneviratne *et al.* (1995) ได้ศึกษาปัญหาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดต้น *Hevea* ประสพปัญหาชิ้นส่วนเริ่มต้นจากแหล่งเพาะปลูกมีจำนวนน้อยมาก มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์สูง และผลิตสาร Phenol ร่วมอยู่ด้วยจึงทำการปลูกในโรงเรือนและฉีดพ่น Benomyl เข้มข้น 1 % เพื่อลดการปนเปื้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากเชื้อราร่วมกับการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนด้วย ethanol 70 % เป็นเวลา 1 นาที clorox 5,10,15และ20 % ในเวลา 5,10,15และ20 นาทีหรือกับ $HgCl_2$ เข้มข้น 0.1-0.2 % ในเวลา 5,10 นาที โดยผลการทดลองที่ดีที่สุดใช้ $HgCl_2$ เข้มข้น 0.2 % เวลา 10 นาที สามารถลดสัดส่วนการปนเปื้อนได้ 20 % และเกิดชิ้นส่วนสีน้ำตาลเพียง 10 %

Biasi *et al.*(1999) ได้ทำการศึกษาสภาพปลอดเชื้อที่ดีของปลายยอด Japanese persimmon CV. Fuyu โดยส่วนปลายยอดเตรียมโดยแช่ใน Benomyl 2 g/l เวลา 16 ชั่วโมง ก่อนทำการฟอกชิ้นส่วนและเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ MSที่มีความเข้มข้นเพียงครึ่งหนึ่งหรือMSที่มี NO_3ที่ความเข้มข้นเพียงครึ่งหนึ่ง ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตได้แก่ BAP 0,5,10,20 และ30μM IBA 0,0.5และ 1.0μM หรือ PVP(polyvinyl) 0,10,20 g/l ผลที่ดีที่สุดในอาหารสูตร MSที่มี NO_3ที่ความเข้มข้นเพียงครึ่งหนึ่งของความเข้มข้นปกติร่วมกับBA เข้มข้น 20μMกว่า 90 % ชิ้นส่วนปลอดเชื้อและมากกว่า 50 % สามารถพัฒนาเป็นยอดได้

Shierd *et al.* (1984) การทดสอบความสามารถของยากำจัดเชื้อราในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า Benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/l ในอาหารสูตร MS + Sucrose 3 % หลังจากการสังเกตุเป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ พบว่า Benomyl มีคุณสมบัติในการกำจัดเชื้อราในกลุ่มของ Penicilum (monoverticillate) , Paceilomyces , Actinomyces , Dematiaceous , Mycelia , Unidentified sporulating fungi และ Ascomycete และพบว่า Benomyl ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบ (*Nicotiana tabacum*) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำในอาหารแข็งสูตร MS+sucrose+ BAP 0.5 mg/l + วุ้น 0.9 % จะกระตุ้นการเกิดแคลลัสและในอาหารเหลวสูตร MS + sucrose 3 % จะยับยั้งการเกิดราก

Young *et al.* (1984) ได้ทดลองแยกแบคทีเรียที่ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงโดยการใช้สารปฏิชีวนะเพื่อขจัดเชื้อแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดของไม้เนื้อแข็ง 13 พันธุ์ พบว่าส่วนใหญ่แบคทีเรียที่ได้จะเป็นแกรมลบ และยังพบว่าการใช้สารปฏิชีวนะเพียงชนิดเดียวไม่มีประสิทธิภาพพอที่จะต่อต้านแบคทีเรียได้ แต่มีสารปฏิชีวนะบางตัวที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแบคทีเรียครอบคลุมกว่าชนิดอื่น ๆ คือ rifampicin และ tetracyclin

Phillips *et al.* (1981) การใช้สารปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดอกทานตะวัน (*Helianthus tuberosus*) พบว่าการใช้ Rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 50 μg/ml เป็นเวลานาน 24 , 48 และ 72 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพเพียงพอในการควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยไม่มีผลข้างเคียงต่อการแบ่งเซลล์และการสังเคราะห์ DNA

Peiris *et al.* (1998) การเพิ่มจำนวนในสภาพปลอดเชื้อของ Satin wood (*Chlorxylon swietenia*) โดยใช้ตาข้างโดยขั้นตอนแรกทำการเขย่าชิ้นส่วนในสารละลาย Benomyl ร่วมกับ streptomycin ที่ 600 mga/l ประมาณ 15 ชั่วโมง ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS โดยใส่ macro และ micro เพียงครึ่งหนึ่ง และมี Benlate เข้มข้น 250 mg/l และ streptomycin เข้มข้น 300 mg/l ซึ่งวิธีนี้ทำให้เปอร์เซนต์ปลอดเชื้อที่ 48 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Haldeman *et al.* (1987) พบว่าการใช้สารกำจัดเชื้อรา (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 จะสามารถลดการติดเชื้อได้ โดยไม่มีผลข้างเคียงที่เป็นพิษ

Ramirez *et al.* (1998) ได้ศึกษาวิธีการฆ่าเชื้อและผลกระทบของไซโตไคนิน ของใบ Psidium guajava L. ในสภาพปลอดเชื้อโดยนำชิ้นส่วนมาเขย่าในสารละลาย Benomyl ที่ละลายโดย ethyl alcohol ร่วมกับ rifampicin ที่ความเข้มข้น 14 g/l และ 300 mg/l ตามลำดับ โดยสูตรฟอกที่ดีที่สุดทำการฟอกฆ่าชิ้นส่วนโดย ethanol 70 % เป็นเวลา 1 นาที calcium hypoclorite 10 % เป็นเวลา 15 นาทีและจึงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี ไซโตไคนินหลาย ๆ ชนิดที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

Sowik *et al.* (2000) ได้ศึกษาวิธีการกำจัดแบคทีเรียจากการเพาะเลี้ยงสตอเบอรี่ในสภาพปลอดเชื้อโดยการประยุกต์ใช้ nystatin และ Benomyl เพื่อทำลาย Verticillium dahliac ภายหลังการคัดเลือก Somaclonal Variants โดยใช้ Benlate 50 WP 2-10 mg/l สามารถขัดขวางการเจริญและพัฒนาของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ในการทดลอง Rifampicin มีผลกระทบต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดี ในรายงานการใช้ Antibiotic เดี่ยว ๆ จำเป็นต่อการทำลายการปนเปื้อนจาก Bacteria ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์

1.1 เครื่องมือที่ใช้ในตู้ Laminar flow : ปากคีบ มีดผ่าตัด จานแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์ ขวดแช่เครื่องมือ บีกเกอร์ flask และ filter

1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร: หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง เตาแก๊ส เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่นกระบอกตวง บีกเกอร์ ปิเปตต์ แท่งแก้วคนสาร และขวดแก้วขนาดเล็กพร้อมฝาปิด

1.3 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

สารเคมีในสูตรอาหาร Murashige & Skoog (1962) และ Woody Plant Medium (WPM)

(Lloyd & McCown) (1981)

NAA (α- napthalene acetic acid)

BAP (6- benzyldadenine or –benzylaminopurine)

สารปฏิชีวนะ

Rifampicin

สารกำจัดเชื้อรา

Benlate (เป็นชื่อทางการค้าประกอบด้วย benomyl 50% W/W)

สารปรับความเป็นกรด-ด่าง

NaOH 1 N

HCl 1 N

สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ

Ethanol 70 %

Mercuric chloride ($HgCl_2$)

Calcium hypochlorite ($Ca(OCl_2)$)

Clorox

Tween 20

ต้นบานบุรีหอมส่วนตาข้างติดกับปล้อง

2. วิธีการ

2.1 การเตรียมอาหารสูตร Murashige & Skoog (1962)

เตรียม stock solution โดยเตรียม Macroelements ให้มีความเข้มข้นของ stock 10 เท่า ของความเข้มข้นที่ต้องการ ส่วน Microelements และ Organic Compound จะเตรียม stock solution ให้มีความเข้มข้นเป็น 100 เท่า ของความเข้มข้นที่ต้องการใช้ สำหรับ Final solution ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

stock ของ Macroelements ซึ่งมีความเข้มข้น 10 เท่า จะใช้ 100 ml และ Microelements ซึ่งมีความเข้มข้น 100 เท่า จะใช้ 10 ml จาก stock หลังจากนั้นใส่น้ำตาล 30 g แล้วปรับ pH ของอาหารเท่ากับ 5.5 – 5.7 ด้วย NaoH 1 N หรือ HCl 1 N จากนั้นใส่วุ้นและนำไปต้ม กรอกใส่ขวดขนาดเล็กแล้วนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15-20 นาที

2.2 การเตรียมชิ้นส่วนตาข้าง

นำตาข้างซึ่งประกอบด้วยข้อและปล้องติดยาวประมาณ 1-1.5 ซม. ทำการผ่านน้ำไหลนานอย่างน้อยประมาณ 30 นาที

2.3 สภาพห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นำไปเลี้ยงไว้ในที่มีแสง อุณหภูมิ 25± 2 °C โดยมีช่วงแสง 12 ชั่วโมง/วัน ทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 4 สัปดาห์

2.4วิธีการทดลอง

<u>การทดลองที่</u> 1 ศึกษาผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญของตาข้างต้นบานบุรีหอม

นำตาข้างมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ ตามที่กำหนดในวิธีการทดลอง หลังจากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS โดยทำวิธีการทดลองแบบ Completelely Randomized Design มี 4 treatment จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ชิ้นส่วนต่อ treatment ดังนี้

วิธีการที่ 1

1.ethanol 70 % นาน 1 นาที

2.clorox 30 % + tween 20 2-3 หยด นาน 20 นาที

3.clorox 20 % + tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที

4.ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

วิธีการที่ 2

1.ethanol 70 % นาน 1 นาที

2.clorox 20 % + tween 20 2-3 หยด นาน 20 นาที

3.clorox 10 % + tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที

4.ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

วิธีการที่ 3

1.ethanol 70 % นาน 1 นาที

2.$HgCl_2$ 0.5 % +tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที

3.ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการที่ 4

1.ethanol 70 % นาน 1 นาที

2.HgCl2 0.1% + tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที

3.Ca(OCl$_2$) 10 % + tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที

4.Ca(OCl$_2$) 5 % + tween 20 2-3 หยด นาน 20 นาที

5.ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

การบันทึกผล

1.ชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน

2.จำนวนชิ้นส่วนที่ตาย

3.จำนวนชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโต

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของสารกำจัดเชื้อราที่มีผลต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอม

2.1 การศึกษาผลของ benomyl โดยการฉีดพ่นที่มีต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอม

โดยทำการทดลองแบบ Completelely Randomized Design มี 4 treatment จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ชิ้นส่วนต่อ treatment ฉีดพ่นก่อนทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตามวิธีที่กำหนดไว้หลังจากนั้นตัดส่วนตาข้างไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS โดยแบ่งตามระยะเวลาการฉีดพ่นก่อนฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนดังนี้

วิธีการที่ 1 ฉีดพ่นด้วย benlate เข้มข้น 0.75 g/l ก่อนทำการทดลอง 2 วันใช้สูตรฟอกที่ 1

วิธีการที่ 2 ฉีดพ่นด้วย benlate เข้มข้น 0.75 g/l ก่อนทำการทดลอง 2 วันใช้สูตรฟอกที่ 2

วิธีการที่ 3 ฉีดพ่นด้วย benlate เข้มข้น 0.75 g/l ก่อนทำการทดลอง 2 วันใช้สูตรฟอกที่ 4

วิธีการที่ 4 ฉีดพ่นด้วย benlate เข้มข้น 0.75 g/l ก่อนทำการทดลอง 7 วัน โดยฉีดพ่นวันเว้นวัน ใช้สูตรฟอกที่ 2

วิธีการที่ 5 ฉีดพ่นด้วย benlate เข้มข้น 0.75 g/l นก่อนทำการทดลอง 7 วัน โดยฉีดพ่นทุกวัน ใช้สูตรฟอกที่ 2

วิธีการที่ 6 นำชิ้นส่วนตาข้าง ซึ่งผ่านการฉีดพ่นด้วย benlate เข้มข้น 0.75 g/l ก่อนทำการเขย่าชิ้นส่วนเป็นเวลา 2 วัน ทำการเขย่าชิ้นส่วนในสารละลาย benlate เป็นเวลา 12 ชั่วโมงก่อนนำมาทำการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้สูตรฟอกที่ 2

การบันทึกผล

1.บันทึกชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน

2.บันทึกชิ้นส่วนตาย

3.จำนวนชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>การทดลองที่</u> 3 การศึกษาผลของสารกำจัดเชื้อราร่วมกับสารปฏิชีวนะที่มีผลต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอม

3.1 การศึกษาผลของการเขย่าชิ้นส่วนของ benomyl ร่วมกับ rifampicinในรูปของสารละลายที่มีผลต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอม

นำตาข้างที่ผ่านการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเป็นเวลา 2 วันนำมาเขย่าในสารกำจัดเชื้อรา benomyl และสารปฏิชีนะ rifampicin ในรูปสารละลายที่ความเข้มข้น 0.5 g/l และ 150 mg/l ตามลำดับ โดยแบ่งตามระยะเวลาการเขย่าในสารกำจัดเชื้อรา และสารปฏิชีวนะก่อนทำการฟอกฆ่าเชื้อโดยมีวิธีการดังนี้

วิธีการที่ 1 เขย่าในสารละลาย benlate และ rifampicin เป็นระยะเวลา 9 ชั่วโมง

วิธีการที่ 2 เขย่าในสารละลาย benlate และ rifampicin เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

หลังจากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการที่ 2 ในการทดลองที่ 1 หลังจากนั้นนำส่วนตาข้างไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS แต่ละ treatment มี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ชิ้นส่วนต่อ treatment

3.2 การศึกษาผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่อใส่ลงในอาหารสังเคราะห์ ที่มีผลต่อการปลอดเชื้อและเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบานบุรีหอม

นำตาข้างที่ผ่านการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเป็นเวลา 2 วัน นำมาฟอกด้วยวิธีการที่ 2 ในการทดลองที่ 1 หลังจากนั้นนำตาข้างไปเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม benomyl และ rifampicin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design วิธีการทดลองมี 6 treatment จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ชิ้นส่วนต่อ treatment ดังนี้

วิธีการที่ 1. benomyl 1 mg/l + rifampicin 25 mg/l

วิธีการที่ 2. benomyl 1 mg/l + rifampicin 50 mg/l

วิธีการที่ 3. benomyl 2 mg/l + rifampicin 25 mg/l

วิธีการที่ 4. benomyl 2 mg/l + rifampicin 50 mg/l

วิธีการที่ 5. benomyl 4 mg/l + rifampicin 25 mg/l

วิธีการที่ 6 .benomyl 4 mg/l + rifampicin 50 mg/l

หลังจากนั้นตัดชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เตรียมไว้ บันทึกผลการทดลองทุกสัปดาห์ และหลังจากเพาะเลี้ยง 2 สัปดาห์จึงย้ายลงในอาหารสูตร WPM (1981) เติม NAA 1 mg/l และ BAP 5 mg/l ที่ไม่มีสารปฏิชีวนะและสารกำจัดเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบันทึกผลการทดลอง

1.บันทึกการปนเปื้อน

2.บันทึกชิ้นส่วนตาย

3.จำนวนชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโต

4.บันทึกลักษณะการเจริญเติบโตโดยการให้คะแนน โดยมีหลักเกณฑ์การให้คะแนนการเจริญเติบโตดังนี้

คะแนน 1 ชิ้นส่วนไม่เจริญเติบโตสีน้ำตาล ลักษณะฉ่ำน้ำ (ภาพที่ 1)

คะแนน 2 เกิดแคลลัสสีเหลืองอ่อน ขรุขระ ฉ่ำน้ำ เกาะกันหลวม ๆ และเกิดแคลลัสสีน้ำตาดำ 3/4 ของชิ้นส่วน (ภาพที่ 2)

คะแนน 3 เกิดแคลลัสสีเหลืองอ่อน ขรุขระ ฉ่ำน้ำ เกาะกันหลวม ๆ และเกิดแคลลัสสีน้ำตาดำ 1/2 ของชิ้นส่วน (ภาพที่ 3)

คะแนน 4 เกิดแคลลัสสีเหลืองอ่อน ขรุขระ ฉ่ำน้ำ เกาะกันหลวม ๆ เกิดแคลลัสสีน้ำตาลดำ เล็กน้อยของชิ้นส่วน (ภาพที่ 4)

3 เวลา และสถานที่

3.1 เวลา

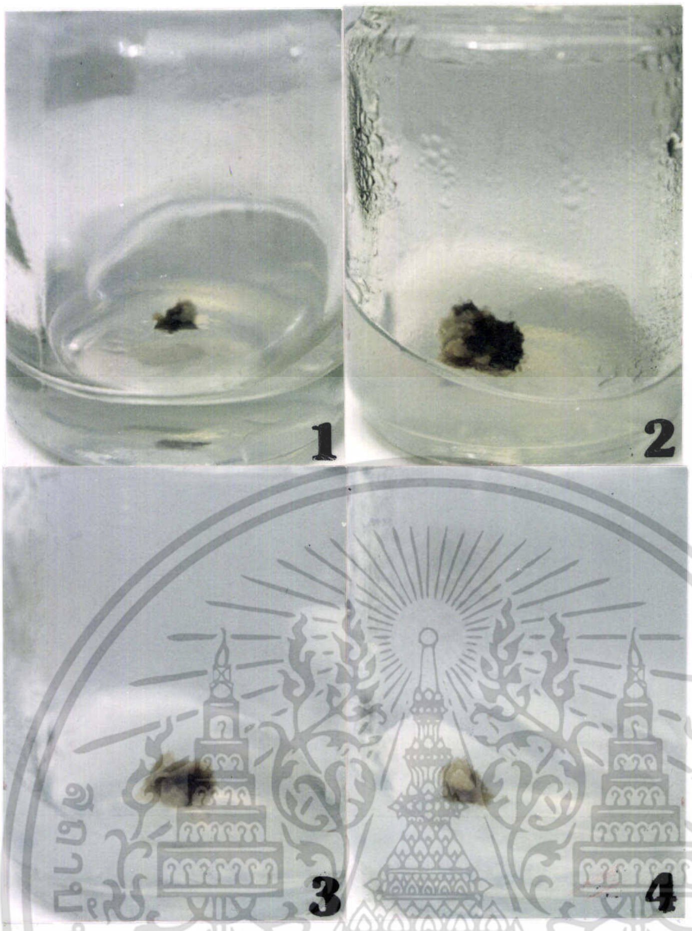
เริ่มการทดลอง มิถุนายน 2545

สิ้นสุดการทดลอง เมษายน 2546

3.2 สถานที่

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แสดงการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอม ที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM ที่มี NAA 1 mg/l ร่วมกับ BAP 5 mg/l และ benomyl ร่วมกับ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 6 สัปดาห์

1: แสดงการให้คะแนน 1 (กำลังขยาย 1.2 x)

2: แสดงการให้คะแนน 2 (กำลังขยาย 0.99x)

3: แสดงการให้คะแนน 3 (กำลังขยาย 0.5x)

4: แสดงการให้คะแนน 4 (กำลังขยาย 0.83x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

<u>การทดลองที่</u>1 การศึกษาผลการวิธีฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนที่มีผลต่อการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนบานบุรีหอม

<u>ชิ้นส่วนอายุ</u> 3 วัน

ผลของวิธีฟอกฆ่าเชื้อต่อการปลอดเชื้อของตาข้างบานบุรีหอม เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 วันพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่าง ๆ มีผลต่อการควบคุมการปลอดเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) (ตารางที่ 1) โดยชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการที่ 1และ 3 มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนมากที่สุดที่ 50 % ส่วนวิธีการที่ 2 และ 4 มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนที่ 25 % ทุกวิธีการชิ้นส่วนสีเขียวปกติไม่มีการเจริญเติบโต ซึ่งการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวรอบๆ ชิ้นส่วนบนอาหารและแผ่ขยายกว้างทั่วอาหาร ในแบคทีเรียลักษณะสีขาวขุ่นบริเวณรอบ ๆ ชิ้นส่วนที่สัมผัสกับอาหาร

<u>ชิ้นส่วนอายุ</u> 5 วัน

ผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อต่อการปลอดเชื้อของตาข้างบานบุรีหอมเมื่อชิ้นส่วนอายุ 5 วัน พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่าง ๆ มีผลต่อการควบคุมการปลอดเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) (ตารางที่ 1) โดยชิ้นส่วนตาข้างบานบุรีหอมที่ฟอกฆ่าเชื้อโดยวิธีการที่ 3 มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนมากที่สุด คือ 100 % โดยเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดภายใน 5 วันแรกภายหลังจากวันที่ทำการทดลอง ส่วนวิธีการที่ 1 และ2 มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อน 75 % และ 65 % ตามลำดับ ส่วนวิธีการที่ 4 มีเปอร์เซนต์ปนเปื้อนต่ำสุดที่ 45 % ซึ่งการปนเปื้อนมีการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียโดยลักษณะเชื้อราจะเป็นเส้นใยสีขาวรอบชิ้นส่วนบนอาหารและแผ่ขยายจนเต็ม ในแบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นบริเวณรอบ ๆ ชิ้นส่วนที่สัมผัสกับอาหาร

<u>ชิ้นส่วนอายุ</u> 7 วัน

ผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อต่อการปลอดเชื้อของตาข้างบานบุรีหอมเมื่อชิ้นส่วนอายุ 7 วัน พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่าง ๆ มีผลต่อการควบคุมการปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 1) โดยชิ้นส่วนตาข้างบานบุรีหอมที่ฟอกฆ่าเชื้อโดยวิธีการที่ 3และ4 มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนมากที่สุดคือ 100 % โดยเกิดการปนเปื้อนภายใน 7 วันหลังจากวันทำการทดลอง ส่วนวิธีการที่ 1 และ2 มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนที่ 90 % และเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดในวันที่ 9 และ 10 ตามลำดับภายหลังจากวันที่ทำการทดลอง โดยการปนเปื้อนทั้งหมดเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนมากมีแบคทีเรียเล็กน้อย ชิ้นส่วนที่ปนเปื้อนยังมีสีเขียวสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>การทดลองที่</u> 2 การศึกษาผลของสารกำจัดเชื้อราที่มีผลต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอม

<u>ชิ้นส่วนอายุ</u> 3 วัน

ผลของสารกำจัดเชื้อราโดยการฉีดพ่นและเขย่าในสารละลายด้วยวิธีการต่าง ๆ ต่อการปลอดเชื้อของตาข้างบานบุรีหอมเมื่อชิ้นส่วนอายุ 3วันพบว่าวิธีการฉีดพ่นและเขย่าในสารรูปสารละลาย โดยวิธีการต่าง ๆ มีผลต่อสภาพปลอดเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) (ตารางที่ 2) โดยการเขย่าในสารกำจัดเชื้อราในรูปสารละลายมีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนสูงสุดคือ 50 % ส่วนวิธีการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลองในวิธีการฟอกที่ 2 มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนต่ำสุดคือ 20 % ในการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง 7 วันโดยฉีดพ่นวันเว้นวันมีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนที่ 40 % วิธีการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง 2 วัน วิธีการฟอกที่ 4 มีเปอร์เซนต์ปนเปื้อนที่ 35 % การฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง 7 วัน โดยฉีดพ่นทุกวัน มีเปอร์เซนต์ ปนเปื้อนที่ 30 % และวิธีการฉีดพ่นก่อนทำการทดลอง 2 วันสูตรฟอกที่ 1 มีเปอร์เซนต์ปนเปื้อนที่ 25 % ตามลำดับโดยการปนเปื้อนส่วนมากเกิดจากเชื้อรา มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวรอบชิ้นส่วนบนอาหาร ในแบคทีเรียมีสีขาวขุ่นรอบ ๆ ชิ้นส่วนที่สัมผัสกับอาหาร

<u>ชิ้นส่วนอายุ</u> 5 วัน

ผลของสารกำจัดเชื้อราโดยการฉีดพ่นและเขย่าในสารละลายด้วยวิธีการต่าง ๆ ต่อการปลอดเชื้อของตาข้างบานบุรีหอมเมื่อชิ้นส่วนอายุ 5 วัน พบว่าวิธีการฉีดพ่นและเขย่าในสารละลาย โดยวิธีการต่าง ๆ มีผลต่อสภาพปลอดเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) (ตารางที่ 2) โดยการเขย่าในสารกำจัดเชื้อราในรูปสารละลายและวิธีการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง 7 วัน โดยฉีดพ่นวันเว้นวัน มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 70 % ส่วนวิธีการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง 2 วันโดยวิธีการฟอกที่1 มีเปอร์เซนต์ปนเปื้อนต่ำสุดที่ 40 % ในการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง2 วัน วิธีการฟอกที่ 4 มีเปอร์เซนต์ปนเปื้อน 65 % วิธีการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง 7 วันโดยฉีดพ่นทุกวันและการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง 2 วัน วิธีการฟอกที่ 2 มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนเท่ากันที่ 50 % ตามลำดับโดยการปนเปื้อนเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนมากมีลักษณะเป็นใยสีขาวรอบชิ้นส่วนบนอาหาร ในแบคทีเรียเป็นสีขาวขุ่นรอบ ๆ ชิ้นส่วนที่สัมผัสกับอาหาร

<u>ชิ้นส่วนอายุ</u> 7 วัน

ผลของสารกำจัดเชื้อราโดยการฉีดพ่นและเขย่าด้วยวิธีการต่าง ๆ ต่อการปลอดเชื้อของตาข้างบานบุรีหอมเมื่อชิ้นส่วนอายุ 7 วันพบว่าวิธีการฉีดพ่นและเขย่าในสารกำจัดเชื้อรา มีผลต่อสภาพปลอดเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) (ตารางที่ 2) โดยการเขย่าในสารกำจัดเชื้อราในรูปสารละลายร่วมถึงวิธีการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง 2 วัน โดยวิธีการฟอกที่ 4 และ2 มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนสูงสุดคือ 100 % โดยแต่ละวิธีการเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดภายหลังการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7,6และ7 วันตามลำดับส่วนวิธีการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง 7 วัน โดยการฉีดพ่นทุกวัน มีเปอร์เซนต์ปนเปื้อนต่ำสุดที่ 75 % มีชิ้นส่วนปลอดเชื้อ 25 % แต่ชิ้นส่วนทั้งหมดตายในสัปดาห์ที่ 3 ของการทดลองโดยมีลักษณะฉ่ำน้ำสีน้ำตาลเข้ม ในวิธีการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง 7 วันโดยฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราวันเว้นวัน มีเปอร์เซนต์ปนเปื้อน 90 % มีชิ้นส่วนปลอดเชื้อ 10 % และชิ้นส่วนตายในสัปดาห์ที่ 4 ทั้งหมดโดยมีลักษณะฉ่ำน้ำสีน้ำตาลเข้ม และวิธีการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราก่อนทำการทดลอง 2 วันโดยวิธีการฟอกที่ 1 มีเปอร์เซนต์ปนเปื้อน 80 % และมีการปนเปื้อน 100 % ในทุกวิธีการทดลอง หลังทำการทดลอง 8 วัน โดยการปนเปื้อนทั้งหมดเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนมาก มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวบนชิ้นส่วนและรอบ ๆ อาหาร ในแบคทีเรียเกิดสีขาวขุ่นรอบ ๆ ชิ้นส่วนที่สัมผัสกับอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>การทดลองที่</u> 3 การศึกษาผลของสารกำจัดเชื้อราและสารปฏิชีวนะที่มีผลต่อการปลอดเชื้อของและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบานบุรีหอม

3.1 การศึกษาผลของการเขย่าสารกำจัดเชื้อราร่วมกับสารปฏิชีวนะในรูปของสารละลายที่มีผลต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนบานบุรีหอม

<u>ชิ้นส่วนอายุ</u> 3 วัน

ผลของการเขย่าชิ้นส่วนในสารกำจัดเชื้อราร่วมกับสารปฏิชีวนะในรูปของสารละลายที่มีผลต่อการปลอดเชื้อของตาข้างบานบุรีหอมเมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 วันพบว่าการเขย่าในสารละลายทั้ง 2 วิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 3) โดยชิ้นส่วนที่เขย่าในสารละลายระยะเวลา 9 ชั่วโมงมีเปอร์เซนต์การปนเปื้อน 70 % และเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดในระยะเวลา 5 วันหลังจากทำการทดลอง ส่วนวิธีการเขย่าในสารละลายในระยะเวลา 24 ชั่วโมงมีเปอร์เซนต์การปนเปื้อน 55 % และเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดในระยะเวลา 6 วันหลังการทดลองจึงเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดโดยเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่

3.2 การศึกษาผลของสารกำจัดเชื้อราร่วมกับสารปฏิชีวนะเมื่อใส่ลงในอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการปลอดเชื้อและการเจริญเติบโตของบานบุรีหอม

1.การปนเปื้อนของชิ้นส่วน

<u>ชิ้นส่วนอายุ</u> 1 สัปดาห์

ผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin ต่อการปนเปื้อนของชิ้นส่วนบานบุรีหอมเมื่ออายุ 1 สัปดาห์พบว่าการใช้ benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 1,2 และ 4 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25,50 mg/l มีผลต่อการควบคุมการปนเปื้อนไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4) โดยชิ้นส่วนที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l แสดงเปอร์เซนต์การปนเปื้อนต่ำสุดที่ 22.22 % ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 1 mg/l ร่วมกับ rifampicin 50 mg/l มีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนสูงสุดที่ 66.66 %

ลักษณะชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อมีสีเขียวอมเหลืองไม่มีการเจริญเติบโต ส่วนการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวรอบชิ้นส่วนอาหารและแผ่ขยายกว้างขึ้นเรื่อย ๆ ในแบคทีเรียมีลักษณะสีขาวขุ่นบริเวณรอบ ๆ ชิ้นส่วนที่สัมผัสกับอาหาร

<u>ชิ้นส่วนอายุ</u> 2 สัปดาห์

ผลของ benomyl ร่วมกับ rifampicin ต่อการปนเปื้อนของชิ้นส่วนบานบุรีหอมเมื่ออายุ 2 สัปดาห์พบว่าการใช้ benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 1,2 และ 4 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25,50 mg/l มีผลต่อการควบคุมการปนเปื้อนไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4) โดยชิ้นส่วนที่มี benomyl 2mg/l ร่วมกับ rifampicin 50 mg/l แสดงเปอร์เซนต์ปนเปื้อนต่ำสุดที่ 33.33 % ซึ่งในส่วนของชิ้นส่วนที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l แสดงการปนเปื้อนเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์แรกเป็น 44.44 % ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 1,4 mg/l ร่วมกับ rifampicin 50 mg/l มีเปอร์เซนต์ปนเปื้อนสูงสุดที่ 66.66 % และพบว่าในทุกวิธีการชิ้นส่วนเริ่มมีการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลโดยเปลี่ยนสีทั่วทั้งชิ้นส่วน และการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเกิดจากเชื้อราเป็นส่วนใหญ่

หลังจากชิ้นส่วนมีอายุ 2 สัปดาห์ จึงย้ายชิ้นส่วนไปยังอาหารสูตร WPM(1981) ร่วมกับ NAA 1 mg/l และ BAP 5 mg/l ที่ไม่มีสารกำจัดเชื้อรา (benomyl) และสารปฏิชีวนะ (rifampicin)

2. การเจริญเติบโตของชิ้นส่วน

หลังจากย้ายชิ้นส่วนลงอาหารที่ไม่มี benomyl และ rifampicin เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 สัปดาห์ ชิ้นส่วนในอาหาร WPM มีลักษณะสด สีเขียวอ่อนอมเหลืองลักษณะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนมีความแตกต่างกันโดยชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่เติม benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 1,2และ4 mg/l ร่วมกับ rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 25,50 mg/l พบว่าชิ้นส่วนมีคะแนนการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5) และชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่ benomyl 4 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตสูงสุดที่ 3.5 คะแนน โดยชิ้นส่วนมีการพัฒนาขึ้นอย่างเห็นได้ชัดโดยเกิดแคลลัสสีเหลืออ่อน ลักษณะฉ่ำน้ำ ผิวขรุขระ แบ่งแยกออกได้ง่าย และชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 50 mg/l มีคะแนนเจริญต่ำสุดที่ 1 คะแนน

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์คะแนนการเจริญเติบโตมีการเปลี่ยนแปลงไปจากสัปดาห์ที่ 3 โดยเมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์พบว่าชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl ความเข้มข้น 1,2 และ 4 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25,50 mg/l ชิ้นส่วนคะแนนการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5) ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 50 mg/l มีคะแนนการเจริญสูงสุดที่ 4 คะแนน โดยชิ้นส่วนมีแคลลัสสีเหลืองอ่อนร่วมกับแคลลัสสีน้ำตาลดำเล็กน้อย มีลักษณะฉ่ำน้ำ ผิวขรุขระ แบ่งแยกออกได้ง่าย และชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl 1 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตต่ำสุดที่ 1.94 คะแนนและพบว่าชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 50 mg/l มีชิ้นส่วนตายแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ 33.33 % (ตารางที่ 6) โดยชิ้นส่วนเจริญเติบโตต่อไปได้ที่ 33.33 % (ตารางที่ 6)

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 5 สัปดาห์พบว่าชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ความเข้มข้น 1,2 และ 4 mg/l ร่วมกับ rifampicin เข้มข้น 25,50 mg/l ชิ้นส่วนมีคะแนนการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5) และชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตสูงสุดที่ 3.33 คะแนนโดยชิ้นส่วนที่มีแคลลัสสีเหลืองอ่อนสลับกับสีน้ำตาลดำ ½ ของชิ้นส่วน ลักษณะฉ่ำน้ำ ผิวขรุขระ แยกออกได้ง่าย และชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl 1 mg/l ร่วมกับ rifampicin 50 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตต่ำสุดที่ 1.33 คะแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

51308

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 6 สัปดาห์พบว่าชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl ความเข้มข้น 1,2 และ 4 mg/l ร่วมกับ rifampicin เข้มข้น 25,50 mg/l ชิ้นส่วนมีคะแนนการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5) และชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 50 mg/l มีคะแนนการเจริญสูงสุดที่ 3 คะแนน โดยชิ้นส่วนที่มีแคลลัสสีเหลืองอ่อนสลับกับแคลลัสสีน้ำตาลดำ ½ ของชิ้นส่วน ลักษณะฉ่ำน้ำ ผิวขรุขระ แยกออกได้ง่าย และชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl 1 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตต่ำสุดที่ 1.61 คะแนน

ในส่วนของเปอร์เซนต์การเจริญเติบโต ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 6) โดยชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l ชิ้นส่วนเจริญเติบโตสูงสุดที่ 55.56 % (ตารางที่ 6) และชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงในอาหารที่มี benomyl 4 mg/l ร่วมกับ rifampicin 50 mg/l ชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตต่อไปต่ำสุดที่ 33.33 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบานบุรีหอมที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ

วิธีการ	% การปนเปื้อน (±SE)		
	3วัน 1/	5วัน 1/	7วัน
วิธีการที่ 1	50.00±11.54a	75.00±10.00b	90±11.54
วิธีการที่ 2	25.00±10.00b	65.00±10.00b	90±11.54
วิธีการที่ 3	50.00±11.54a	100±0.00a	100±0.00
วิธีการที่ 4	25.00±10.00b	45.00±10.00c	100±0.00
F-test	**	**	ns
CV(%)	13.60	12.15	8.59

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบานบุรีหอมที่ผ่านการฉีดพ่น และการเขย่าสารกำจัดเชื้อราด้วยวิธีการต่าง ๆ

วิธีการ	% การปนเปื้อน (±SE)		
	3วัน[1/]	5วัน[1/]	7วัน[1/]
วิธีการที่ 1	25.00±10.00a	40.00±16.32c	80.00±28.28bc
วิธีการที่ 2	20.00±16.32b	50.00±11.54bc	100±0.00a
วิธีการที่ 3	35.00±10.00a	65.00±10.00ab	100±0.00a
วิธีการที่ 4	40.00±16.33b	70.00±11.54a	90.00±11.54ab
วิธีการที่ 5	30.00±25.81b	50.00±11.54ab	75.00±10.00c
วิธีการที่ 6	50.00±11.54a	70.00±11.54a	100±0.00a
F-test	**	**	**
CV(%)	17.59	17.87	6.87

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนบานบุรีหอมที่ผ่านการเขย่าสารกำจัดเชื้อราร่วมกับสารปฏิชีวนะด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่อชิ้นส่วนอายุ 3 วัน

วิธีการ	% การปนเปื้อน(±SE)
วิธีการที่ 1	70.00±11.54
วิธีการที่ 2	55.00±10.00
T-test	ns
CV %	17.28

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 1และ2 สัปดาห์

วิธีการที่	% การปนเปื้อน (±SE)	
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2
1	44.44±50.91	44.44±50.91
2	66.66±33.33	66.66±33.33
3	22.22±19.24	44.44±38.48
4	33.33±33.33	33.33±33.33
5	33.33±33.33	55.55±19.24
6	55.55±50.91	66.66±33.33
F-test	ns	ns
CV (%)	83.32	63.53

nsไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมเมื่อย้ายลงอาหาร WPM ที่ไม่มี benomyl และ rifampicin เมื่ออายุ 3-6 สัปดาห์

วิธีการ	คะแนนการเจริญเติบโต (±SE)			
	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6
1	1.83±1.60	1.94±1.78	2.11±1.83	1.61±1.39
2	1.17±1.25	1.50±1.80	1.33±1.52	2.17±2.02
3	2.00±1.73	2.67±1.52	3.33±0.57	2.67±0.57
4	1.00±0.00	4.00±0.00	3.00±0.00	3.00±0.00
5	3.50±1.86	2.67±0.57	2.67±0.57	2.33±0.57
6	1.67±2.08	2.33±2.08	2.33±2.08	1.83±0.86
F-test	ns	ns	ns	ns
CV (%)	20.24	18.44	15.47	14.57

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงเปอร์เซนต์การปนเปื้อนเมื่อชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์ , เปอร์เซนต์การตาย และเปอร์เซนต์การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่อายุ 3-6 สัปดาห์

วิธีการที่	% การปนเปื้อน	% ชิ้นส่วนตาย	% ชิ้นส่วนเจริญเติบโต
1	44.44±50.91	0.00±0.00b	55.55±51.91
2	66.66±33.33	0.00±0.00b	33.33±33.33
3	44.44±38.48	0.00±0.00b	55.55±38.49
4	33.33±33.33	33.33±33.33a	33.33±0.00
5	55.55±19.24	0.00±0.00b	44.44±19.24
6	66.66±33.33	0.00±0.00b	33.33±33.33
F-test	ns	*	ns
CV (%)	63.53	170.31	68.06

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้สารเคมีในการฟอกฆ่าเชื้อเมื่อนำชิ้นส่วนตาข้างบานบุรีหอมมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ ไม่พบว่ามีวิธีการที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อในการทดลอง (ตารางที่ 1) โดยทุกวิธีการเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดแต่แตกต่างกันที่ระยะเวลาการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนในแต่ละวิธีการทดลอง ซึ่งการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนอยู่ในช่วง 1-2 สัปดาห์ สาเหตุที่สารเคมีในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนไม่ได้ผลเนื่องมาจากมีการสะสมของเชื้อซึ่งเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนอยู่ดังที่ บุญยืน(2540) กล่าวไว้ว่าในบางครั้งไม่สามารถที่จะเลือกเนื้อเยื่อของพืชที่มีลักษณะตามต้องการได้ เช่น เนื้อเยื่อพืชบางชนิดอาจมีเชื้อราเจริญอยู่ตามผิวเป็นจำนวนมากอีกสาเหตุหนึ่งอาจเกิดจากความเข้มข้นและระยะเวลาของสารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนอาจไม่เหมาะสมจึงไม่สามารถฆ่าเชื้อสาเหตุของการปนเปื้อนได้ทั้งหมดดังที่ รังสฤษดิ์(2540) ได้กล่าวไว้ว่าประสิทธิภาพของสารกำจัดการปนเปื้อนของชิ้นส่วนพืชเป็นผลมาจากเวลาและความเข้มข้นของสารที่ใช้ให้เหมาะสม และการทดลองนี้กระทำในช่วงฤดูฝนเป็นอีกสาเหตุหนึ่งให้มีการสะสมของเชื้อราและแบคทีเรียจากความชื้น ปัจจัยดังที่กล่าวมานี้ย่อมเป็นสาเหตุให้การทดลองนี้ไม่ประสพความสำเร็จดังที่เกิดขึ้นในการทดลอง จึงทำการศึกษาผลของสารกำจัดเชื้อราโดยการฉีดพ่น ซึ่งบุญยืน (2540) กล่าวว่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการฉีดพ่นยากำจัดเชื้อ จุลินทรีย์นั้นนับว่าได้ผลดีและสะดวกรวดเร็วกว่าพืชที่ขึ้นในธรรมชาติและการเขย่าในรูปของสารละลายเพื่อแก้ปัญหาการปนเปื้อนของชิ้นส่วนต้นพืชต่อไป

การทดลองใช้สารกำจัดเชื้อราโดยการฉีดพ่นและเขย่าในรูปสารละลายก่อนฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนจากผลการทดลองพบว่า ความถี่-ห่าง ในการฉีดพ่นและเขย่าชิ้นส่วนบานบุรีหอมในสารกำจัดเชื้อราไม่สามารถควบคุมการปนเปื้อนในการทดลองได้ (ตารางที่ 2) รวมถึงการทดลองที่ใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อราโดยการเขย่าชิ้นส่วนในสารละลาย (ตารางที่ 3) ก็ตามยังไม่สามารถลดการปนเปื้อนลง โดยเกิดการปนเปื้อนทั้งหมดช่วงระยะเวลา 1-2 สัปดาห์ หลังการทดลองเช่นเดิมเหตุผลหลักน่าจะมาจากต้นบานบุรีหอมมีการปนเปื้อนของเชื้ออยู่ภายในเนื้อเยื่อและท่อลำเลียงน้ำและอาหารของต้นพืช การควบคุมต้นโดยการฉีดพ่นและการเขย่าชิ้นส่วนในสารละลายเป็นระยะเวลาที่ทำการทดลองอาจไม่เพียงพอที่จะกำจัดเชื้อสาเหตุซึ่งอยู่ภายในต้นพืชให้ลดลงหรือหมดไปได้ ศิวพงษ์(2541) กล่าวว่าบางครั้งเนื้อเยื่อพืชภายในของชิ้นพืชก็มีการปนเปื้อนเช่นกัน โดยมองจากภายนอกไม่เห็นแต่จะแสดงให้เห็นเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงระยะหนึ่งแล้ว การปนเปื้อนภายในนี้ไม่สามารถจะล้างออกโดยการใช้น้ำยาทำความสะอาดที่ผิวได้การทดลองต่อไปจึงทำการใส่สารกำจัดเชื้อราร่วมกับสารปฏิชีวนะลงในอาหารสังเคราะห์ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อศึกษาการกำจัดการปนเปื้อนซึ่งสะสมอยู่ภายในชิ้นส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างบานบุรีหอมในอาหารที่มี benomyl 1,2 และ4 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 และ50 mg/l นาน 2 สัปดาห์หลังจากนั้นย้ายลงบนอาหารที่ไม่มี benomyl และ rifampicin พบว่าชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l เหมาะสมที่สุดที่ทำให้เปอร์เซนต์การปนเปื้อนต่ำที่ 44.44 % และชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ที่ 55.56 % (ตารางที่ 6) โดยมีคะแนนการเจริญเติบโตที่ 2.67 คะแนน

การปนเปื้อนของชิ้นส่วนที่เกิดจากเชื้อราในการทดลองลดลงเมื่อใส่สารกำจัดเชื้อรา benomyl ลงในอาหารทดลอง ดัง สมภาค(2537) ได้ทำการศึกษาว่า benomyl เป็นสารกำจัดเชื้อราที่มีคุณสมบัติกำจัดเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืช 16 ชนิด

การใช้สารปฏิชีวนะ rifampicin ในความเข้มข้น 25,50 mg/l สามารถควบคุมการติดเชื้อราได้โดยไม่เกิดพิษดัง Heldman *et al.*(1987) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอด *Camellia sinensis* หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมงในอาหารที่มี rifampicin 25,50 mg/l สามารถลดการติดเชื้อจากแบคทีเรียและเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรียในปริมาณต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับ control และYoung *et al.*(1984) ซึ่งทำการศึกษาการใช้สารปฏิชีวนะในการควบคุมแบคทีเรียในเนื้อเยื่อปลายยอดของไม้เนื้อแข็ง ได้แก่ Apple . Rhododendron และ Douglas-fir ที่ระดับความเข้มข้น 25,50 mg/l ร่วมกับอาหารเป็นเวลา 5 วันในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่าไม่มีอันตรายต่อเนื้อเยื่อ (Phytotoxic) และไม่เกิดความเป็นพิษแก่ชิ้นส่วนนอกจากนี้ Phillips *et al.*(1981) ได้ทำการศึกษาการใช้สารปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดอกทานตะวัน (*Helianthus tuberrosus*) พบว่าการใช้ rifampicin ที่ระดับ 50 mg/l จะสามารถขจัดเชื้อแบคทีเรียได้มีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับ control โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ดอกทานตะวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อทำความสะอาดชิ้นส่วนตาข้างบานบุรีหอม รวมถึงการใช้สารกำจัดเชื้อราและสารปฏิชีวนะ ในการฉีดพ่นและเขย่าในรูปสารละลายในระยะเวลาต่าง ๆ ในทุกวิธีการยังไม่สามารถจัดการปนเปื้อนในตาข้างบานบุรีหอมได้ ซึ่งทุกวิธีการเกิดการปนเปื้อนทั้งหมด

สำหรับการเลี้ยงในอาหารสูตร WPM ที่มี NAA 1 mg/l และ BAP 5 mg/l ที่มี benomyl 2 mg/l ร่วมกับ rifampicin 25 mg/l สามารถจัดการปนเปื้อนที่ติดมากับชิ้นส่วนบานบุรีหอมโดยมีการปนเปื้อนที่ 44.44 % และชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตได้ 55.56 % โดยชิ้นส่วนมีค่าคะแนนการเจริญเติบโตที่ 2.67 คะแนน ในสัปดาห์ที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2528 . **สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช.** กรุงเทพ ฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บุญยืน กิจวิจารณ์ . 2540 . **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช** . ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น .191.

พิมล เที่ยงธรรม. 2538 . " การเพาะเลี้ยงกฤษณาในสภาพปลอดเชื้อ". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพ ฯ.

พัชรินทร์ แซ่ลิ้ม. 2537 . "การใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อราสำหรับเลี้ยงเฮลิโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง . กรุงเทพ ฯ.

วิทย์ เที่ยงบูรณะธรรม. 2536 . **พจนานุกรมไม้ดอกไม้ประดับในเมืองไทย** . กรุงเทพ ฯ : สำนักพิมพ์สุริยะบรรณ .

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

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2541. **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช** . ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี . สถาบันราชภัฏอุดรธานี . 253 .

สมภาค สิทธิพงศ์ เอิ่น ศิลาย้อย ทวี เก่าศิริ และอนงค์ จันทรศรีกุล. 2527 . สารป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพบางชนิด . **วารสารโรคพืช** . 4(1) : 19-21.

สายสมร ลำยอง. 2524 . **สารปฏิชีวนะและปฏิกิริยาการต่อต้านจุลินทรีย์.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ . เชียงใหม่ . 87.

สุธี ตั้นสกุล. 2541 . " การขยายพันธุ์โมกซ้อนโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ." ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพ ฯ.

Anonymous, 1994 . Detection of pathogens and contaminations of plants & cell culture . **Phy Source.** 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 Fruticultura** . 21(3) : 279-283. **(Cab Abstracts 1998/08-2000/07)**

Franes, P. 1972 . **Flower of the world** . Collaboration with the Royal Horticultural Society : 28-31.

Handro, W.,E.I. Floh.,C.M. Ferreira and M.P. Guerra. 1988. Tissue cell culture and micropropagation of *Mandevilla velutina* , a natural source of bradykinin antagonist . **Plant Cell Report** . 7 : 564-566.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Haldman, 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.

Lloyd, G. and B.H. McCown. 1980. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel , *kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. **Proc. Int. Plant Prop. Soc.** 30 : 421-427.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures . **Physiol. Plant.** 15 : 473-497.

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

Phillips, R.,S.M. Arnott and S.E. Kaplan. 1981. Antibiotic in plant tissue culture : Rifampicin effectively controls bacterial contaminations with out effecting the growth of short-term explant culture of *Heliunthus tuberosus* . **Plant Science Letters.** 21 : 235-240.

Pierik, R.L. 1987 . ***In vitro* culture of highter plants** . Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht . 93

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.* **Rerista –de-la-Faculted-de-Agromomia.** 15(2) : 162-173.

Shield, R.,S.J. Robinson and P.A. Anslow. 1984. Use of fungicide in plant tissue culture. **Plant Cell Reports.** 3 : 33-36.

Seneviratne, P.,A.W. Flegmann and G.A. Wijesekara.1995.The problem of surface sterilization of shoot materials of Hevea. **Journal of the Rubber Research Institute of Sri Lanka.** 75 : 51-60. **(Cab Abstracts 1995)**

Sowik, I.,J. Pulawska.,D. Wawrzynczak and L. Michalczuk. 2000 . Elimination of fungal and bacterial contamination from *in vitro* Strawberry culture. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research** . 6(2) : 63-71.**(Cab Abstracts 1998/08-2000/07)**

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

<u>ตารางที่</u> 1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์ Murashige & Skoog (1962)

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณ (mg/l)
KH_4NO_3	1650
KNO_3	1900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_47H_2O$	370
KH_2PO_4	170
KI	0.83
$MnSO_4.7H_2O$	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
Pyridoxine	0.5
Thiamine	0.1
Glycine	2.0
Myoinositol	100
Sucrose	3000.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์ WPM (Woody Plant Medium)

(Lloyd & Mccown) (1981)

สารเคมี	ปริมาณ (mg/l)
NH_4NO_3	400
KH_2PO_4	170
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	556
$MgSO_4.7H_2O$	370
K_2SO_4	900
$CaCl_2.2H_2O$	96
$MnSO_4.4H_2O$	22.3
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
H_3BO_3	6.2
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.25
$FeSO_4.7H_2O$	27.8
Na_2EDTA	37.3
Nicotinic acid	0.5
Thiamine	1.0
Glycine	2.0
Myonositol	100
Pyridoxine.HCl	0.5
Sucrose	3000.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 3 วัน

(Arcsine Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	3	400.68	133.56	6.66**	3.49	5.95
Error	12	240.41	20.03			
Total	15	641.10	42.74			

Grand Mean = 32.9 CV = 13.60 %

**** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ**

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 5 วัน

Source	Df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	3	6275.00	2091.00	27.88**	3.49	5.95
Error	12	900.00	75.00			
Total	15	7175.00	478.33			

Grand Mean = 71.25 CV = 12.15 %

**** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 7 วัน

Source	Df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	3	400.00	133.33	2.00^{ns}	3.49	5.95
Error	12	800.00	66.66			
Total	15	1200.00	80.00			

Grand Mean = 95.00 CV = 8.59 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 6 วิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฉีดพ่นและเขย่าในสารกำจัดเชื้อราด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 3 วัน (Arcsine Transformation)

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	5	1238.25	247.65	5.57**	2.77	4.25
Error	18	800.20	44.45			
Total	23	2038.46	88.62			

Grand Mean = 37.89 CV = 17.59 %

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 วิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฉีดพ่นและเขย่าในสารกำจัดเชื้อราด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 5 วัน

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	5	3150.00	630.00	5.96**	2.77	4.25
Error	18	1900.00	105.55			
Total	23	5050.00	219.56			

Grand Mean = 57.5 CV = 17.87 %

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ 8 วิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการฉีดพ่นและเขย่าในสารกำจัดเชื้อราด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่ออายุ 7 วัน

Source	df	SS	MS	F-test	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	5	2483.33	496.66	12.77**	2.77	4.25
Error	18	700.00	38.88			
Total	23	3183.33	138.40			

Grand Mean = 90.83 CV = 6.87 %

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 วิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมซึ่งผ่านการเขย่าในสารกำจัดเชื้อรา benomylและสารปฏิชีวนะ rifampicin วิธีต่าง ๆ เมื่ออายุ 3 วัน

	Variable 1	Variable 2
Mean	70	55
Variance	133.33	100
Observations	4	4
Pearson Correlation	0.57	
Hypothesized Mean Difference	0	
Df	3	
t Stat	3	
P(T<=t) one-tail	0.02	
t Critical one-tail	2.35	
P(T<=t) two-tail	0.057	
t Critical two-tail	3.18	

ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 วิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 1 สัปดาห์

(Arcsine Transformation)

Source	df	SS	MS	F-value	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	5	2628.69	525.73	0.49^{ns}	3.11	5.06
A	2	1627.62	813.56	0.76^{ns}	3.89	6.93
B	1	876.13	876.13	0.82^{ns}	4.75	9.33
AB	2	125.44	62.72	0.05^{ns}	3.89	6.93
Error	12	12713.89	1059.49			
Total	17	15342.58	902.50			

Grand Mean = 39.06 CV = 83.32 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 11 วิเคราะห์ผลทางสถิติเปอร์เซนต์การปนเปื้อนของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่มี benomyl ร่วมกับ rifampicin เมื่ออายุ 2 สัปดาห์

(Arcsine Transformation)

Source	Df	SS	MS	F-value	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	5	2109.75	421.95	0.49^{ns}	3.11	5.06
A	2	1389.11	694.55	0.81^{ns}	3.89	6.93
B	1	250.88	250.88	0.29^{ns}	4.75	9.33
AB	2	469.75	234.87	0.27^{ns}	3.89	6.93
Error	12	10270.47	855.87			
Total	17	12380.23	728.24			

Grand Mean = 46.04 CV = 63.53 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ทางสถิติที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl และ rifampicin เมื่ออายุ 3 สัปดาห์
(Logarithmic Transformation)

Source	Df	SS	MS	F-value	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	5	0.47	0.09	1.54^{ns}	3.11	5.06
A	2	0.21	0.10	1.73^{ns}	3.89	6.93
B	1	0.23	0.23	3.83^{ns}	4.75	9.33
AB	2	0.02	0.01	0.19^{ns}	3.89	6.93
Error	12	0.70	0.06			
Total	17	1.21	0.07			

Grand Mean = 1.22 CV = 20.24 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ทางสถิติที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl และ rifampicin เมื่ออายุ 4 สัปดาห์
(Logarithmic Transformation)

Source	Df	SS	MS	F-value	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	5	0.28	0.05	0.90^{ns}	3.11	5.06
A	2	0.17	0.08	1.36^{ns}	3.89	6.93
B	1	0.002	0.002	0.03^{ns}	4.75	9.33
AB	2	0.11	0.05	0.88^{ns}	3.89	6.93
Error	12	0.76	0.06			
Total	17	1.05	0.06			

Grand Mean = 1.36 CV = 18.44 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซนต์การตายของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl และ rifampicin เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

(Arcsine Transformation)

Source	Df	SS	MS	F-value	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	5	2088.02	417.60	3.47^{*}	3.11	5.06
A	2	835.21	417.60	3.47^{ns}	3.89	6.93
B	1	417.60	417.60	3.47^{ns}	4.75	9.33
AB	2	835.21	417.60	3.47^{ns}	3.89	6.93
Error	12	1442.16	120.18			
Total	17	3530.18	207.65			

Grand Mean = 6.43 CV = 170.31 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ทางสถิติที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl และ rifampicin เมื่ออายุ 5 สัปดาห์

(Logarithmic Transformation)

Source	Df	SS	MS	F-value	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	5	0.23	0.04	1.05^{ns}	3.11	5.06
A	2	0.18	0.09	2.06^{ns}	3.89	6.93
B	1	0.03	0.03	0.82^{ns}	4.75	9.33
AB	2	0.01	0.008	0.17^{ns}	3.89	6.93
Error	12	0.54	0.04			
Total	17	0.78	0.04			

Grand Mean = 1.37 CV = 15.47 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 การวิเคราะห์ทางสถิติที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl และ rifampicin เมื่ออายุ 6 สัปดาห์

(Logarithmic Transformation)

Source	Df	SS	MS	F-value	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	5	0.10	0.02	0.56^{ns}	3.11	5.06
A	2	0.07	0.03	1.00^{ns}	3.89	6.93
B	1	0.002	0.002	0.04^{ns}	4.75	9.33
AB	2	0.02	0.01	0.27^{ns}	3.89	6.93
Error	12	0.46	0.03			
Total	17	0.56	0.03			

Grand Mean = 1.34　　CV = 14.57 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 17 การวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซนต์การเจริญเติบโตของตาข้างบานบุรีหอมบนอาหารที่ไม่มี benomyl และ rifampicin เมื่ออายุ 6 สัปดาห์

(Arcsine Transformation)

Source	Df	SS	MS	F-value	F-table	
					F.05	F.01
Treatment	5	1318.25	263.65	0.35^{ns}	3.11	5.06
A	2	192.12	96.06	0.13^{ns}	3.89	6.93
B	1	1084.22	1084.22	1.47^{ns}	4.75	9.33
AB	2	41.90	20.95	0.02^{ns}	3.89	6.93
Error	12	8830.63	735.88			
Total	17	10148.88	596.99			

Grand Mean = 39.85　　CV = 68.06 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้