

ใบรับรองปัญหาพิเศษ  
ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช  
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

เรื่อง

การทดสอบประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อไวรัสใบด่างพริกทอง  
The Effect of Antiviral Compound on Papaya Ring Spot  
Virus of Pumpkin In Vitro

โดย

นางสาววารณี

ผู้  
ลงทะเบียน

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(อาจารย์ ดร. นवलพรรณ งามยี่สุน)

วันที่ 21 เดือน 12 พ.ศ. 2537

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

.....

(อาจารย์ สำเร็จ คำทอง)

วันที่ 21 เดือน 12 พ.ศ. 2537

7 ส.ค. 2541

รพ.

๑48611

2536

## สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การทดสอบประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง  
 The Effect of Antiviral Compound on Papaya Ring Spot  
 Virus of Pumpkin In Vitro



T099074

โดย

นางสาววารุณี ลิมพงษ์กุล

อาจารย์ที่ปรึกษา

ป.ค.

อาจารย์ ดร. นवलพรรณ งามยี่สุน

2486ก

2536

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 99074

เสนอ

วัน,เดือน,ปี..... 15 JUN 2003

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2536

## คำนิยม

ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากความอนุเคราะห์จากบุคคลที่ทรงเกียรติหลาย ๆ ท่าน ผู้จัดทำปัญหาพิเศษขอแสดงความขอบคุณอย่างสูงต่อผู้ที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำให้ปัญหาพิเศษสำเร็จลุล่วงได้ ดังต่อไปนี้

1. บิดา มารดา ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านปัจจัยต่าง ๆ และกำลังใจอย่างดียิ่ง
  2. อาจารย์ ดร.นवलพรรณ งามยี่สุน อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษซึ่งกรุณาให้คำปรึกษา ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์พร้อมทั้งเอื้อเฟื้อจัดหาสถานที่ทดลอง อุปกรณ์ และสารเคมีต่าง ๆ ตลอดจนการตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี
  3. อาจารย์ ดร.ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์ ซึ่งกรุณาให้ความช่วยเหลือในเรื่องการวิเคราะห์ผลทางสถิติ
  4. เจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตร ที่ได้อนุเคราะห์เชื้อ Papaya Ring Spot Virus (PRSV) บริสุทธิ์
  5. เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช ที่ให้ความสะดวกในด้านอุปกรณ์ต่าง ๆ
  6. เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่มีส่วนเกี่ยวข้องช่วยเป็นกำลังใจและให้การช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้
- และขอขอบคุณสำหรับทุก ๆ ท่านที่ไม่ได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้

วารุณี ลิขพงษ์กุล

ชื่อเรื่อง การทดสอบประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง  
The Effect of Antiviral Compound on Papaya Ring  
Spot Virus of Pumpkin In Vitro

โดย นางสาววารุณี ลิ้มพงษ์กุล

สาขา เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช ภาควิชา เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

คณะ เทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.นवलพรรณ งามยี่สุน

#### บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพสารยับยั้งเชื้อไวรัสใบด่างฟักทองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แบ่งการทดลองเป็น 3 ขั้นตอน ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการโรคพืช ภาควิชาเทคโนโลยี การจัดการศัตรูพืช และห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระหว่าง เดือนตุลาคม พ.ศ. 2536 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2537

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อทำความสะอาดชิ้นส่วนของต้นฟักทองที่ให้ผลดีที่สุดคือ ล้างด้วยน้ำสะอาดนาน 5 นาที แล้วล้างด้วย แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ฟอกด้วยสารละลาย clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของสารละลาย Tween 20 จำนวน 2 หยด เป็นเวลา 20 นาที สุดท้ายล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที สำหรับ

สารเร่งการเจริญเติบโต BA ที่ทำให้เกิดการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชของ เจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการเติม BA ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l ในอาหารตัดแปลง Murashige and skoog (1962) ให้ผลดีที่สุด ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสใบด่างพืชทอง โดยใช้สารเคมี 6-Azauracil ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันคือ 1, 10 และ 100 mg/l พบว่าที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวทำให้เกิดความเป็นพิษต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชทองที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(1)
สารบัญตารางภาคผนวก	(2)
สารบัญภาพภาคผนวก	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	7
ผลการทดลอง	16
สรุปผลการทดลอง	22
วิจารณ์ผลการทดลอง	23
เอกสารอ้างอิง	25
ภาคผนวก	29

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อรา และแบคทีเรีย ของชิ้นส่วนผักทองโดยวิธีการต่าง ๆ	17
2 แสดงค่าเฉลี่ยขนาด Callus (ซม.), ความสูงของต้น (ซม.) และจำนวนข้อที่แตกใหม่ (ข้อ) ของผักทองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	20

## สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางผนวกที่	หน้า
1 สูตรอาหารตัดแปลง Murashige and Skoog (1962)	29
2 แสดงค่าเฉลี่ยขนาด Callus (ซม.) แต่ละ treatment และค่าเฉลี่ยรวมของฟีกทองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	31
3 แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้น (ซม.) แต่ละ treatment และค่าเฉลี่ยรวมของฟีกทองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	33
4 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนข้อที่แตกใหม่ (ข้อ) แต่ละ treatment และค่าเฉลี่ยรวมของฟีกทองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	35
5 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติขนาด Callus ของฟีกทอง โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	37
6 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติความสูงของฟีกทองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	38
7 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนข้อที่แตกใหม่ของฟีกทอง โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	39

สารบัญภาพภาคผนวก

ภาพผนวกที่	หน้า
1 แสดงลักษณะใบพื้กทองปกติ	40
2 แสดงลักษณะใบด่างพื้กทองเนื่องจากได้รับการปลูกเชื้อ และถ่ายทอดเชื้อ Papaya Ring Spot Virus (PRSV)	41
3 แสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพื้กทองใบด่าง ในสารเร่งการเจริญเติบโต BA ในแต่ละระดับความเข้มข้น	42
4 แสดงการเปรียบเทียบผลของการใช้สารเคมี 6-Azaauracil เพื่อยับยั้งเชื้อไวรัสใบด่างพื้กทองในแต่ละความเข้มข้น	43

## คำนำ

ฟักทองเป็นพืชผักที่คนไทยนิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลายมานานแล้ว เพราะฟักทองสามารถนำไปประกอบอาหารได้หลายชนิดทั้งคาวและหวาน และเป็นพืชผักที่มีแคโรทีนสูง เมื่อรับประทานเข้าไปสารแคโรทีนก็จะเปลี่ยนเป็น วิตามินเอ ซึ่งช่วยบำรุงสายตา เนื้อฟักทองมีวิตามินเอ ถึง 2,220 หน่วยสากล ส่วนยอดฟักทองมีวิตามินเออยู่ถึง 2,780 หน่วยสากล ฟักทองมีชื่อภาษาอังกฤษว่า Pumpkin ชื่อวิทยาศาสตร์ Cucurbita pepo (Duck) Pair จัดอยู่ในวงศ์เดียวกับฟัก แฟง และแตงกวา คือ วงศ์ Cucurbitaceae เป็นไม้เถาอ่อน (ฉลองชัย 2528) จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไวรัสของพืชตระกูลแตง จำนวน 635 ตัวอย่างใน 10 จังหวัด ของภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2533 ถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2534 พบว่าไวรัสพวง Papaya Ring Spot Virus (PRSV) ระบาดในฟักทองถึง 62 เปอร์เซ็นต์ (กลุ่มงานไวรัสวิทยา กรมวิชาการเกษตร 2535) ซึ่งหากเราไม่หาวิธีการป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสตัวนี้ในฟักทองจะทำให้ผลผลิตลดลง และคุณภาพของผลไม้เป็นที่ต้องการของตลาด อีกทั้งยังสูญเสียคุณค่าทางสารอาหารได้ ดังนั้นการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดไวรัส แม้จะเป็นสิ่งที่ทำได้ยากมากเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคอื่น ๆ เช่น เชื้อรา และแบคทีเรีย แต่การศึกษาค้นคว้าหาสารเคมีและวิธีการใช้ที่เหมาะสมก็ยังเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อการป้องกันรักษาหรือช่วยให้พืชสามารถให้ผลผลิตได้ตามปกติ และนับตั้งแต่พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือเซลล์พืชให้เจริญและพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้ วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็นับเป็นเครื่องมือที่สำคัญอย่างหนึ่งในการศึกษาวิธีป้องกันกำจัดไวรัส ซึ่งจำเป็นจะต้องทำการทดลองในห้องปฏิบัติการก่อนการประยุกต์ไปใช้อย่างจริงจังในสภาพไร่ ทั้งนี้การป้องกันกำจัดไวรัสนั้นจะได้ผลหรือไม่ ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งความสามารถของพืชในการรับเอาสารเคมีไปกระตุ้นให้เกิดผลยับยั้งเชื้อไวรัส โดยสารเคมีนั้นไม่ทำอันตรายหรือสะสมในปริมาณมากจนเป็นพืชต่อพืช ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาและคำนวณปริมาณของสารเคมีที่จะใช้ รวมทั้งระยะเวลาการให้ เพื่อที่พืชจะมีความสามารถป้องกันหรือยับยั้งเชื้อไวรัสได้ตลอดเวลา

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวหนังของต้นผักทองใบด่าง
2. เพื่อศึกษาหาปริมาณของสารสีอร์โมนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นผักทองใบด่าง
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมี 6-Azauracil ในอัตราความเข้มข้นที่ต่างกันต่อการแพร่กระจายเชื้อไวรัส ในต้นผักทองที่เพาะเลี้ยงในสภาพปราศจากเชื้อ

### การตรวจเอกสาร

การกำจัดเชื้อไวรัสโดยใช้เทคนิคเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งมีการพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็วในพืชหลาย ๆ ชนิด โดยอาจนำสารเคมีหรือความร้อนเข้ามาช่วย Morel และ Martin (1952) ได้ทำการทดลองโดยกำจัดเชื้อไวรัสจากต้นรักเร่ โดยใช้ส่วน meristem tip ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และในปี 1955 ได้ทำการทดลองกับมันฝรั่ง เทคนิคทางการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นได้แพร่หลายมากในการผลิตพืชหลายชนิดให้ปราศจากเชื้อไวรัส โดยเทคนิคพื้นฐานนั้นจะต้องตัดเอาส่วนต่าง ๆ ที่เหมาะสมจากต้นแม่ที่ถูกรักษาเชื้อไวรัสเข้าทำลาย เอามาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากเชื้อ เมื่อเจริญเป็นต้นเล็ก ๆ แล้วจึงนำไปปลูกในดิน

สำหรับอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันจะใช้ Murashige and Skoog's Medium (1962) ซึ่งสามารถใช้กับพืชได้หลายชนิด (De Fossard 1976)

การใช้สารเคมีเข้ามาช่วยในการกำจัดเชื้อไวรัสนั้นได้มีการพยายามใช้สารเคมีในการกำจัดเชื้อไวรัส แต่ก็พบกับปัญหาเรื่องราคา และความเป็นพิษต่อพืช (Tomlinson 1982) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาสารเร่งการเจริญเติบโตของพืช (growth promoting) เช่น ไซโตไคนิน (cytokinins) โดยจะกำจัดเชื้อไวรัสในระหว่างที่ meristem tip เจริญบนอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Quak 1961) และในความเข้มข้นสูง ๆ จะกระตุ้นพืชอาศัยให้เจริญได้รวดเร็วมากกว่าการสังเคราะห์โปรตีนของไวรัส อย่างไรก็ตามทฤษฎีนี้มีหลักฐานในการทดลองไว้น้อยมาก (John stone และ Wods 1946)

Cohen และ Walkey (1978) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดไวรัสโดยทำการถ่ายถอดเชื้อไวรัส Cucumber Mosaic Virus (CMV) ลงบนต้นยาสูบ และนำส่วนของ meristem tip มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งมีอัตราความเข้มข้นของปริมาณฮอร์โมนไซโตไคนิน (cytokinins) และออกซิน (auxin) ในระดับที่แตกต่างกัน จากการทดลองนี้ได้แสดงให้เห็นว่า ปริมาณฮอร์โมนที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน สามารถลดการเจริญ และการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส แต่ไม่สามารถกำจัดเชื้อไวรัสให้หมดไปได้

Shepard (1977) Gassells และ Long (1980) รายงานว่าภายหลังที่ได้มีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารเคมีชนิดต่าง ๆ ที่มีผลต่อการกำจัดเชื้อไวรัส ต่อมาก็ได้พัฒนาการใช้สารเคมีพวกที่มีฤทธิ์ต่อต้านขบวนการเมตาบอลิซึมของไวรัสเช่น Virazole ตัวอย่างสารเคมีพวก Virazole ที่ใช้ได้แก่ Ribavirin [1,2,4-triazole-3-carboxamide syn Virazole] โดยนำส่วนของพืชที่ต้องการทดลองไปเลี้ยงบนอาหารที่มีสารนี้ผสมอยู่ และนำขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากอุณหภูมิสูงและสารเคมีที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อจะขัดขวางการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสในเนื้อเยื่อพืช ในขณะที่เนื้อเยื่อพืชมีการเจริญในอัตราสูงกว่า จึงทำให้เนื้อเยื่อพืชบางส่วนปลอดจากเชื้อ

Stone (1982) กล่าวว่าให้นำสารเคมีมาใช้ในการกำจัดเชื้อไวรัสในวิธีที่ทำแต่ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น เนื่องจากสารเคมีมีราคาแพงและอาจเกิดพิษกับพืชได้ สำหรับสารพวก Antiviral ตัวอย่างได้แก่ Adenine arabinosid (Syn.Vira A, Vidarabine) ได้ถูกนำมาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อไวรัสจากส่วน meristem tip ที่ตัดเชื้อ แต่ยังไม่พบกลไกการทำลายเชื้อไวรัสที่แน่ชัดยังต้องมีการศึกษาต่อไปอีก

Antonies และคณะ (1981) รายงานว่า ถึงแม้ว่า สารเร่งการเจริญเติบโตของพืช จะไม่สามารถกำจัดเชื้อไวรัสได้โดยตรง แต่จะมีผลในการกระตุ้นให้พืชเจริญได้เร็วกว่าอัตราการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัส

Pink และ Walkey (1984) รายงานว่า เทคนิคการทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ถูกพัฒนามาใช้สำหรับเพิ่มปริมาณพืชทองให้เร็วขึ้น โดยทำการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ซึ่งมีปริมาณของไคเนติน (kinetins) 2.5 mg/l และ IAA (3-indoleacetic acid) 8 mg/l หลังจากนั้นจึงย้ายส่วน meristem-tip มาเลี้ยงในอาหาร MS ซึ่งปริมาณของ BA (benzyladenine) 1 mg/l โดยไม่มีออกซิน (auxin) พบว่าพืชจะหึ่งรากออกมาในอาหารนั้นมากมาย จากรายงานยังได้กล่าวว่าพืชทอง (Cucurbita pepo L.) พันธุ์ Cinderella มีความต้านทานต่อเชื้อไวรัส เช่น Cucumber Mosaic Virus (CMV) แต่ไม่สามารถกำหนดขึ้นสำหรับความต้านทานนี้ได้

Shepard (1977) ได้มีการศึกษาสาร Antiviral ที่ชื่อว่า Virazole (1,2,4-triazole-3-carboxamide) ในการลดการติดเชื้อของเชื้อไวรัสในมันฝรั่ง (Potato Virus x) โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเซลล์ไร้ผนัง (protoplast) ของใบยาสูบ โดยทำการปลูกเชื้อ Potato Virus X (PVX) ลงในโปรโตพลาสต์ (protoplast) ของยาสูบจากนั้นจึงนำไปทดสอบการต้านเชื้อของ Virazole เนื่องจากสาร Virazole ในอัตราความเข้มข้นต่าง ๆ จากการศึกษพบว่าที่ความเข้มข้น 10 mg/l ของ virazole สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งได้อย่างกว้างขวางทั้งเชื้อไวรัสที่มี nucleic acid แบบ deoxyribonucleic acid (DNA) และ ribonucleic acid (RNA) เกี่ยวกับฤทธิ์ของ Virazole ยังพบหลักฐานไม่มากนัก จึงได้มีการค้นคว้าวิจัยต่อ ๆ มา

Huber และ Schuster (1992) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อไวรัส PVX ของสารประกอบในกลุ่มพิวรีน (purine) และไพริมิดีน (pyrimidine) โดยทำการปลูกเชื้อลงบนใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) ที่มีเชื้อไวรัส ทำให้เชื้อไวรัสไม่สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ สารประกอบเหล่านี้เช่น 6-azauracil, 8-azadenine, 8-azaguarine เป็นต้น

Hlademan และคณะ (1987) ได้ทำการทดลองหาประสิทธิภาพของเบนโนมิล (Benomyl) และไรแฟมพิซิน (Rifampicin) ซึ่งเป็นยาฆ่าเชื้อราและยาปฏิชีวนะตามลำดับในการป้องกันการเกิดปนเปื้อนเชื้อรา และแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืช 2 ชนิด คือ *Camellia sinensis* และ *C. japonica* โดยใช้ส่วนของลำต้นมาล้างน้ำที่ผสมด้วยสารละลาย Tween 20 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาทีแล้วนำมาล้างด้วยน้ำสะอาดนาน 5 นาที และนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว นาน 5 นาที ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของสารละลาย Tween 20 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ต่อจากนั้นทำการตัดให้มีขนาด ประมาณ 1.5-2.0 ซม.

แล้วนำไปเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS โดยใช้อัตราส่วนผสมของยาทั้งสองชนิด ดังนี้คือ เบนโนมิล (Benomyl) ในอัตราส่วน 1, 2 และ 4 g/l และ ไรฟมพิซิน (Rifampicin) ในอัตราส่วน 10, 25 และ 50 mg/l ใส่พร้อมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นก็นำมานับจำนวนเชื้อ จุลินทรีย์บนแผ่นโดยพบว่า C. sinensis เบนโนมิล (Benomyl) ที่ความเข้มข้น 1 g/l และ ไรฟมพิซิน (Rifampicin) ที่ความเข้มข้น 10 mg/l จะให้ประสิทธิภาพการป้องกันการปนเปื้อนดีที่สุด ส่วนใน C. japonica เบนโนมิล ที่ความเข้มข้น 4 g/l และ ไรฟมพิซิน ที่ความเข้มข้น 10 mg/l จะให้ประสิทธิภาพการป้องกันการปนเปื้อนดีที่สุด

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. อุปกรณ์

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง แบ่งเป็น

#### 1.1. อุปกรณ์ที่ใช้ในตู้ Laminar Flow :

ปากคีบ, มีดผ่าตัดเล็กพร้อมด้าม, นาฬิกาจับเวลา, ตะเกียงแอลกอฮอล์  
จานเลี้ยงเชื้อ, ไม้ขีดไฟ, บีกเกอร์ขนาด 300 ml

#### 1.2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อไวรัสใบด่างผักทอง :

เมล็ดผักทอง, กุญพลาสติกสีดำขนาด 8 x 16 ซม., ดิน, โกร่ง  
ใบผักทองที่เป็นโรคใบด่างจากเชื้อ Papaya Ring Spot Virus (PRSV)  
ปิเปต ขนาด 10 ml, กระดาษหนังสือพิมพ์

เชื้อ Papaya Ring Spot Virus (PRSV) บริสุทธิ์ ซึ่งได้รับ  
ความอนุเคราะห์จากกรมวิชาการเกษตร

#### 1.3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร :

บีกเกอร์ขนาด 50, 100, 500 และ 1000 ml, หม้อน้ำชาเชื้อ  
เครื่องชั่งไฟฟ้า, ไซลอนคนสาร, ไซลอนตักสาร, ขวดใส่อาหารขนาด 120 ml  
เครื่องวัด pH, ตะกร้า, กระบอกตวงขนาด 50 ml, 100 ml, 250 ml  
และ 1000 ml, ขวดปริมาตรขนาด 500 ml และ 1000 ml, ปิเปต  
ขนาด 0.5 ml, 1 ml, 5 ml และ 10 ml

- 1.4. สารเคมีที่ใช้ในการปลูกเชื้อและถ่ายทอดโรคใบด่างที่เกิดจากเชื้อ Papaya Ring Spot Virus (PRSV) บนผักทอง :

Buffer : Phosphate buffer ความเข้มข้น 0.10 โมลาร์

pH 7.0-7.5

ผง Celite 545

- 1.5. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

สารเคมีในสูตรตัดแปลงอาหาร Murashige and Skoog (1962)

(ตารางผนวกที่ 1)

สารเร่งการเจริญเติบโตของพืช

- BA (benzyladenine)

สารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส

- 6-Azauracil

- 1.6. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อบนชิ้นส่วนผักทอง

- Ethanol 70 เปอร์เซ็นต์

- Clorox 20 เปอร์เซ็นต์

- Tween 20

- Benomyl

## 2. วิธีการ

### 2.1. การปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อไวรัส Papaya Ring Spot Virus (PRSV)

นำเมล็ดฟักทองปลูกในถุงพลาสติกสีดำขนาด 8 x 16 ซม. ถุงละ 3-5 เมล็ด รดน้ำทุกวันจนเมล็ดงอกเป็นต้นใบเลี้ยงคลี่บานเต็มที่ซึ่งจะกินเวลาประมาณ 7 - 10 วัน หลังการเพาะเมล็ด จากนั้นทำการแบ่งต้นฟักทองออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกเป็นต้นฟักทองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ 25 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบกับกลุ่มที่สอง ซึ่งจะทำการปลูกเชื้อเป็นจำนวน 75 เปอร์เซ็นต์ การถ่ายทอดเชื้อไวรัสนี้เป็นการถ่ายทอดผ่านน้ำคั้น (sap transmission) โดยใช้น้ำคั้นจากฟักทองที่แสดงอาการใบด่าง เนื่องจากเชื้อไวรัสเข้าทำลายไปสู่ต้นฟักทองปกติ ก่อนการปลูกเชื้อไวรัส คลุมต้นฟักทองด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้พืชอ่อนแอต่อการเกิดโรคใบด่างฟักทอง และเมื่อครบกำหนดแล้วนำกระดาษหนังสือพิมพ์ที่คลุมออกล้างมือให้สะอาดก่อนทำการปลูกเชื้อ นำโกร่งแช่เย็นครบ 24 ชั่วโมงออกมา แล้วนำไปฟักทองที่เป็นโรคใบด่างจากเชื้อ PRSV ใส่ในโกร่ง เติมสารละลายบัพเฟอร์ในอัตราส่วนของใบต่อสารละลายบัพเฟอร์ 1 : 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) บดใบฟักทองให้ละเอียดโดยทำที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพของเชื้อ เติมผง Celite 545 ลงไปเล็กน้อยเพื่อทำให้พืชเกิดบาดแผลเชื้อไวรัสจะเข้าสู่ต้นฟักทองได้ง่าย หลังจากนั้นทำการปลูกเชื้อโดยใช้นิ้วมือจุ่มน้ำคั้นแล้วทาบนใบจากโคนใบสู่ปลายใบ และใช้มืออีกข้างรองรับใบพืชด้านล่าง เมื่อทาครบทุกต้นแล้วใช้น้ำล้างเศษพืชที่ติดบนใบฟักทองออก เพราะอาจเป็นมีพืชต่อต้นฟักทองได้ นำกระดาษหนังสือพิมพ์มาคลุมไว้ 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วนำกระดาษหนังสือพิมพ์ออก รดน้ำทุกวันพร้อมกับสังเกตอาการของโรคซึ่งจะเกิดภายใน 2-3 สัปดาห์

## 2.2. การเตรียมอาหาร

การเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง Murashige Skoog (1962) เตรียมจากสารละลายเข้มข้น (Stock solution) โดยนำสารประกอบแต่ละตัวมารวมกันแล้วเติมน้ำตาล 30 กรัม ต่อสารละลาย 1 ลิตร หลังจากนั้นปรับค่า pH ของอาหารให้เท่ากับ  $5.8 \pm 1$  ด้วย  $\text{NaOH}^{1M}$  หรือ  $\text{HCL}^{1M}$  เติมน้ำ 7 กรัมต่อสารละลาย 1 ลิตร และละลายวันโดยให้ความร้อน จากนั้นนำอาหารที่ได้กรอกใส่ขวดอาหาร ขนาด 120 ml ประมาณ 20-30 ml ต่อขวด และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที

## 2.3. การเตรียมชิ้นส่วนพืช

1. ตัดต้นพืชที่แสดงอาการใบต่างอย่างชัดเจน จากยอดลงมา 2-3 ข้อ ซึ่งเป็นข้อที่มีตาเพิ่งแตก ตัดใบทิ้งเหลือก้านใบที่โผล่พ้นข้อออกมาประมาณ 1-2 เซนติเมตร ตัดระหว่างข้อเป็นท่อน ๆ
2. นำชิ้นส่วนไปฟอกตามขั้นตอน ดังแสดงในการทดลองที่ 1
3. ใช้มีดตัดส่วนที่สัมผัสกับสารฟอกทิ้งให้หมด ซึ่งสุดท้ายจะได้ตาที่อยู่ระหว่างข้อปล้องมีขนาด 1-1.5 เซนติเมตร

## 2.4. สภาพห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของแสง 2500 lux โดยมีช่วงแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน

## 2.5. วิธีการทดลอง

### 2.5.1. การทดลองที่ 1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่มีต่อการทำความสะอาดชิ้นส่วนของปีกทอง

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อ ขึ้นตอนที่สำคัญขึ้นตอนหนึ่งคือการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืช ปีกทองเป็นไม้เถาอ่อนลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของใบและลำต้นจะมีขนปกคลุมอยู่มากมาย ดังนั้นอาจมีเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย ปนเปื้อนอยู่ ซึ่งถ้ามีการปนเปื้อนเข้าไปอยู่ในอาหารพร้อมกับเนื้อเยื่อก็จะสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้น และแย่งอาหารของเนื้อเยื่อพืชทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโตและตายได้ ฉะนั้นจึงต้องมีการศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมต่อการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของปีกทองแต่ละวิธีการดังนี้

วิธีการ ทำการทดลองดังวิธีการต่อไปนี้

วิธีการที่ 1 มีขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1. ล้างด้วยน้ำสะอาด นาน 5 นาที
2. ล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที
3. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย clorox ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ พร้อมกับหยดสารละลาย Tween 20 ลงไป 2 หยด นาน 10 นาที
4. ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

วิธีที่ 2 มีขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1. ล้างด้วยน้ำสะอาดนาน 5 นาที
2. ล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วินาที
3. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย clorox ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ พร้อมกับ  
หยดสารละลาย Tween 20 ลงไป 2 หยด นาน 20 นาที
4. ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

วิธีที่ 3 มีขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1. ล้างด้วยน้ำสะอาดนาน 5 นาที
2. ล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที
3. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ พร้อมกับ  
หยดสารละลาย Tween 20 ลงไป 2 หยด นาน 20 นาที
4. ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

วิธีที่ 4 มีขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1. ล้างด้วยน้ำสะอาดนาน 5 นาที
2. ล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที
3. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ พร้อมกับ  
หยดสารละลาย Tween 20 และสารละลายเบนโนมิลในปริมาณ 0.5 กรัมต่อ  
น้ำ 500 มิลลิลิตร นาน 20 นาที
4. ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการต่าง ๆ ไปเลี้ยงบนสูตร  
อาหารพื้นฐาน (ดังแสดงในข้อ 2.2) โดยในแต่ละวิธีการใช้อาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อจำนวน

30 ขวด

การบันทึกผล

บันทึกผลการปนเปื้อนเชื้อรา และแบคทีเรียของชิ้นส่วนผักทองทุก ๆ สัปดาห์

ประมาณ 4 สัปดาห์

2.5.2. การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของสารเร่งการเจริญเติบโตของพืชต่อการเจริญเติบโตของผักทอง

การเจริญเติบโตของพืชจะแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด ดังนั้นสารเร่งการเจริญเติบโตจึงมีส่วนสำคัญอย่างยิ่งในการเจริญของพืช ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชแตกต่างกัน (กัลยาณี และคณะ 2533) ได้ทำการศึกษากาษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain โดยนำปลายยอดของกล้วยขนาด 1 ลูกบาศก์นิ้ว มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลาย clorox ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที ตัดแบ่งตามความยาวออกเป็น 4 ส่วน เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ซึ่งเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และ BA 1 mg/l พบว่าเนื้อเยื่อมีการเพิ่มขนาดเปลี่ยนเป็นสีเขียว ตายอดและตาข้างที่อยู่ระหว่างชอกใบมีการเจริญเติบโตเป็นต้นกล้วยขนาดเล็กได้ภายในเวลา 2 เดือน ซึ่งในการทดลองนี้จะศึกษาหาระดับความเข้มข้น BA ที่เหมาะสมเพื่อที่จะได้นำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป มีขั้นตอนการทดลองดังนี้

ในการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 10 ซ้ำ 3 วิธีการ คือระดับความเข้มข้น BA 0.5, 1 และ 3 mg/l นำตามาเลี้ยงในสูตรอาหารพื้นฐานดังกล่าวแล้วในข้อ 2.2 แล้วเติมสารเร่งการเจริญเติบโตคือ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

การบันทึกผล

บันทึกการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนผักทอง โดยการวัดขนาด Callus, ความสูงของต้นและจำนวนข้อที่แตกใหม่ ทุกสัปดาห์ประมาณ 4-6 สัปดาห์

2.5.3. การทดลองที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพของสารยับยั้งการเจริญเติบโต  
ของไวรัสต่อการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสใบด่างฝักทอง

การศึกษาค้นคว้าหาสารเคมีในการป้องกันกำจัดไวรัสโดยใช้ร่วมกับวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นสิ่งจำเป็น จากการค้นคว้าได้นำสารเคมีจำพวก Antiviral คือ 6-Azauracil มาทำการทดลองซึ่งสารตัวนี้มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัสที่มี nucleic acid แบบ DNA (deoxyribonucleic acid) และ RNA (Ribonucleic acid) แต่การป้องกันกำจัดเชื้อไวรัสจะได้ผลหรือไม่ ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น สารเคมีมีราคาสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งความสามารถของพืชในการรับเอาสารเคมีไปกระตุ้นให้เกิดผลยับยั้งเชื้อไวรัส ซึ่งจะไม่ทำอันตรายหรือสะสมในปริมาณมากจนเป็นพิษต่อพืช ดังนั้นในการทดลองนี้จึงใช้ 6-Azauracil เพื่อต้องการทดสอบว่าในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารจะมีผลต่อชิ้นส่วนฝักทองที่เป็นโรคใบด่างหรือไม่ มีขั้นตอนการทดลองดังนี้

ในการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 20 ซ้ำ 3 วิธีการคือ 6-Azauracil 1, 10 และ 100 mg/l นำตามาเลี้ยงในสูตรอาหารที่ได้จากการทดลองที่ 2 แล้วเติมสารยับยั้งการเจริญเติบโตของไวรัส คือ 6-Azauracil ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

การบันทึกผล

บันทึกการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนฝักทอง โดยการวัดขนาด Callus, ความสูงของต้นและจำนวนข้อที่แตกใหม่ ทุกสัปดาห์ประมาณ 4-6 สัปดาห์ และตรวจการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส ในแต่ละใบตามตำแหน่งจากยอดลงมา

3. เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

<u>เวลา</u>	เริ่มการทดลอง	ตุลาคม พ.ศ. 2536
	สิ้นสุดการทดลอง	มีนาคม พ.ศ. 2537
<u>สถานที่</u>	ห้องปฏิบัติการโรคพืช ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช และ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 : การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่มีต่อการทำความสะอาดชิ้นส่วนของปีกทอง

จากการทดลองพบว่า การทำความสะอาดชิ้นส่วนโดยการล้างด้วยน้ำสะอาดนาน 5 นาที ล้างด้วย แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ฟอกด้วยสารละลาย Clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของสารละลาย Tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที จะให้ค่าเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียของชิ้นส่วนน้อยที่สุด เท่ากับ 31.33 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) ฉะนั้นในการทดลองขั้นตอนต่อไปจึงควรใช้วิธีการดังกล่าวในการฟอกฆ่าเชื้อทำความสะอาดชิ้นส่วนปีกทอง นอกจากนั้นจากการทดลองพบว่า การใส่สารเบนโซนิลผสมสารละลาย Clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของสารละลาย Tween 20 จำนวน 2 หยด ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนปีกทอง ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียเลยแต่ชิ้นส่วนของปีกทองไม่เจริญเติบโตและซีดขาว (ตารางที่ 1) จึงไม่สามารถนำวิธีการนี้ไปใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไปได้

ตารางที่1 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียของชิ้นส่วนผักทอง  
โดยวิธีการต่างๆ

วิธีการที่	จำนวนชิ้นส่วน เริ่มต้น	จำนวนชิ้นส่วนที่ปนเปื้อน ในแต่ละสัปดาห์				รวมจำนวนชิ้น ส่วนที่ปนเปื้อน	เปอร์เซ็นต์ชิ้น ส่วนที่ปนเปื้อน
		1	2	3	4		
1	30	14	6	3	2	25	81.33
2	30	10	4	4	-	18	60.00
3	30	7	3	-	-	10	31.00
4	30	0	0	0	0	0	0

การทดลองที่ 2 : การศึกษาผลของสารเร่งการเจริญต่อการเจริญเติบโตของพืชทอง

จากการศึกษาผลของสารเร่งการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตของพืชทองโดยการวัดขนาด Callus, ความสูงของต้น และจำนวนข้อที่แตกใหม่ที่ระดับความเข้มข้นของ BA 0.5, 1 และ 3 mg/l ปรากฏผลดังนี้

ขนาด Callus

จากการทดลองพบว่า ความเข้มข้น BA 3 mg/l ให้ค่าเฉลี่ยขนาด Callus มากที่สุด เท่ากับ 1.33 เซนติเมตร รองลงมาคือความเข้มข้น BA 1 mg/l และความเข้มข้น BA 0.5 mg/l ให้ค่าเฉลี่ยขนาด Callus เท่ากับ 1.10 และ 0.56 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2) จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ความเข้มข้น BA 3 mg/l และความเข้มข้น BA 1 mg/l ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จะมีความแตกต่างกับความเข้มข้น BA 0.5 mg/l อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2, ตารางผนวกที่ 5)

ความสูงของต้น

จากการทดลองพบว่า ความเข้มข้น BA 0.5 mg/l ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้น มากที่สุดเท่ากับ 1.47 เซนติเมตร รองลงมาคือความเข้มข้น BA 3 mg/l และความเข้มข้น BA 1 mg/l ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นเท่ากับ 1.01 และ 0.69 เซนติเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 2) จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าความเข้มข้น BA 0.5 mg/l มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับความเข้มข้น BA 1 mg/l และความเข้มข้น BA 3 mg/l (ตารางที่ 2, ตารางผนวกที่ 6)

### จำนวนข้อที่แตกใหม่

จากการทดลองพบว่า ความเข้มข้น BA 1 mg/l และความเข้มข้น BA 3 mg/l ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนข้อที่แตกใหม่มากเท่ากันคือ 1.90 ข้อ รองลงมาคือความเข้มข้น BA 0.5 mg/l ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนข้อที่แตกใหม่เท่ากับ 1.80 ข้อ (ตารางที่ 2) จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าความเข้มข้น BA ทั้ง 3 ระดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2, ตารางผนวกที่ 7)

ในการทดลองขั้นต่อไป ควรเลือกใช้ความเข้มข้น BA 0.5 mg/l เพราะขึ้นส่วนฟักทองเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ และให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นมากที่สุด

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยขนาด Callus (ซม.), ความสูงของต้น (ซม.) และจำนวนข้อที่แตกใหม่ (ข้อ) ของพืชทองโศภวิธิการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ความเข้มข้นของ BA (mg/l)	ค่าเฉลี่ย		
	ขนาดของ Callus (ซม.)	ความสูงของต้น (ซม.)	จำนวนข้อที่แตกใหม่ (ข้อ)
0.5	0.56 b	1.47 a	1.8 a
1.0	1.10 a	1.01 b	1.8 a
3.0	1.33 a	0.69 c	1.8 a

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ  
ถ้าตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ  
ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

การทดลองที่ 3 : การศึกษาประสิทธิภาพของสารยับยั้งการเจริญเติบโตของไวรัสต่อการ  
แพร่กระจายของเชื้อไวรัสในต่างฟักทอง

จากการทดลองพบว่าการเจริญเติบโตของขึ้นส่วนฟักทองในสัปดาห์ที่ 1 ของแต่ละ  
ความเข้มข้น ของ 6-Azauracil ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง ต่อมาในสัปดาห์ที่ 2 ความเข้มข้น  
ของ 6-Azauracil ที่ 100 mg/l ลำต้นจะซีดขาวไม่เจริญเติบโต จนกระทั่งถึงสัปดาห์ที่ 6 ยัง  
คงไม่พบการเปลี่ยนแปลง ส่วนที่ความเข้มข้นของ 6-Azauracil 10 mg/l และ 1 mg/l  
พบว่าส่วนปลายของต้นมีสีเหลือง ส่วนบริเวณอื่น ๆ ยังคงมีสีเขียวอยู่บ้างประปราย จนกระทั่งถึง  
สัปดาห์ที่ 6 ยังคงไม่มีการเจริญเติบโตแต่อย่างใด เมื่อเปรียบเทียบกับขึ้นส่วนของฟักทองที่ไม่ได้  
ใส่ 6-Azauracil (ภาพผนวกที่ 4)

สำนักงานเทคโนโลยีการเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า  
เจ้าพระยาวิทยาเขตบางเขน

### สรุปผลการทดลอง

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อทำความสะอาดชิ้นส่วนของปีกทองที่ให้ผลดีที่สุดคือ การล้างด้วยน้ำสะอาด 5 นาที แล้วล้างด้วย แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ฟอกด้วยสารละลาย Clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของสารละลายของ Tween 20 ประมาณ 2 หยด เป็นเวลา 20 นาที สุดท้ายล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที สำหรับสารเร่งการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนปีกทองเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์มากที่สุดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่าการใช้สูตรอาหาร MS ดัดแปลง และเติม BA ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l ให้ผลดีที่สุด ส่วนการใช้สารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสคือ 6-Azauracil ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 mg/l พบว่าลำต้นไม่เจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์จึงไม่สามารถเปรียบเทียบอาการของโรคได้

### วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองที่ 1 พบว่าวิธีการที่ 3 ที่ล้างด้วยน้ำสะอาด 5 นาที แล้วล้างด้วย แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที และฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของสารละลาย Tween 20 ประมาณ 2 หยดเป็นเวลา 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที จะสามารถฟอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนได้ดีกว่าวิธีการอื่น ๆ ส่วนสาเหตุของการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรีย ส่วนมากเกิดจากเชื้อรา ซึ่งจะปรากฏเป็นกลุ่มเส้นใยสีดำ หรือสีเทาหรือรอบ ๆ ขึ้นส่วนพืชหรือบนชิ้นส่วนพืชและเชื้อแบคทีเรีย ที่เกิดขึ้นนั้นจะมีสีขาวขุ่น หรือสีเหลืองอ่อน มีลักษณะเป็น colony กลม ๆ เกิดรอบ ๆ ฐานของชิ้นส่วนพืชหรือบริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ถึงแม้จุลินทรีย์ที่ผิวของชิ้นส่วนพืชจะมีอยู่มาก ก็สามารถทำการฆ่าเชื้อได้ง่าย แต่ก็มีบางชนิดแฝงอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืช ในกรณีนี้การฆ่าเชื้อที่ผิวจะไม่ได้ผลจึงต้องใช้วิธีผสมยาปฏิชีวนะหรือยาฆ่าเชื้อราลงไปในการเลี้ยงเชื้อ ดังการทดลองของ Haldeman และคณะ (1987) ได้ทำการทดลองหาประสิทธิภาพของเบนโนมิล (Benomyl) และไรแฟมพิซิน (Rifampicin) ซึ่งเป็นยาฆ่าเชื้อราและยาปฏิชีวนะตามลำดับ ในการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืช 2 ชนิด คือ Camellia sinensis และ C. japonica โดยใส่สารเคมีลงไปพร้อมอาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อพบว่า C. sinensis ที่ความเข้มข้น 1 mg/l ของเบนโนมิล (Benomyl) และที่ 10 mg/l ของไรแฟมพิซิน (Rifampicin) จะให้ประสิทธิภาพการป้องกันการปนเปื้อนดีที่สุด ส่วนใน C. japonica ที่ความเข้มข้น 4 mg/l ของเบนโนมิล (Benomyl) และที่ 10 mg/l ของไรแฟมพิซิน (Rifampicin) จะให้ประสิทธิภาพการป้องกันการปนเปื้อนดีที่สุด โดยที่สารเคมีนั้นไม่เป็นพิษกับพืช และจากการทดลองนี้ก็นำวิธีการมาปรับใช้กับการฟอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนพืชของใบต่าง โดยใช้ เบนโนมิล (Benomyl) ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อน้ำ 500 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย Clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ที่มีส่วนผสมของสารละลาย Tween 20 ประมาณ 2 หยด นำมาทำการฟอกฆ่าเชื้อพบว่าไม่มีการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรีย แต่

ลำต้นขีดขาวไม่เจริญเติบโตทั้งนี้อาจเป็นเพราะฟักทองเป็นไม้เถาที่มีเนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม และเมื่อเติมเบนโนมิล (Benomy) ลงไปทำปฏิกิริยาร่วมกับสารละลาย Clorox ซึ่งเป็นสารฟอกฆ่าเชื้อ จึงทำให้มีความรุนแรงในการฟอกฆ่าเชื้อมากยิ่งขึ้น และเกิดการสะสมในปริมาณมากจนเป็นพิษต่อขึ้นส่วนฟักทองทำให้ฟักทองขีดขาวไม่เจริญเติบโตจึงไม่สามารถนำวิธีการนี้ไปใช้ในการทดลองขึ้นต่อไปได้

จากผลการทดลองที่ 2 พบว่าสารเร่งการเจริญเติบโต BA มีผลต่อการชักนำทำให้เกิดการเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้โดยเฉพาะสารเร่งการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l ทั้งนี้ตรงกับผลการทดลองของ Hussey (1976) ซึ่งได้กล่าวว่านอกจากสารเร่งการเจริญเติบโต BA จะกระตุ้นให้ตาข้างมีการเจริญเติบโตและการพัฒนาไปเป็นยอดจำนวนมาก แล้วยังไปยับยั้งการเจริญเติบโตของรากด้วย ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าต้นฟักทองเป็นพืชที่มีความทนทานต่อสารเร่งการเจริญเติบโต BA ในระดับความเข้มข้นที่ไม่สูงนัก เมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น ๆ เช่น กล้าย ซึ่งจะมีการเกิดหน่อได้มากที่สุดเมื่อใช้สารเร่งการเจริญเติบโต BA ในระดับความเข้มข้น 5 mg/l (ประภาสินี 2529) ฉะนั้นในการที่จะนำ BA มาใช้กับพืชพวกฟักทองจึงไม่ควรใช้ในระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไป

และจากการทดลองที่ 3 นั้น เมื่อเติม 6-Azauracil ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10 และ 100 mg/l พบว่าทำให้ขึ้นส่วนไม่มีการเจริญเติบโตและแตกตาข้างเมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุมซึ่งสามารถเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ ซึ่งรายงานของ Tomlinson (1982) กล่าวว่า การใช้สารเคมีเข้ามาช่วยในการกำจัดเชื้อไวรัสนั้นได้มีการพยายามแต่ก็พบกับปัญหาเรื่องราคาและความเป็นพิษต่อพืชเอง ดังนั้นจากการทดลองนี้ จึงเป็นไปได้ที่สารเคมี 6-Azauracil อาจมีปริมาณมากเกินไปจนทำให้เกิดการสะสมในฟักทองและฟักทองไม่สามารถรับเอาสารเคมีไปกระตุ้นให้เกิดผลยับยั้งไวรัสได้ ซึ่งต้องมีการทดลองและศึกษาปริมาณและชนิดของสารเคมีที่ใช้ให้เหมาะสมเพื่อที่จะไม่เป็นอันตรายต่อขึ้นส่วนฟักทองอีกต่อไปในห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

กัลยาณี อรรถฉัตร, กวีศ วานิชกุล และจุฬภาค คุ่มวงศ์. 2533. การเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นของต้นกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารวิชาการเกษตรศาสตร์. 8 : 2-9.

ฉลองชัย จันทร์เพ็ญ. 2528. กู้เงินแหล่งผลิตพืชของเนื้อดีของศรีสะเกษ. วารสารข่าวเกษตร 51. 17-18.

ประภาสินี รตโนภาส. 2529. เทคนิคการขยายพันธุ์กล้วยโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Antonies. J.F. Kaeh, J.S.H., Walkey D.B.A. and White, R.F. 1981. The presence of pathogenesis-related protein in callus of Xanthi-tobacco-Phytopathol, Z-101 : 179-181.

Cassells, A.C. and Long, R.D. 1980. The regeneration of virusfree plant from cucumber mosaic virus and potato virus Y infected tobacco explants culture in the presence of virazal. Zeitsch Nature, 35 C : 350-351.

Chiyoichi Noda, เครือพันธุ์ กิตติปรภณ, พัน อินทร์จันทร์, ลักษณะ วรณภีร์ และ นวลจันทร์ ดีมา. 2535. การแพร่กระจายของไวรัสพีชตระกูลแดงและปฏิกริยาของพีชตระกูลแดงต่อไวรัสบางชนิด. เอกสารการประชุมวิชาการเกษตร.

Cohen, D. and Walkey, D.G.A. 1978. Unpublished results.

De Fossard, R.A. 1976. Tissue culture for plant propagators.  
University of New Zealand.

Haldeman, J.H., Thomas, R.L. and Mckamy, D.L., 1987. Use of benmyl and  
Erifampicin for in vitro shoot tip culture of Camellia  
sinensis and C. japonica. Hortscience, 22 : 306-307.

Huber, -s.; and Schuster, -G. 1992. Investigations on the inhibitory  
activities of purine and pyrimidine base analogues against  
potato virus X as well as on the site of action in the virus  
replication cycle. Zeitschrift-fuer-Pflanzenkran-kheiten and  
Pflanzenschutz, 99(3) : 319-329.

Hussey. G. 1976. Plantlet regeneration from callus and parent tissue  
in Ornithogalum Thyrosoides. J.Exp. Bot. 27 : 375.

Jelaska, C. 1974. Embryogenesis and organogenesis in Pumpkin explants.  
Physiol Plant, 31 : 256-261.

Johnstone, G.R. and Wade, G.C. 1974 b. Therapy of virus infected  
plants by heat treatment. II. Host protein systhesis and  
multiplication of tomato aspermy virus at 36 C Aust J Bot,  
22 : 451-460.

Maugh, T.H., II. 1976. Chemotherapy: antiviral agents come of age. Science, 192 : 128-132.

Morel, G.M. and Martin, G. 1952. Guerison de daklias atteints d'une maladie a virus. CR Hebd Seances Acad Sci. 235; 1324-1325.

Morel, G.M. and Martin, C. 1955. Guerison de pommes de terre atteints de maladies a virus. CR Hebd Seances Acad Agric, 41 : 472-475.

Murashige T. Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15 : 473-496.

Pink DAC and Walkey DGA. 1984. Rapid propagation of Cucurbita pepo L. by culture of meristem tip. Scientia Hart, 24 : 107-114.

Quak, P. 1961. Heat treatment and substance inhibiting virus multiplication meristem culture to obtain virusfree plants. Adv. Hart Sci Appl, 1; 144-149.

Shepard, J.F. 1977. Regeneration of plants From protoplasts of potato virus X infected tobacco leaves. It Influence of virazole in the frequency of infection. Virol, 78 : 261-266.

Stone, O.M. 1982. The elimination of far viruses from Ullucus tuberosus by meristem-tip culture and chemotherapy. Ann Appl Biol, 101 : 79-83.

Tomlinson, J.A. 1982. Chemotherapy of plant viruses and Virus disease. In Pathogens, Vectors and plant diseases (ed. Harris, K. F. and Maramorosch, K.). Academic press, London; 23-44.

Walkey, D.G.A. and Cooper, V.C. 1972. Some factors affecting the behavior of plant viruses in tissue culture. *Physiol Plant*, 2 : 259-264.

ตารางผนวกที่ 1 สูตรอาหารที่ดัดแปลงของ Murashige and Skoog (1962)

Stock solution	Ingredient	Amount (mg)	ML of stock solution per litre of medium multiplication
A:Macro 1 <sup>2</sup>	KNO <sub>3</sub>	95000	20
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	82500	
	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	22000	
B:Macro 2 <sup>2</sup>	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	18500	20
C:Macro 3 <sup>2</sup>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	8500	20
D:Micro <sup>3</sup>	MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	1690	1
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	620	
	KI	83	
	ZnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	860	
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	25	
	CUSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	2.5	
	COCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	2.5	

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ) สูตรอาหารดัดแปลงของ Murashige and Skoog (1962)

Stock solution	Ingredient	Amount (mg)	ML of stock solution per litre of medium multiplication
E:Fe Stock <sup>4</sup>	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	2785	5
	Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	3725	
F:Vitamins and amino acids <sup>3</sup>	Glycine	200	1
	Thiamine.HCl	40	
	Pyridoxin.HCl	50	
	Nicotinic acid	50	

ตารางผนวกที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยขนาด Callus (ซม.) แต่ละ Treatment และค่าเฉลี่ยรวม  
ของพืชทองโศยวิธิการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Treatment	ความเข้มข้น BA (mg/l)		
	0.5	1.0	3.0
1	0.50	1.00	1.50
2	0.70	1.20	1.60
3	0.80	1.30	1.70
4	0.60	1.00	1.30
5	0.50	0.90	1.40
6	0.50	1.00	1.50
7	0.80	1.20	1.40
8	0.70	1.30	1.50

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ) แสดงค่าเฉลี่ยขนาด Callus (ซม.) แต่ละ Treatment และค่าเฉลี่ยรวมของฟักทองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Treatment	ความเข้มข้น BA (mg/l)		
	0.5	1.0	3.0
9	0.50	1.10	1.40
10	0.80	1.00	1.60
เฉลี่ย	0.56	1.10	1.33

ตารางผนวกที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้น (ซม.) แต่ละ Treatment และค่าเฉลี่ยรวมของฟักทองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Treatment	ความเข้มข้น BA (mg/l)		
	0.5	1.0	3.0
1	1.00	0.80	1.00
2	1.50	0.70	0.90
3	2.00	0.60	1.10
4	1.50	0.60	0.80
5	1.80	0.80	1.20
6	2.00	0.70	1.10
7	1.30	0.80	0.80
8	1.50	0.60	0.90

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ) แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้น (ซม.) แต่ละ Treatment และค่าเฉลี่ยรวมของฟักทองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Treatment	ความเข้มข้น BA (mg/l)		
	0.5	1.0	3.0
9	1.00	0.70	1.30
10	1.10	0.60	1.00
เฉลี่ย	1.47	0.69	1.01

ตารางผนวกที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนข้อที่ตกใหม่ (ข้อ) แต่ละ Treatment และค่าเฉลี่ยรวมของฟังก์ทงโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Treatment	ความเข้มข้น BA (mg/l)		
	0.5	1.0	3.0
1	1.00	2.00	2.00
2	1.00	2.00	3.00
3	2.00	2.00	1.00
4	2.00	1.00	3.00
5	2.00	1.00	2.00
6	3.00	3.00	2.00
7	1.00	1.00	2.00
8	1.00	2.00	1.00

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ) แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนข้อที่แตกใหม่ (ข้อ) แต่ละ Treatment และค่าเฉลี่ยรวมของฟักทองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Treatment	ความเข้มข้น BA (mg/l)		
	0.5	1.0	3.0
9	3.00	2.00	2.00
10	2.00	3.00	2.00
เฉลี่ย	1.80	1.90	1.90

ตารางผนวกที่ 5 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติขนาด Callus ของฟักทองโดยวิธี  
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Source	df	SS	MS	F-cal
Treatment	2	3.125	1.562	15.367**
Ex.Error	27	2.745	0.102	
Total	29	5.870	0.202	

\*\* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ

CV = 31.99%

ตารางผนวกที่ 6 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติความสูงของพีกทองโดยวิธี  
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Source	df	SS	MS	F-cal
Treatment	2	3.075	1.537	25.959**
Ex.Error	27	1.599	0.059	
Total	29	4.674	0.161	

\*\* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ

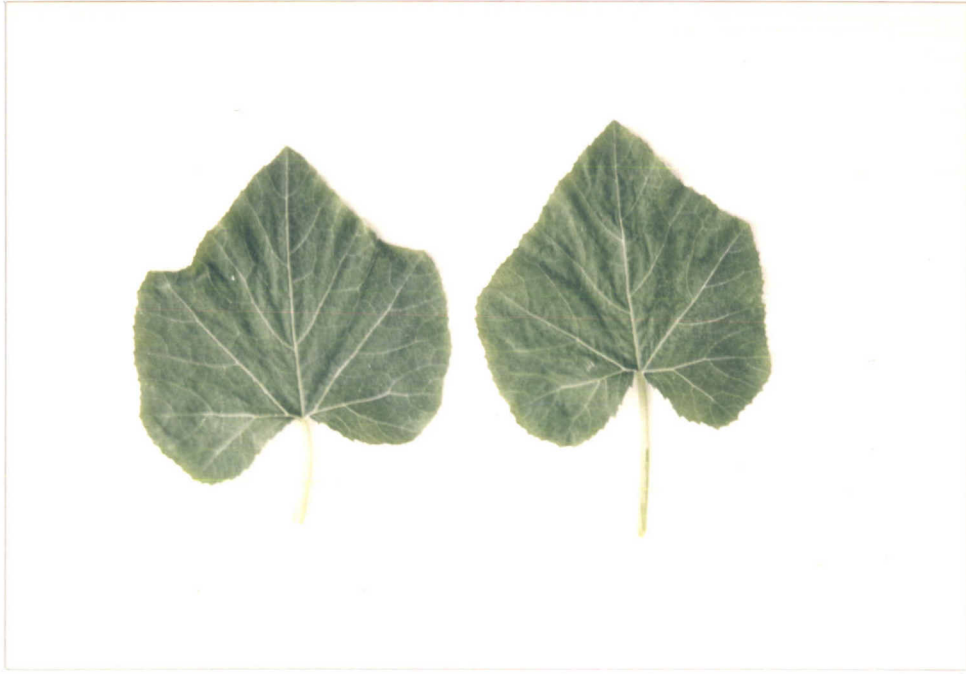
CV = 23.03%

ตารางผนวกที่ 7 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนข้อที่แตกใหม่ของฟักทองโดยวิธี  
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Source	df	SS	MS	F-cal
Treatment	2	0.067	0.033	0.058 <sup>ns</sup>
Ex. Error	27	15.400	0.570	
Total	29	15.467	0.533	

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

CV = 40.46%



ภาพผนวกที่ 1 แสดงลักษณะใบฟักทองปกติ



ภาพผนวกที่ 2 แสดงลักษณะใบต่างฟักทองเนื่องจากได้รับการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อ  
Papaya Ring Spot Virus (PRSV)



a

b

c

a : BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l

b : BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/l

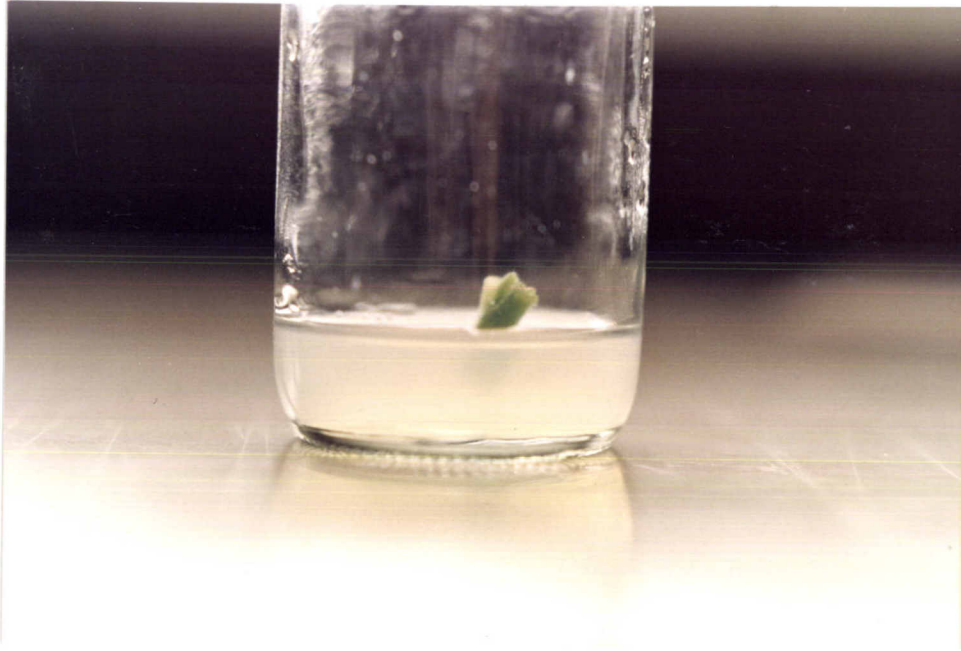
c : BA ที่ระดับความเข้มข้น 3.0 mg/l

ภาพที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชของใบต่างในสารเร่งการเจริญเติบโต BA ในแต่ละระดับความเข้มข้น

ภาพผนวกที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบผลของการใช้สารเคมี 6-Azauracil เพื่อยับยั้งเชื้อไวรัสใบด่างฟักทองในแต่ละความเข้มข้น



6-Azauracil ที่ระดับความเข้มข้น 0 mg/l (Control)



6-Azauracil ที่ระดับความเข้มข้น 1 mg/l



6-Azauracil ที่ระดับความเข้มข้น 10 mg/l



6-Azauracil ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/l