

1508:

14679



ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อราสำหรับการเพาะเลี้ยงเฮลิคโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ
Use of Antibiotics and Fungicide for *In Vitro* Culture of Heliconia

โดย

นางสาว พิชรินทร์ แซ่ลิ่ม

ได้พิจารณาเห็นชอบจาก

(อาจารย์ ดร.สุเมธ อรัญนารณ)

อาจารย์ที่ปรึกษา



ภาควิชารับรองแล้ว

(อาจารย์ ปัญญา โพนฐิติรัตน์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 9 เดือน ๕ ค. พ.ศ. ๒๕๓๗

รพ.
พ 523 กช
๕๕๘๗



เรื่อง



T100435

การใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อราสำหรับการเพาะเลี้ยงเฮลิโคนีในสภาพปลอดเชื้อ
 Use of Antibiotics and Fungicide for *In Vitro* Culture of Heliconia

โดย

นางสาว พิชรินทร์ แซ่ลิ่ม

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผ.พ.

พ523ก

2527

อาจารย์ ดร.สุเม อวิญนารณ

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 100435

วัน เดือน ปี..... 18 JUN 2009

เสนอ

ภาควิชา เทคโนโลยีการผลิตพืช คณะ เทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2537

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร.สุเม อรัญนารณ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่เคารพที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำตลอดจนช่วยแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆ อีกทั้งยังช่วยแก้ไขปัญหาพิเศษเล่มนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมทั้งข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คณาจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ทุก ๆ ท่านที่กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือ และที่ขาดเสียมิได้ คือ คุณพ่อและคุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนและช่วยเหลือทางด้านปัจจัย เงินทอง ตลอดจนให้กำลังใจในการทำปัญหาพิเศษเล่มนี้

ท้ายที่สุดนี้ข้าพเจ้าขอขอบคุณ พี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ และ คุณ ชีรวัฒน์ เลิศลอยปัญญาศัย ที่กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือเป็นกำลังกายและกำลังใจ และขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อันเป็นสถานศึกษาและมีส่วนช่วยให้ปัญหาพิเศษของข้าพเจ้าสำเร็จสมบูรณ์

นางสาว พิชรินทร์ แซ่ลิ้ม

Abstact

Antibiotics and fungicide were studied in order to eliminate contamination for *in vitro* culture of *Heliconia spp.* (*H. sticta* and *H. densiflora*). Terminal and axillary buds were cultured on modified MS medium (MS 1962) with 150 ml/l coconut water and 5 mg/l BA containing various concentration of rifampicin, cefotaxime and benomyl. It was found that *H. sticta* performed 33.33 % clean explants and 22.22 % viable explants when they were cultured on media containing 50 mg/l benomyl and rifampicin resulted in toxicity and abnormal growth of explants. *H. densiflora* also showed 33.33 % clean explants when they were cultured on media supplemented with 50 mg/l benomyl and 50 mg/l cefotaxime but 25 % viable explants were achieved. The maximum scores of growth were obtained when viable explants were transferred to media without antibiotic and fungicide.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	(ก)
สารบัญภาพ	(ค)
สารบัญภาคผนวก	(ง)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	
- อุปกรณ์	7
- วิธีการ	8
ผลการทดลอง	16
วิจารณ์ผลการทดลอง	33
สรุปผลการทดลอง	36
เอกสารอ้างอิง	37

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการปนเปื้อนของ ชิ้นส่วนของ <i>H. sticta</i> เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์	17
ตารางที่ 2 ผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการปนเปื้อนของ ชิ้นส่วนของ <i>H. sticta</i> เมื่อชิ้นส่วนอายุ 8 สัปดาห์	18
ตารางที่ 3 ผลของการย้ายชิ้นส่วนขึ้นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี Rifampicin ร่วม กับ Benomyl ที่มีผลต่อการปนเปื้อนของชิ้นส่วนของ <i>H. sticta</i> เมื่อชิ้นส่วนอายุ 12 สัปดาห์	20
ตารางที่ 4 แสดงการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหลังจากย้ายลงใน ที่ไม่มี Rifampicin และ Benomyl เมื่ออายุ 12 สัปดาห์	21
ตารางที่ 5 ผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการปนเปื้อนและ การเจริญเติบโตของชิ้นส่วน เมื่ออายุ 4 สัปดาห์	23
ตารางที่ 6 ผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการตายของชิ้น ส่วน เมื่ออายุ 4 สัปดาห์	24
ตารางที่ 7 ผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการปนเปื้อนและ การเจริญเติบโตของชิ้นส่วน เมื่ออายุ 7 สัปดาห์	26

- ตารางที่ 8 ผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการตายของชิ้นส่วน เมื่ออายุ 7 สัปดาห์ 27
- ตารางที่ 9 ผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน เมื่ออายุ 7 สัปดาห์ 28
- ตารางที่ 10 แสดงการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหลังจากย้ายลงในที่ไม่มี Cefotaxime และ Benomy เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ 31
- ตารางที่ 11 แสดงการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี Cefotaxime และ Benomy เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ 32

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แสดงการเจริญเติบโตของตา <i>H. sticta</i> ที่เลี้ยง ในอาหารสูตรดัดแปลง MS ที่มี BA 5 mg/l และ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่ระดับต่าง ๆ เมื่ออายุ 8 สัปดาห์	11
ภาพที่ 2 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตา <i>H. densiflora</i> ที่เลี้ยง ในอาหารสูตรดัดแปลง MS ที่มี BA 5 mg/l และ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่ระดับต่าง ๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์	14
ภาพที่ 3 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตา <i>H. densiflora</i> ที่เลี้ยง ในอาหารสูตรดัดแปลง MS ที่มี BA 5 mg/l และไม่มี Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl เมื่ออายุ 12 สัปดาห์	15

สารบัญภาคผนวก

	หน้า
ตารางที่ 1 สูตรอาหารดัดแปลง Murashige & Skoog (1962)	39
ตารางที่ 2 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl 40 ที่มีต่อการปนเปื้อนของ <i>H. sticta</i> เมื่ออายุ 4 สัปดาห์	
ตารางที่ 3 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl 41 ที่มีต่อการปนเปื้อนของ <i>H. sticta</i> เมื่ออายุ 8 สัปดาห์	
ตารางที่ 4 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของการย้ายชิ้นส่วนลงอาหารที่ไม่มี 42 Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนของ <i>H. sticta</i> เมื่ออายุ 12 สัปดาห์	
ตารางที่ 5 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl 43 ที่มีต่อการปนเปื้อนของ <i>H. densiflora</i> เมื่ออายุ 4 สัปดาห์	
ตารางที่ 6 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl 44 ที่มีต่อการปนเปื้อนของ <i>H. densiflora</i> เมื่ออายุ 7 สัปดาห์	
ตารางที่ 7 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของการย้ายชิ้นส่วนลงอาหารที่ไม่มี 45 Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนของ <i>H. densiflora</i> เมื่ออายุ 12 สัปดาห์	

ตารางที่ 8 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl 46
ที่มีต่อการเจริญเติบโตของ *H. densiflora* เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

ตารางที่ 9 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl 47
ที่มีต่อการเจริญเติบโตของ *H. densiflora* เมื่ออายุ 7 สัปดาห์

ตารางที่ 10 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของการย้ายชิ้นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี 48
Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการเจริญเติบโตของ
H. densiflora เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

ตารางที่ 11 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl 49
ที่มีต่อการตายของ *H. densiflora* เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

ตารางที่ 12 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl 50
ที่มีต่อการตายของ *H. densiflora* เมื่ออายุ 7 สัปดาห์

ตารางที่ 13 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของการย้ายชิ้นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี 51
Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการตายของ
H. densiflora เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

คำนำ

เสลิวโคเนีย เป็นพืชในตระกูล Heliconiaceae กำลังเป็นที่ได้รับความนิยมภายในประเทศ จึงได้มีการนำพันธุ์ใหม่ ๆ เข้าจากต่างประเทศเนื่องจากช่อดอกมีสีสวย ดอกบานทน จึงมีผู้นำช่อดอกที่มีลักษณะดังกล่าวมาปลูกเป็นไม้ตัดดอกและบางพันธุ์ที่มีช่อดอกขนาดใหญ่จึงนำไปปลูกเป็นพรรณไม้ประดับประเภท garden land scape ในปัจจุบันได้มีการส่งเสลิวโคเนียออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศเป็นจำนวนมากซึ่งคิด 1 ใน 10 อันดับของไม้ตัดดอกที่ส่งออก (จันทร์กะพ้อ, 2534)

การขยายพันธุ์เสลิวโคเนียในอดีตมี 2 วิธี คือการเพาะเมล็ดและการแยกหน่อ (จิราภรณ์, 2534) ซึ่งการขยายพันธุ์ทั้ง 2 วิธี ขึ้นอยู่กับสภาพธรรมชาติและได้จำนวนไม่มาก จึงได้มีการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและพบว่าการขยายพันธุ์เสลิวโคเนียบางพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังไม่สำเร็จ เนื่องจากยังมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราซึ่งการพอกฆ่าเชื้อที่ขึ้นส่วนไม่สามารถฆ่าเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วนได้หมด (สิรวัดน์, 2536) จึงได้มีการใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อราเพื่อขจัดเชื้อที่ปนเปื้อนมากับชิ้นส่วน

สำหรับงานทดลองนี้เป็นการทดลองขยายพันธุ์เสลิวโคเนียโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยศึกษาถึงระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl และ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการจัดการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเสลิวโคเนีย เพื่อให้เป็นแนวทางในการขยายพันธุ์เสลิวโคเนียโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

การตรวจเอกสาร

เฮลิโคเนีย มีถิ่นกำเนิดในแถบอเมริกาเขตร้อนและอเมริกาใต้ เป็นพืชที่มีสกุลเดียว (จิรายุพิน, 2534) อยู่ในวงศ์ Heliconiaceae มีอยู่ประมาณ 250 ชนิด (Kress, 1993) มีความสูงตั้งแต่ 30 เซนติเมตร จนถึง 6 เมตร (Broschat and Donselman , 1983)

เฮลิโคเนีย เป็นพืชล้มลุกข้ามฤดูหรือหลายฤดู บางชนิดต้นที่สูงจะมีลักษณะคล้ายต้นกล้วย มีลำต้นอัดตัวรวมกันแน่นเป็นเหง้าทอดเลื้อยไปใต้ดิน มีก้านใบรวมหุ้มอยู่ด้วยกันแบบกาบกล้วย แต่ผอมกว่า กาบใบนี้จะเรียงสลับกันทำให้ดูเหมือนว่าเป็นลำต้นตั้งอยู่ ใบมักใหญ่คล้าย ๆ ใบกล้วย ในบางชนิดหน่อจะเกิดที่โคนต้น แต่บางชนิดหน่อจะเกิดห่างจากต้นเดิม บางชนิดเมื่อใบเจริญเต็มที่ประมาณ 4-5 ใบ จะเกิดช่อดอกขึ้นที่กลางกอ ช่อดอกมีใบประดับรองรับอยู่ ใบประดับมีสีสวยงามเรียงสลับกันไปลักษณะเหมือนรูปเรือและมักจะอยู่ในระนาบเดียวกัน ภายในมีดอกคล้ายดอกกล้วยเล็ก ๆ เป็นหลอด ภายในมีเกสร 6 อัน ซึ่งเจริญเพียง 5 อัน ส่วนอีก 1 อันเป็นหมัน เกสรตัวผู้ยาวไปตามกลีบดอก รังไข่มี 1 ภายในมี 3 ช่อง ผลเป็นผลนํมคล้ายกล้วยเล็ก ๆ เมล็ดแข็ง เฮลิโคเนีย แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ ช่อดอกตั้งและช่อดอกห้อย เป็นพืชที่ชอบดินกรด pH 5.4-6.2 (จิรายุพิน, 2534)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเฮลิโคเนีย พันธุ์ *Heliconia psittacorum* L.F. โดยการใช้ตาข้างหรือตายอดซึ่งเกิดจากเหง้ามาผ่านน้ำสะอาดประมาณ 15 นาที และนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol 80 % 30 นาที จากนั้นฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.8 % นาน 15 นาที จากนั้นล้างด้วย น้ำกลั่น 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ตัดชิ้นส่วนขนาด 3 ลูกบาศก์มิลลิเมตร แล้วนำชิ้นส่วนพืชทำการฟอกฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.4 % นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วนำมาเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ดัดแปลง โดยใส่ BA 40 μ M น้ำมะพร้าว 150 ml/l น้ำตาลซูโครส 30 g/l ส่วนสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนยอด คือ สูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่ไม่ใส่น้ำมะพร้าวและเติม BA 10 μ M และสามารถชักนำให้ยอดเกิดรากในอาหารสูตรดัดแปลงที่ไม่ใส่สารควบคุม

คุมการเจริญเติบโตและสามารถย้ายเซลล์เนื้อเยื่อจากสภาพปลอดเชื้อได้โดยปลูกในวัสดุปลูก ประกอบด้วย เวอร์มิคิวไลท์พีท ในอัตราส่วน 1:1 (Nethan *et al.*, 1962)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Heliconia psittacorum* โดยนำตาที่เกิดจาก ต้นหรือเหง้าใต้ดิน มาทำการฟอกด้วย ethanol 70 % นาน 1 นาที ตามด้วย Mercuric chloride 0.1 % + Tween 20 2 หยด นาน 20 นาที และ Calcium hypochlorite 5 % + Tween 20 2 หยด นาน 10 นาที หลังจากนั้นลอกกาบชั้นนอกของชิ้นส่วน ออก 2-3 ชั้น แล้วฟอกอีกด้วย Calcium hypochlorite 1 % + Tween 20 2 หยด นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ทำการทดลองชักนำชิ้นส่วนให้เกิด callus ได้ โดยนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ พบว่าอาหาร MS ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าว 150 ml/l และ BA 5 mg/l สามารถเกิดยอดได้ (สิริวัฒน์, 2536)

Benomyl เป็นสารกำจัดเชื้อราอยู่ในกลุ่ม Benzimidazole ซึ่งเป็นยากำจัดเชื้อราชนิดดูดซึม (systemic fungicides) พิษของ Benomyl กว้างโดยเฉพาะใช้กับโรคทางใบ ราก และหัว เชื้อสาเหตุ คือเชื้อในดิน (soil borne) และพบว่า Benomyl จะมีพิษเมื่อละลายน้ำ (ธรรมศักดิ์, 2528)

Benomyl สามารถป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช สำคัญบางชนิดได้ถึง 16 เชื้อ ได้แก่ *Acrocyllindrium oryzae* , *Cercospora arachidicola* , *C. canesens* , *C. henningsii* , *Cercosporidium personatum* , *Ceratocystis paradoxa* , *Colletotrichum gloesporioiles* , *Corynespora cassiicola* , *Fusarium moniliforme* , *Helminthosporium oryzae* , *Nigrospora sp.* , *Oidium sp.* , *Phyllactinia corylea* , *Pyricularia oryzae* , *Rhizoctonia solani* และ *Thanatephorus cacumeris* (สมภาคและคณะ, 2527)

การทดสอบความสามารถของยากำจัดเชื้อราในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า Benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/l ในอาหารแข็งสูตร MS + Sucrose 3 % หลังจากการสังเกตเป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ พบว่า Benomyl มีคุณสมบัติในการกำจัดเชื้อราในกลุ่มของ *Penicilium (monoverticillate)* , *Paecilomyces* , *Actinomyces* ,

Dematiaceous hyphomycete , Mycelia sterile , Unidentified sporulating fungi และ Ascomycete และพบว่า Benomyl ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสาบ (Nicotiana tabacum) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำในอาหารแข็งสูตร MS+sucrose + BAP 0.5 mg/l + วัน 0.9 % จะกระตุ้นการเกิดคลอสและในอาหารเหลวสูตร MS + sucrose 3 % จะยับยั้งการเกิดราก (Shierd *et al.*, 1984)

Rifampicin เป็นสารปฏิชีวนะ มีคุณสมบัติกำจัดเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวก (Gram +) และ แกรมลบ (Gram -) และในกลุ่มไมโครแบคทีเรีย (microbacteria) ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ 15 µg/ml จะเป็นอันตราย (Toxic) ต่อพวก microbes และจะเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช (Phytotoxic) ที่ระดับความเข้มข้น 25 µg/ml สารที่ใช้เป็นตัวทำละลาย Rifampicin คือ Ethanol และ Chloroform (Anonymous, 1994)

Cefotaxime เป็นสารปฏิชีวนะ มีคุณสมบัติกำจัดเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวก (Gram +) และ แกรมลบ (Gram -) พบว่า Cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้น 90 µg/ml เป็นอันตราย (Toxic) ต่อ Microbes และที่ระดับความเข้มข้น 100 µg/ml จะเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช (Phytotoxic) สารที่ใช้เป็นตัวทำละลาย Cefotaxime คือ น้ำกลั่น (Anonymous, 1994)

การใช้สารปฏิชีวนะเพื่อขจัดเชื้อแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้เนื้อแข็ง พบว่าการใช้ Rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 25 , 50 และ 100 mg/l เหย้าด้วยอัตรา 50 รอม/นาที่ ในอาหารเหลวคัดแปลง Schenk and Hildebrandt เป็นเวลา 5 วันในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออัลปีเปิ้ล , Rhododendron และ Douglas-fir พบว่าไม่มีอันตรายต่อเนื้อเยื่อ (Phytotoxic) อัลปีเปิ้ลและRhododendron แต่พบว่าจะเกิดอันตรายรุนแรงต่อเนื้อเยื่อ Douglas-fir (Young *et al.*, 1984)

การใช้สารปฏิชีวนะในการขจัดเชื้อแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้เนื้อแข็ง พบว่า การใช้สารปฏิชีวนะร่วมกัน 4 ชนิด ได้แก่ Cefotaxime 25 mg/l + Tetracycline 25 mg/l + Rifampicin 6 mg/l + Polymyxin B 6 mg/l

ในอาหารเหลวสูตร Schenk and Hildebrandt นาน 24 ชั่วโมง พบว่าสามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียและทำให้ชิ้นส่วนแอปเปิ้ล, Rhododendron และ Douglas-fir ปลอดเชื้อ 100, 12 และ 100 % ตามลำดับ (Young *et al.*, 1984)

การใช้สารปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดอกทานตะวัน (*Helianthus tuberosus*) ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่หัว (tuber) พบว่าการใช้ Rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 50 $\mu\text{g/ml}$ จะสามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับหัวของดอกทานตะวันและเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ได้ 33.33 และ 100 % ตามลำดับ เมื่อเทียบกับ control และพบว่าการใช้ Rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/ml}$ จะไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ดอกทานตะวันเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารที่มี Rifampicin 50 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลานาน 24 , 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับ control (Phillips *et al.*, 1981)

การใช้สารปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Picea glauca* ในอาหารที่มี Cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 200 $\mu\text{g/ml}$ นาน 2 วัน จะทำให้จำนวนการเจริญเติบโตของตาคลัพพะมีเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น 100 % และพบว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารที่มี Cefotaxime นาน 9 วัน จะทำให้จำนวนคลัพพะที่มีเจริญเติบโต 100 และ 95 % ตามลำดับ และพบว่าการใช้ Cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 200 $\mu\text{g/ml}$ ไม่เกิดอันตรายต่อเนื้อเยื่อ *Picea glauca* (Tsang *et al.*, 1989)

การใช้สารปฏิชีวนะ Cefotaxime ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare L.*) จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ APEX , BLENHEIM , EVEREST และ PORTER พบว่าการใช้ Cefotaxime จะมีผลต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของแคลลัส และพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 60 $\mu\text{g/ml}$ จะทำให้เกิดปริมาณแคลลัสของข้าวบาร์เลย์สูงสุด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ APEX , BLENHEIM และ EVEREST ส่วนสายพันธุ์ PORTER จะมีการเพิ่มปริมาณแคลลัสสูงสุด ที่ระดับความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$ (Mathias and Mukasa, 1987)

การใช้ Benomyl ร่วมกับ Rifampicin ในอาหารเหลวสูตร Murashige

& Skoog Minimal Organics (MSMO) เสร้าด้วยอัตราเร็ว 100 รอบ/นาที นาน 24 ชั่วโมง ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชา 2 สายพันธุ์ เพื่อจัดการปนเปื้อน พบว่าการใช้ Benomyl 1 g/l ร่วมกับ Rifampicin 10 mg/l จะสามารถขจัดเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วน *Camellia sinensis* ให้ปลอดเชื้อได้ 95 % และการใช้ Benomyl 4 g/l ร่วมกับ Rifampicin 25 mg/l จะสามารถขจัดเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วน *C. japonica* ให้ปลอดเชื้อได้ 85.5 % (Haldenan *et al.*, 1987)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์

1.1 เครื่องมือที่ใช้ในตู้ Laminar Flow : ปากคีบ มีดผ่าตัดเล็กพร้อม
ด้ามมีด ตะเกียงอัลกอฮอลล์ กระจกตวง 100 ml ปิเปต 1 , 5 และ 10 ml อัลกอ
ฮอลล์จุ่มฆ่าเชื้อ ผ้าขาวบาง plate ใยแก้ว บีกเกอร์ขนาด 1000 ml flask 125 ml
และ filter

1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร : บีกเกอร์ขนาด 50 , 100 ,
500 และ 1000 ml หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เครื่องชั่งไฟฟ้า เครื่องชั่งธรรมดาขนาดเล็ก ข้อน
คนสาร ข้อนตักสาร ขวดขนาดเล็กพร้อมฝาปิด เครื่องวัด pH กระจกตวง
กระจกตวงขนาด 50 , 100 , 500 และ 1000 ml ปิเปตขนาด 1 , 5 และ 10
ml กรวยกรอกอาหาร หนึ่ง쌍 ถังพลาสติก ขวดปากแคบ นาฬิกาจับเวลา

1.3 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

สารเคมีในสูตรดัดแปลงอาหาร Murashige & Skoog (1962)

(ดูส่วนประกอบในภาคผนวก)

สารควบคุมการเจริญเติบโต

BA (6-Benzylaminopurine)

สารปฏิชีวนะ

Rifampicin

Cefotaxime

สารกำจัดเชื้อรา

Benlate (เป็นสื่อทางการค้าประกอบด้วย Benomyl

50 % w/w)

สารปรับความเป็นกรดเป็นด่าง

NaOH 1 N

HCl 1 N

1.4 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ

- ethanol 70 %
- Mercuric chloride (HgCl_2)
- Calcium hypochlorite $\text{Ca}(\text{OCl})_2$
- Tween 20

1.5 หน่อของ *Heliconia* ที่ใช้ในการทดลอง

- พันธุ์ - *Heliconia sticta* cv. Dwarf Jamaican
- *Heliconia densiflora* cv. Fire Flash

2. วิธีการ

2.1 การเตรียมอาหารสูตรดัดแปลงของ Murashige & Skoog (1962)

เตรียม stock solution โดยเตรียม Macroelements ให้มีความเข้มข้นของ stock 10 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการ ส่วน Microelements และ organic compound จะเตรียม stock solution ให้มีความเข้มข้นเป็น 100 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการ ใช้ สำหรับ Final solution ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร stock ของ Macroelements ซึ่งมีความเข้มข้น 10 เท่า จะใช้ 100 ml และ Microelements ซึ่งมีความเข้มข้น 100 เท่า จะใช้ 10 ml จาก stock เดิมน้ำมะพร้าว 150 ml/l และใส่ BA 5 mg/l 50 ml หลังจากนั้นใส่น้ำตาล 30 g แล้วปรับ pH ของอาหารเท่ากับ 5.5-5.7 ด้วย NaOH 1 N หรือ HCl 1 N จากนั้นใส่วันแล้วนำไปต้ม กรอกใส่ขวดขนาดเล็กแล้วทิ้งที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15-20 นาที

2.2 การเตรียมหน่อ

2.2.1. นำหน่อมาทำการผ่านน้ำไหลนานอย่างน้อย ประมาณ 30 นาที โดยทำการลอกกาบชั้นแรกที่มีดินติดอยู่หรือที่สกปรกออกก่อน

2.2.2. นำชิ้นส่วนไปทำการฟอกฆ่าเชื้อตามขั้นตอน ดังนี้

- 1) ethanol 70 % 1 นาที
- 2) Mercuric chloride 0.1 % + Tween 20 2 หลอด

นาน 10 นาที

3) Calcium hypochlorite 5 % + Tween 20 2 หยด

นาน 20 นาที

4) ลอกกาบของหน่อออก 2 - 3 ชั้น

5) Calcium hypochlorite 1 % + Tween 20 2 หยด

นาน 10 นาที

6) ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

3. ใช้มีดตัดแล้วลอกกาบออกจนได้หน่อที่มีขนาดเล็ก ตัดฐานออกให้เหลือติดกับกาบของหน่อ ประมาณ 1-2 มม. โดยให้มีตาชอดติดอยู่และตัดส่วนที่สัมผัสกับสารฟอกทิ้งให้หมด

4. นำชิ้นส่วนที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ แต่ละวิธีการทดลอง

2.3 สภาพห้องเลี้ยงเนื้อเชื้อ

เลี้ยงเนื้อเชื้ออุณหภูมิ 25 ± 2 °C ความเข้มชั้นของแสง 2500 lux โดยมีช่วงแสง 12 ชั่วโมง/วัน

ทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 4 สัปดาห์

2.4 วิธีการทดลอง

2.4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของ *Heliconia sticta* cv. Dwarf Jamaican

นำ *Heliconia sticta* cv. Dwarf Jamaican มาฟอกฆ่าเชื้อดังในวิธีการ 2.2.2 ในการทดลองโดยวางแผนแบบ Factorial in Completely Randomized Design 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ชิ้นส่วน โดยให้ความเข้มข้นของ Rifampicin เป็น Factor A มี 4 ระดับ คือ 0 , 10 , 15 และ 20 mg/l และความเข้มข้นของ Benomyl เป็น Factor B มี 3 ระดับ คือ 0,25 และ 50 mg/l

วิธีการ

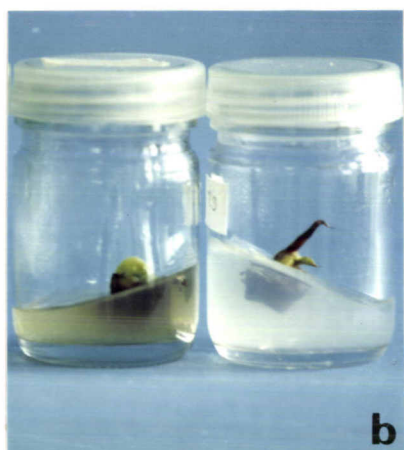
เตรียมอาหารสูตรพื้นฐานซึ่งประกอบด้วยสูตรดัดแปลงอาหาร MS และใส่ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ในความเข้มข้นต่าง ๆ ดังแผนการทดลองโดยทำการเตรียมอาหารสูตรพื้นฐานและเติม Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง 15 ปลอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15-20 นาที ฆ่าเชื้อ Rifampicin ด้วย filter ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วภายในตู้ Laminar Flow ปิดเปิด Rifampicin ใส่ในอาหารที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่มีอุณหภูมิ 40 °c แล้วเทลงในขวดขนาดเล็ก ในตู้ Laminar Flow ตัดชิ้นส่วนที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้บันทึกผลการปนเปื้อนทุก ๆ สัปดาห์ หลังจากนั้น 8 สัปดาห์ ย้ายลงไปเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีสารปฏิชีวนะและสารกำจัดเชื้อรา

การบันทึกผลการทดลอง

- 1 บันทึกการปนเปื้อน
- 2 จำนวนตาดที่มีลักษณะเน่าตาย (ภาพที่ 1a)
- 3 จำนวนตาดที่มีการเจริญเติบโตผิดปกติ (ภาพที่ 1b)
- 4 จำนวนตาดที่มีการเจริญเติบโตปกติ (ภาพที่ 1c)

2.4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของ *Heliconia densiflora* cv. Fire Flash

นำ *H. densiflora* cv. Fire Flash มาฟอกฆ่าเชื้อดังในวิธีการ 2.2.2 ในการทดลองโดยวางแผนแบบ Factorial in Completely Randomized Design 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ชิ้นส่วน โดยให้ความเข้มข้นของ Cefotaxime เป็น Factor A มี 3 ระดับ 0 , 25 และ 50 mg/l และความเข้มข้นของ Benomyl เป็น Factor B มี 3 ระดับ คือ 0,25 และ 50 mg/l



ภาพที่ 1 แสดงการเจริญเติบโตของตา *H. sticta* ที่เลี้ยงในอาหารสูตรดัดแปลง MS ที่มี BA 5 mg/l และ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่ออายุ 8 สัปดาห์

a : ชิ้นส่วนตาย (กำลังขยาย 0.64x)

b : ชิ้นส่วนเจริญเติบโตผิดปกติ (กำลังขยาย 0.58x)

c : ชิ้นส่วนเจริญเติบโตปกติ (กำลังขยาย 0.56x)

วิธีการ

เตรียมอาหารสูตรพื้นฐานซึ่งประกอบด้วยสูตรดัดแปลงอาหาร MS และใส่ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ในความเข้มข้นต่าง ๆ ดังแผนการทดลองโดยทำการเตรียมอาหารสูตรพื้นฐานและเติม Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง 15 ปลอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15-20 นาที ฆ่าเชื้อ Cefotaxime ด้วย filter ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วภายในตู้ Laminar Flow ปิดเปิด Cefotaxime ใส่ในอาหารที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่มีอุณหภูมิ 40 °c แล้วเทลงในขวดขนาดเล็ก ในตู้ Laminar Flow ตัดหินส่วนที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้บันทึกผลการปนเปื้อนทุก ๆ สัปดาห์ หลังจากนั้น 8 สัปดาห์ ย้ายลงไปเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีสารปฏิชีวนะและสารกำจัดเชื้อรา

1 บันทึกการปนเปื้อน

2 บันทึกการเจริญเติบโต โดยมีเกณฑ์การให้คะแนน ดังนี้

2.1 เมื่อถึงส่วนอายุ 4-7 สัปดาห์

- คะแนนที่ 1 : ตาที่มีลักษณะสดใสเขียว (ภาพที่ 2a)
- คะแนนที่ 2 : ตาที่มีลักษณะสดใสเขียวรอบฐานมีแคล์สสีเขียว (ภาพที่ 2b)
- คะแนนที่ 3 : ตาที่มีลักษณะสดใสเขียวรอบฐานมีแคล์สสีเขียวและมีรากเกิดขึ้น (ภาพที่ 2c)
- คะแนนที่ 4 : ตาที่มีลักษณะสดใสเขียวมีการแทงยอดออกมาจำนวน 1 ยอดและเกิดการแตกใบ ใบยังไม่คลี่ (ภาพที่ 2d)
- คะแนนที่ 5 : ตาที่มีลักษณะสดใสเขียวมีการแทงยอดออกมาจำนวน 1 ยอดและเกิดการแตกใบมีแคล์สสีเขียวและมีรากเกิดขึ้น (ภาพที่ 2e)

2.2 เมื่อถึงส่วนอายุ 12 สัปดาห์

- คะแนนที่ 1 : ตาที่มีแคล์สสีเขียว (ภาพที่ 3a)
- คะแนนที่ 2 : ตาที่มีลักษณะสดใสเขียวมีการแทงยอดออกมาจำนวน 1 ยอด (ภาพที่ 3b)

คะแนนที่ 3 : ตาที่มีลักษณะสดสี เขียวมีการแทงยอดออกมาจำนวน 1 ยอดและเกิด
แคลลัสสีเขียว (ภาพที่ 3c)

คะแนนที่ 4 : ตาที่มีลักษณะสดสี เขียวมีการแทงยอดออกมาจำนวน 1 ยอดและมี
การเจริญเติบโตของใบ (ภาพที่ 3d)

คะแนนที่ 5 : ตาที่มีลักษณะสดสี เขียวมีการแทงยอดออกมาจำนวน 1 ยอดมีการ
การเจริญเติบโตของใบและมีแคลลัสสีเขียว (ภาพที่ 3e)

3. เวลา และ สถานที่

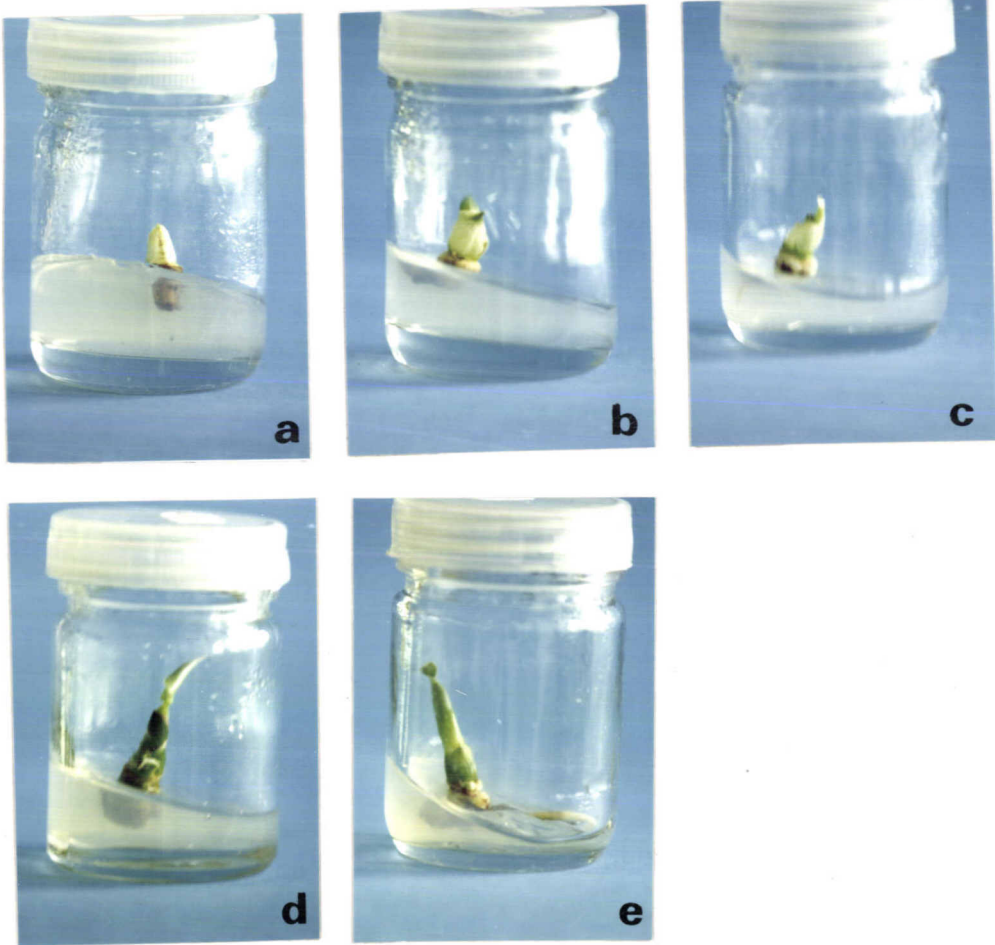
3.1 เวลา

เริ่มการทดลอง พฤษภาคม 2537

สิ้นสุดการทดลอง ตุลาคม 2537

3.2 สถานที่ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยี

การผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง



ภาพที่ 2 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตา *H. densiflora* ที่เลี้ยงในอาหารสูตรดัดแปลง MS ที่มี BA 5 mg/l และ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

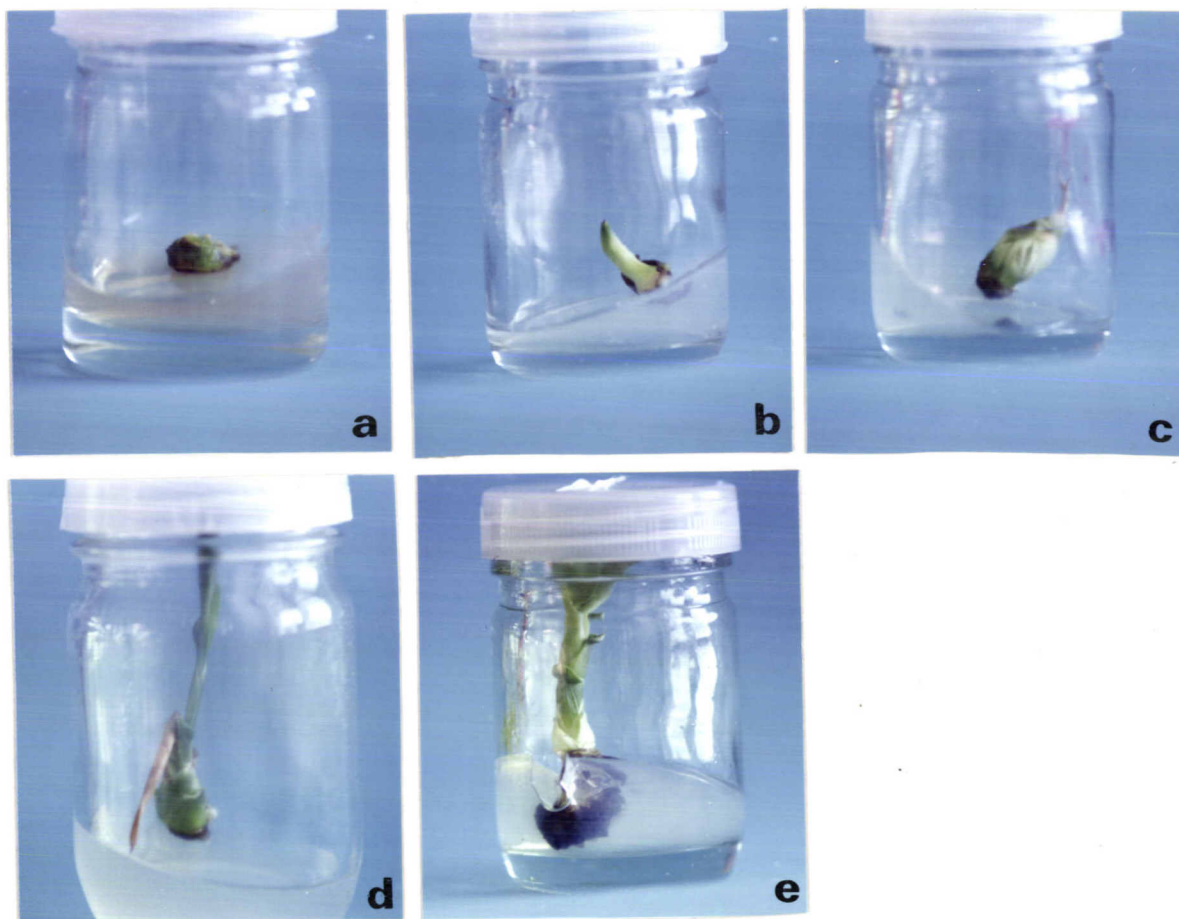
a : แสดงการให้คะแนน 1 (กำลังขยาย 0.70x)

b : แสดงการให้คะแนน 2 (กำลังขยาย 0.70x)

c : แสดงการให้คะแนน 3 (กำลังขยาย 0.68x)

d : แสดงการให้คะแนน 4 (กำลังขยาย 0.68x)

e : แสดงการให้คะแนน 5 (กำลังขยาย 0.68x)



ภาพที่ 3 แสดงคะแนนการเจริญเติบโตของตา *H. densiflora* ที่เลี้ยงในอาหารสูตรดัดแปลง MS ที่มี BA 5 mg/l และไม่มี Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่ออายุ 12 สัปดาห์

- a : แสดงการให้คะแนน 1 (กำลังขยาย 0.82x)
- b : แสดงการให้คะแนน 2 (กำลังขยาย 0.73x)
- c : แสดงการให้คะแนน 3 (กำลังขยาย 0.73x)
- d : แสดงการให้คะแนน 4 (กำลังขยาย 0.81x)
- e : แสดงการให้คะแนน 6 (กำลังขยาย 0.86x)

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน *Heliconia sticta* cv. Dwarf Jamaican

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์

ผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ต่อการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน *H. sticta* เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 1) พบว่าการใช้ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มีผลต่อการควบคุมการปนเปื้อนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยชิ้นส่วนเฮลิโคเนียที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Rifampicin 15 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l และ Rifampicin 20 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุด คือ 22.22 % และพบว่าทุกวิธีการที่ใช้ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ชิ้นส่วนเริ่มมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ กล่าวคือวิธีการที่มี Rifampicin 10 mg/l ร่วมกับ Benomyl 25 mg/l ชิ้นส่วนมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีเขียวสดเกิดยอดและต่อมาภายหลังพบว่ายอดที่เกิดขึ้นมีการเจริญเติบโตในลักษณะงอหงิก ส่วนวิธีการอื่น ๆ ที่มี Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าชิ้นส่วนมีลักษณะสีน้ำตาลคล้ายเน่าตาย วิธีการที่มี Benomyl เพียงอย่างเดียวที่ระดับความเข้มข้น 25 และ 50 mg/l พบว่าตามีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีเขียวและพัฒนาเป็นยอดที่มีการเจริญเติบโตที่ปกติและพบว่าการปนเปื้อนเกิดจากเชื้อแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ โดยที่เชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นเกิดที่ชิ้นส่วนมีลักษณะมันเยิ้มแผ่ขยายรอบ ๆ ชิ้นส่วนและพบว่า control และวิธีการที่มี Rifampicin 20 mg/l จะมีการปนเปื้อนของเชื้อราเกิดขึ้น

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 8 สัปดาห์

ผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ต่อการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน *H. sticta* เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 2) Benomyl ที่ระดับความ

ตารางที่ 1 ผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนของชิ้นส่วน *H. sticta* เมื่อเก็บส่วนอายุ 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ Rifampicin (mg/l)	ความเข้มข้นของ Benomyl (mg/l)	% ชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน (\pm SE)*
0	0	88.89 \pm 5.24
0	25	88.89 \pm 5.24
0	50	44.44 \pm 5.24
10	0	55.56 \pm 13.86
10	25	44.44 \pm 5.24
10	50	77.78 \pm 5.24
15	0	66.67 \pm 9.07
15	25	88.89 \pm 5.24
15	50	22.22 \pm 5.24
20	0	55.56 \pm 5.24
20	25	55.56 \pm 13.86
20	50	22.22 \pm 5.24

* F-test แสดงค่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

ตารางที่ 2 ผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนของ *H. sticta*
เมื่อชิ้นส่วนอายุ 8 สัปดาห์

ระดับความ เข้มข้นของ Rifampicin (mg/l)	* ชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน			ค่าเฉลี่ย
	ระดับความเข้มข้นของ Benomyl (mg/l)			
	0	25	50	
0	88.89 ± 5.24	88.89 ± 5.24	66.67 ± 0.00	81.48 ± 3.49
10	66.67 ± 9.07	44.44 ± 5.24	77.78 ± 5.24	63.96 ± 4.62
15	66.67 ± 9.07	88.89 ± 5.24	22.22 ± 5.24	59.62 ± 9.24
20	55.56 ± 5.24	66.67 ± 9.07	22.22 ± 5.24	48.15 ± 6.30
ค่าเฉลี่ย*	69.45 ± 3.03 ^{ab}	72.22 ± 4.61 ^a	47.22 ± 6.33 ^c	64.33 ± 4.24

* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในส่วนนี้ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อ
เปรียบเทียบโดยวิธี DUNCAN'S NEW MULTIPLE RANGE TEST

เข้มข้นต่าง ๆ มีผลต่อการควบคุมการปนเปื้อนแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยชิ้นส่วนเสล็ดโคเน็ยที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 50 mg/l มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุด คือ 47.22 % วิธีการที่มี Benomyl 25 mg/l มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนมากที่สุด คือ 72.22 % สำหรับเจริญเติบโตพบว่าวิธีการที่มี Rifampicin ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตผิดปกติ (ดังภาพที่ 1) กล่าวคือวิธีการที่มี Rifampicin 10 mg/l ร่วมกับ Benomyl 25 mg/l ทำให้ยอดมีลักษณะงอหงิกเกิดใบขึ้นภายในงอหงิกปลายใบไหม้สีน้ำตาลและวิธีการที่มี Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ในวิธีการอื่น ๆ พบว่าชิ้นส่วนยังคงมีสีน้ำตาลคล้ายเน่าตาสไม่มีการเปลี่ยนแปลงจากเดิม ส่วนวิธีการที่มี Benomyl 25 mg/l เพียงอย่างเดียว พบว่ายอดเกิดใบคล้ำเต็มทีและเริ่มมีการแตกหน่อใหม่ และวิธีการที่มี Benomyl 50 mg/l พบว่ายอดเกิดใบ 1 ใบยังไม่คล้ำ

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 12 สัปดาห์

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 8 สัปดาห์ ทำการย้ายชิ้นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี Rifampicin ร่วมกับ Benomyl จากตารางที่ 3 พบว่าหลังจากย้ายชิ้นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี Rifampicin และ Benomyl พบว่า Rifampicin มีผลต่อการปนเปื้อนที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วน Benomyl มีผลต่อการปนเปื้อนแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 50 mg/l มีการปนเปื้อนน้อยที่สุดคือ 47.22 % ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารที่มี Benomyl 25 mg/l พบว่ามีการปนเปื้อนมากที่สุดคือ 75.00 % จากตารางที่ 4 พบว่าชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 50 mg/l เพียงอย่างเดียวมีการปนเปื้อน 66.67 % ชิ้นส่วนตาย 11.11 % โดยยอดเจริญเป็นใบคล้ำและหน่อมีขนาดใหญ่ขึ้น ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Rifampicin 15 mg/l หรือ 20 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l มีการปนเปื้อนน้อยที่สุดคือ 22.22 % และมีชิ้นส่วนที่ตาย 77.78 % ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Rifampicin 10 mg/l ร่วมกับ Benomyl 25 mg/l มีการปนเปื้อน 55.56 % มีชิ้นส่วนตาย 22.22 % ชิ้นส่วนเจริญเติบโตผิดปกติ 22.22 % โดยยอดมีลักษณะงอหงิกสีน้ำตาลไหม้และพบว่าชิ้นส่วนปลอดเชื้อที่เคย

เลี้ยงบนอาหารที่มี Rifampicin ทุกระดับความเข้มข้น ขึ้นส่วนจะมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติหรือมีขึ้นส่วนตายเกิดขึ้น

ตารางที่ 3 แสดงการปนเปื้อนของขึ้นส่วนหลังจากย้ายขึ้นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี Rifampicin และ Benomyl เมื่อขึ้นส่วนอายุ 12 สัปดาห์

ระดับความเข้มข้นของ Rifampicin (mg/l)	x̄ ขึ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน			ค่าเฉลี่ย
	ระดับความเข้มข้นของ Benomyl (ng/l)			
	0	25	50	
0	88.89 ± 5.24	88.89 ± 5.24	66.67 ± 0.00	66.67 ± 0.00
10	77.78 ± 10.48	55.56 ± 5.24	77.78 ± 5.24	70.39 ± 3.49
15	66.67 ± 9.07	88.89 ± 5.24	22.22 ± 5.24	59.26 ± 9.24
20	55.56 ± 5.24	66.67 ± 9.07	22.22 ± 5.24	48.15 ± 6.30
ค่าเฉลี่ย*	72.24 ± 3.11 ^{ab}	75.00 ± 3.61 ^a	47.22 ± 6.33 ^c	64.82 ± 4.17

* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05) เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DUNCAN'S NEW MULTIPLE RANGE TEST



ตารางที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี Rifampicin และ Benonyl เมื่อชิ้นส่วนอายุ 12 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ		% ชิ้นส่วนที่มี การเปลี่ยนแปลง	% ชิ้นส่วนตาย	% ชิ้นส่วนไม่ตาย แสดงการเจริญ เติบโตผิดปกติ	% ชิ้นส่วนไม่ตาย แสดงการเจริญ เติบโตปกติ
Rifampicin (mg/l)	Benonyl (mg/l)				
0	0	88.89	11.11	0.00	0.00
0	25	88.89	0.00	0.00	11.11
0	50	66.67	11.11	0.00	22.22
10	0	77.78	22.22	0.00	0.00
10	25	55.56	22.22	22.22	0.00
10	50	77.78	22.22	0.00	0.00
15	0	66.67	22.22	11.11	0.00
15	25	88.89	11.11	0.00	0.00
15	50	22.22	77.78	0.00	0.00
20	0	55.56	44.44	0.00	0.00
20	25	66.67	33.33	0.00	0.00
20	50	22.22	77.78	0.00	0.00

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีนานาชาติพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของ *Heliconia densiflora* cv. Fire Flash

เมื่อขึ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์

ผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ต่อการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของขึ้นส่วนไม้แตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 5) โดยขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 25 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l และ Cefotaxime 50 mg/l มีการปนเปื้อนน้อยที่สุดคือ 33.33 % ขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 25 mg/l เพียงอย่างเดียวมีการปนเปื้อนมากที่สุดคือ 66.67 % ขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 25 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l มีจำนวนขึ้นส่วนปลอดเชื้อที่เจริญเติบโต 66.67 % มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโต 1.75 โดยขึ้นส่วนเจริญเป็นยอดและมีบางขึ้นส่วนที่มีการสร้างแคลลัสสีเขียวเกิดขึ้น ในขณะที่ขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 50 mg/l เพียงอย่างเดียวมีขึ้นส่วนปลอดเชื้อ 66.67 % มีขึ้นส่วนตาย 8.33 % ขึ้นส่วนเจริญเติบโต 58.34 % มีคะแนนการเจริญเติบโต 2.29 โดยขึ้นส่วนเจริญเป็นยอดสีเขียวและมีแคลลัสสีเขียวเหลืองและมีหนึ่งขึ้นส่วนที่มีการสร้างรากเกิดขึ้น ขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 50 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l มีการปนเปื้อน 50 % มีจำนวนขึ้นส่วนเจริญเติบโต 50 % และมีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโต 2.00 โดยขึ้นส่วนเจริญเป็นยอดสีเขียวและมีแคลลัสสีเขียวเกิดขึ้น และขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 25 mg/l เพียงอย่างเดียวมีการปนเปื้อน 41.67 % น้อยกว่า control แต่มีขึ้นส่วนตาย 25 % มีขึ้นส่วนเจริญเติบโต 33.33 % มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโต 1.00 ซึ่งเท่ากับ control โดยขึ้นส่วนเจริญเป็นยอดสีเขียว จากตารางที่ 6 พบว่า Cefotaxime มีผลต่อการตายของขึ้นส่วนไม้แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วน Benomyl มีผลต่อการตายของขึ้นส่วนแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่ขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่ Benomyl 50 mg/l มีขึ้นส่วนตายน้อยที่สุดคือ 2.78 % และขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 25 mg/l มีขึ้นส่วนตายมากที่สุดคือ 22.22 %

ตารางที่ 5 ผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน
เมื่ออายุ 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ		% ชิ้นส่วนที่มี การปนเปื้อน	% ชิ้นส่วนตาย	% ชิ้นส่วนเจริญ เติบโต	ค่าเฉลี่ยคะแนน เจริญเติบโต
Cefotaxime (ng/l)	Benomyl (ng/l)				
0	0	58.34	0.00	41.66	1.00
0	25	41.67	25.00	33.33	1.00
0	50	58.34	8.33	33.33	1.50
25	0	66.67	16.66	16.67	2.00
25	25	50.00	25.00	25.00	1.33
25	50	33.33	0.00	66.67	1.75
50	0	33.33	8.33	58.34	2.29
50	25	50.00	16.67	33.33	1.75
50	50	50.00	0.00	50.00	2.00
F-test		NS	NS	NS	
C.V. (%)		41.61	76.47	41.07	

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 6 ผลของการ Cefotaxime ร่วมกับ Benonyl ที่มีผลต่อการตายของปลาน้ำจืดส่วนเนื้ออายุ 4 สัปดาห์

ระดับความเข้มข้นของ Cefotaxime (mg/l)	แสดง % ไข่ส่วนตาย			ค่าเฉลี่ย
	ระดับความเข้มข้นของ Benonyl (mg/l)			
	0	25	50	
0	0.00 ± 0.00	25.00 ± 3.61	8.33 ± 3.61	11.11 ± 3.46
25	16.66 ± 4.17	25.00 ± 6.91	0.00 ± 0.00	13.88 ± 3.46
50	8.33 ± 3.61	16.67 ± 4.17	0.00 ± 0.00	8.33 ± 2.26
ค่าเฉลี่ย*	8.33 ± 2.27 ^b	22.22 ± 1.31 ^b	2.78 ± 1.31 ^a	11.11 ± 2.73

* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05) เมื่อเปรียบเทียบ

โดยวิธี DUNCAN'S NEW MULTIPLE RANGE TEST

เมื่อขึ้นส่วนอายุ 7 สัปดาห์

ผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ต่อการปนเปื้อนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 7) โดยขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 25 mg/l เพียงอย่างเดียวมีการปนเปื้อนมากที่สุดคือ 75 % ขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 25 mg/l เพียงอย่างเดียว, Cefotaxime 25 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l และ Cefotaxime 50 mg/l เพียงอย่างเดียวมีการปนเปื้อนน้อยที่สุดคือ 41.67 % ขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 25 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l มีขึ้นส่วนปลอดเชื้อที่เจริญเติบโต 58.33 % มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโต 1.86 โดยขึ้นส่วนเจริญเป็นฮอดส์เหี่ยวและมีบางขึ้นส่วนที่มีการสร้างแคลลัสสีเหี่ยวรอบ ๆ ขึ้นส่วน ขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 50 mg/l เพียงอย่างเดียวมีการปนเปื้อน 58.34 % มีขึ้นส่วนตาย 25 % และมีขึ้นส่วนเจริญเติบโต 16.66 % มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตมากที่สุดคือ 3.00 โดยขึ้นส่วนมีการสร้างใบและอีกหนึ่งขึ้นส่วนมีการเจริญเป็นฮอดส์เหี่ยว แต่ไม่มีการสร้างแคลลัส ขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 50 mg/l เพียงอย่างเดียวและ Cefotaxime 50 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l มีจำนวนขึ้นส่วนเจริญเติบโตเท่ากับ control คือ 41.66 % แต่พบว่าขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 50 mg/l เพียงอย่างเดียวและ Cefotaxime 50 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโต 2.40 และ 2.00 ตามลำดับซึ่งมากกว่า control โดยขึ้นส่วนเจริญเป็นฮอดส์เหี่ยวและมีแคลลัสสีเหี่ยวเกิดขึ้น ในขณะที่ขึ้นส่วนเลี้ยงใน control เจริญเป็นฮอดส์เหี่ยวและมีบางขึ้นส่วนเริ่มมีการสร้างแคลลัสสีเหี่ยวขึ้น จากตารางที่ 8 พบว่า Benomyl มีผลต่อการตายของขึ้นส่วนแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 50 mg/l มีขึ้นส่วนตายน้อยที่สุดคือ 8.33 % เท่ากับ control แต่ Benomyl 25 mg/l มีขึ้นส่วนตายมากที่สุดคือ 30.56 % จากตารางที่ 9 พบว่า Benomyl มีผลต่อการเจริญเติบโตของขึ้นส่วนแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 50 mg/l มีขึ้นส่วนเจริญเติบโตมากที่สุดคือ 38.88 % ขึ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 25 mg/l มีขึ้นส่วนเจริญเติบโตน้อยที่สุดคือ

ตารางที่ 7 ผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benonyl ที่มีต่อการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน
เมื่ออายุ 7 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ		% ชิ้นส่วนที่มี การปนเปื้อน	% ชิ้นส่วนตาย	% ชิ้นส่วนเจริญ เติบโต	ค่าเฉลี่ยคะแนน เจริญเติบโต
Cefotaxime (mg/l)	Benonyl (mg/l)				
0	0	58.34	0.00	41.66	1.40
0	25	41.67	41.67	16.66	2.50
0	50	58.34	25.00	16.66	3.00
25	0	75.00	8.33	16.67	2.00
25	25	58.34	33.33	8.33	2.00
25	50	41.67	0.00	58.33	1.86
50	0	41.67	16.67	41.66	2.40
50	25	66.67	16.67	16.67	1.50
50	50	58.34	0.00	41.66	2.00
F-test		NS	NS	NS	
C.V. (%)		39.59	65.29	57.32	

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 8 ผลของการ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการตายของของขึ้นส่วนเมื่ออายุ 7 สัปดาห์

ระดับความ เข้มข้นของ Cefotaxime (mg/l)	แสดง % ขึ้นส่วนตาย ระดับความเข้มข้นของ Benomyl (mg/l)			ค่าเฉลี่ย
	0	25	50	
0	0.00 ± 0.00	41.67 ± 3.61	25.00 ± 3.61	22.22 ± 5.71
25	8.30 ± 3.61	33.33 ± 5.89	0.00 ± 0.00	13.89 ± 4.72
50	16.67 ± 7.22	16.67 ± 4.17	0.00 ± 0.00	11.11 ± 2.62
ค่าเฉลี่ย*	8.33 ± 2.27 ^b	30.56 ± 3.46 ^a	8.33 ± 3.93 ^b	15.74 ± 3.49

* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.01) เมื่อเปรียบเทียบ

โดยวิธี DUNCAN'S NEW MULTIPLE RANGE TEST

ตารางที่ 9 ผลของการ Cefotaxime ร่วมกับ Benonyl ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเนื้ออายุ 7 สัปดาห์

ระดับความ เข้มข้นของ Cefotaxime (mg/l)	แสดง % ชิ้นส่วนเจริญเติบโต			ค่าเฉลี่ย
	ระดับความเข้มข้นของ Benonyl (mg/l)			
	0	25	50	
0	41.66 ± 3.61	16.66 ± 4.17	16.66 ± 4.17	24.99 ± 3.93
25	16.66 ± 4.17	8.33 ± 3.61	58.33 ± 6.91	27.77 ± 7.29
50	41.66 ± 3.61	16.66 ± 4.17	41.66 ± 9.08	33.33 ± 3.93
ค่าเฉลี่ย*	33.33 ± 3.93 ^a	13.88 ± 1.31 ^b	38.88 ± 5.71 ^a	28.70 ± 3.57

* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05) เมื่อเปรียบเทียบ

โดยวิธี DUNCAN'S NEW MULTIPLE RANGE TEST

13.88 % และควรเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารที่มี Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl นานน้อยกว่า 5 สัปดาห์ เนื่องจากพบว่าชิ้นส่วนเริ่มเน่าตายเมื่อเลี้ยงนานเกิน 5 สัปดาห์

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 12 สัปดาห์

เมื่อชิ้นส่วนอายุ 7 สัปดาห์จึงย้ายชิ้นส่วนลงอาหารที่ไม่มี Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl พบว่าผลของการย้ายชิ้นส่วนลงอาหารที่ไม่มี Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มีผลต่อการปนเปื้อนและการตายของชิ้นส่วนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 10) โดยชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 50 mg/l เพียงอย่างเดียว , Cefotaxime 25 mg/l เพียงอย่างเดียว , Cefotaxime 25 mg/l ร่วมกับ Benomyl 25 mg/l และ Cefotaxime 50 mg/l ร่วมกับ Benomyl 25 mg/l มีการปนเปื้อนมากที่สุดคือ 75 % และชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 50 mg/l เพียงอย่างเดียวและ Cefotaxime 25 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l มีการปนเปื้อนน้อยที่สุดคือ 50 % ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 25 mg/l เพียงอย่างเดียวมีชิ้นส่วนปลอดเชื้อซึ่งตายหมด 50 % ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 25 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l มีชิ้นส่วนตาย 8.33 % และชิ้นส่วนเจริญเติบโต 41.67 % มีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโต 2.00 โดยชิ้นส่วนเจริญเป็นยอดและมีแคลลัสสีเขียว ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 50 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l มีการปนเปื้อน 66.67 % ชิ้นส่วนตาย 8.33 % และชิ้นส่วนเติบโต 25 % มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตมากที่สุดคือ 5.00 โดยยอดมีการสร้างใบ 2-3 ใบและมีแคลลัสสีเขียว และ control มีการปนเปื้อน 58.34 % ชิ้นส่วนตาย 16.66 % และมีชิ้นส่วนเจริญเติบโต 25 % เท่ากัน แต่ชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 50 mg/l เพียงอย่างเดียว มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโต 4.67 มากกว่า control โดยยอดมีการสร้างใบและมีแคลลัสสีเขียว ในขณะที่ control มีชิ้นส่วนเจริญเป็นยอดสีเขียวและมีแคลลัสสีเขียว (ดังภาพที่ 3) จากตารางที่ 11 พบว่า Benomyl มีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่

มี Benomyl 50 mg/l มีชิ้นส่วนเจริญเติบโตมากที่สุดคือ 27.18 % และชิ้นส่วนที่เคย
เลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 25 mg/l มีชิ้นส่วนเจริญเติบโตน้อยที่สุดคือ 5.55 %

ตารางที่ 10 แสดงการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl เมื่อชิ้นส่วนอายุ 12 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ		x ชิ้นส่วนที่มี การปนเปื้อน	x ชิ้นส่วนตาย	x ชิ้นส่วนเจริญ เติบโต	ค่าเฉลี่ยคะแนน เจริญเติบโต
Cefotaxime (mg/l)	Benomyl (mg/l)				
0	0	58.34	16.66	25.00	2.00
0	25	50.00	50.00	0.00	0.00
0	50	75.00	8.33	16.67	3.00
25	0	75.00	8.33	16.67	1.50
25	25	75.00	16.67	8.33	3.00
25	50	50.00	8.33	41.67	2.00
50	0	58.34	16.66	25.00	4.67
50	25	75.00	16.67	8.33	2.00
50	50	66.67	8.33	25.00	5.00
F-test		NS	NS	NS	
C.V. (%)		26.20	72.42	63.05	

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 11 แสดงการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหลังจากย้ายชิ้นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี Cefotaxime และ Benomyl เมื่อชิ้นส่วนอายุ 12 สัปดาห์

ระดับความ เข้มข้นของ Cefotaxime (ng/l)	แสดง % ชิ้นส่วนเจริญเติบโต ระดับความเข้มข้นของ Benomyl (ng/l)			ค่าเฉลี่ย
	0	25	50	
0	25.00 ± 3.61	0.00 ± 0.00	16.67 ± 4.17	13.89 ± 3.46
25	16.67 ± 4.17	8.33 ± 3.61	41.67 ± 6.91	22.22 ± 4.72
50	25.00 ± 3.61	8.33 ± 3.61	25.00 ± 3.61	19.44 ± 2.62
ค่าเฉลี่ย*	22.22 ± 1.31 ^a	5.55 ± 1.31 ^b	27.78 ± 3.14 ^a	18.52 ± 3.15

* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05) เมื่อเปรียบเทียบ

โดยวิธี DUNCAN'S NEW MULTIPLE RANGE TEST

วิจารณ์ผลการทดลอง

วิจารณ์ผลการทดลองที่ 1

จากผลการทดลองที่ 1 พบว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารที่มี Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการย้ายลงอาหารปกติที่ไม่มีสารปฏิชีวนะ พบว่าการใช้ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl สามารถกำจัดเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วนได้โดยเฉพาะวิธีการที่มี Rifampicin 15 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l และ Rifampicin 20 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l สามารถกำจัดเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วนได้มากที่สุดและพบว่าการปนเปื้อนส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย สายสมร(2524) รายงานว่า Rifampicin เป็นสารปฏิชีวนะที่สร้างขึ้นโดย *Streptomyces mediterranei* สายกลุ่มนี้อาจมีผลต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก (Gram +) และ *Mycobacterium tuberculosis* แต่มีผลน้อยต่อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram -) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า Rifampicin มีประสิทธิภาพไม่เพียงพอในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับชิ้นส่วนเซลล์เนื้อเยื่อ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการปนเปื้อนของชิ้นส่วนที่เกิดจากเชื้อราจำนวนมาก สมภาคและคณะ (2527) ได้รายงาน Benomyl เป็นสารกำจัดเชื้อราที่มีคุณสมบัติกำจัดเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคนิ่ว 16 ชนิด

การใช้ Rifampicin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน กล่าวคือชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Rifampicin ทุกระดับความเข้มข้นชิ้นส่วนจะมีการเจริญเติบโตผิดปกติ มีลักษณะใบงอหงิกยอดม้วนงอไหม้และชิ้นส่วนเน่าตาย ทั้งนี้เนื่องจาก Rifampicin เป็นสารซึ่งรบกวน enzyme ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก กล่าวคือจะไปยับยั้งจำเพาะกับการสังเคราะห์ RNA โดยจะจับและยับยั้ง enzyme DNA-dependent RNA polymerase ของแบคทีเรียที่ไวต่อ Rifampicin (สายสมร, 2527) จากขบวนการดังกล่าว Rifampicin อาจไปรบกวนการทำงานของ enzyme ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกของเนื้อเยื่อพืชทำให้ชิ้นส่วนพืชมีการเจริญเติบโตผิดปกติและชิ้นส่วนตาย Young และคณะ (1984) ได้ทดลองใช้สารปฏิชีวนะกับ

ไม้เนื้อแข็งเพื่อจัดการปนเปื้อน พบว่าการใช้ Cefotaxime 100 mg/l + tetracycline 100 mg/l + Rifampicin 25 mg/l + polymyxin B 25 mg/l เลี้ยงชิ้นส่วนแอปเปิ้ล , Rhododendron และ Douglas-fir ในอาหารเหลวขนาด 24 ชั่วโมงสามารถจัดการปนเปื้อนที่ติดมากับชิ้นส่วนได้ 12 , 100 และ 100 % ตามลำดับ แต่พบว่าการดังกล่าวนี้จะทำให้มีขบวนการสร้างใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ช้าลง (Phytotoxic) กับไม้เนื้อแข็งทั้ง 3 ชนิดเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารเหลวขนาด 50 รอบ/นาทิต เป็นเวลานาน 5 วัน

นอกจากนี้พบว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารที่มี Benomyl 25 และ 50 mg/l เพียงอย่างเดียว ชิ้นส่วนจะมีการเจริญเติบโตปกติ Yang (1976) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน่อไม้ฝรั่งโดยให้ Benomyl พบว่า Benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 10-50 mg/l จะสามารถกระตุ้นการการเพิ่มปริมาณยอดของหน่อไม้ฝรั่งและยอดที่เกิดขึ้นมีการเจริญเติบโตปกติ

วิจารณ์ผลการทดลองที่ 2

จากผลการทดลองที่ 2 พบว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารที่มี Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 7 สัปดาห์ หลังจากนั้นจึงย้ายลงบนอาหารที่ไม่มี Cefotaxime และ Benomyl พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime 50 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l สามารถจัดการปนเปื้อนได้ 33.33 % และชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตมากที่สุด กล่าวคือยอดเจริญเป็นใบและมีแคลลัสสีเขียว ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Yang (1976) พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis*) โดยให้ Benomyl 50 mg/l สามารถเพิ่มปริมาณยอดของหน่อไม้ฝรั่งได้มากที่สุดและยอดที่มีการสร้างขึ้นใหม่มีการเจริญเติบโตปกติ นอกจากนี้ Mathias และ Mukasa (1987) ได้รายงานว่าการใช้ Cefotaxime 60 mg/ml ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวบาร์เลย์ จะมีผลต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณแคลลัส จากตารางที่

7 พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl มีชิ้นส่วนตายเพิ่มขึ้นเมื่ออายุ 7 สัปดาห์ อาจเนื่องมาจากเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารที่มีสารปฏิชีวนะนานเกินไป Young และคณะ (1984) ได้ทดลองใช้ Cefotaxime 25 mg/l กับ Rhododendron จะไม่เกิดอันตรายต่อชิ้นส่วนนาน 5 วันและเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนนาน 10 วัน พบว่ามีชิ้นส่วนตายเกิดขึ้น นอกจากนี้ Tsang และคณะ (1989) ทดลองใช้ Cefotaxime 300 mg/l ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Picea glauca* พบว่าค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งและปริมาณโปรตีนในคัพหลอดลงเมื่อเลี้ยงคัพเพาะในสารปฏิชีวนะเป็นเวลานาน 21 วัน จากตารางที่ 10 พบว่าชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Cefotaxime และ Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อปนเปื้อนได้น้อยไม่แตกต่างกันทางสถิติกับ control ดังนั้นจึงควรมีการทดลองใช้ Cefotaxime และ Benomyl ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 50 mg/l ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วนและไม่เกิดอันตรายต่อชิ้นส่วนดังที่ Tsang และคณะ (1989) ได้รายงานว่าการใช้ Cefotaxime 100 mg/l ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Picea glauca* นาน 9 วัน จะทำให้จำนวนคัพเพาะเจริญเติบโตได้ 100 % และไม่เกิดอันตรายต่อชิ้นส่วนและ Haldeman และคณะ (1987) พบว่าการใช้ Benomyl 1 g/l สามารถกำจัดเชื้อที่ติดมากับ *Camellia sinensis* ได้ 95 % และไม่เกิดอันตรายต่อเนื้อเยื่อ

สรุปผลการทดลอง

1. อาหารสูตรดัดแปลง MS ที่มี BA 5 mg/l โดยเติม Benomyl 50 mg/l เพียงอย่างเดียว สามารถกำจัดเชื้อบนเป็อนที่ติดมากับชิ้นส่วน *H. sticta* cv. Dwarf Jamaican 33.33 % และชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตได้ 22.22 % และพบว่า การเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารที่ Rifampicin ทุกระดับความเข้มข้น จะทำให้ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตผิดปกติและชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตผิดปกติและชิ้นส่วนเน่าตาย

2. อาหารสูตรดัดแปลง MS ที่มี BA 5 mg/l และ Cefotaxime 50 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l สามารถกำจัดเชื้อบนเป็อนที่ติดมาชิ้นส่วน *H. densiflora* cv. Fire Flash ได้ 33.33 % ชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตได้ 25 % และชิ้นส่วนมีค่าเฉลี่ยคะแนนการเจริญเติบโตมากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- จันทร์กระพ้อ. 2534. เฮลิโคเนียไม้ตัดดอกใหม่ของไทย. วารสารเคหเกษตร. 15(10)
43-53.
- จิรายุพิน จันทร์ประสงค์. 2534. เทคโนโลยีการผลิตไม้ดอกไม้ประดับ. สมาคมไม้ประดับแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 143-148 น.
- ชรรมศักดิ์ สมมาตรย์. 2528. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคนิว. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 371 น.
- ธีรวัฒน์ เลิศลอสปัญญาชัย. 2536. การศึกษาการเพิ่มปริมาณเฮลิโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 4.
- สมภาค สิทธิพงศ์, เอ็น ศิลาชัย, ทวี เก่าศิริ และ อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2527. สารป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพบางชนิด. วารสารโรคพืช. 4 (1) : 19 - 21.
- สาธสมร ล้ำสง. 2524. สารปฏิชีวนะและปฏิกริยาการต่อต้านจุลินทรีย์. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 87 น.
- Anonymous. 1994. Detection of pathogens and contaminations of plants & plant cellcultures. PhySource. 5 (1) : 1 - 5.
- Brochat, T.K. and H.M. Donselman. 1992. Heliconia : A promising new cut flower crop. HortScience. 18 (1) : 2.
- Haldeman, J.H., R.L. Thomas and D.L. McKamy. 1987. Use of benomyl and rifampicin for *in vitro* shoot tip culture of *Camellia sinensis* and *C. japonica*. HortScience. 22 (2) : 306 - 307.
- Kress, J.W. 1993. The Classification of Heliconia and its relatives. Bulletin. 6 (3) : 3.

- Mathias , R.J. and C. Mukasa. 1987. The effect of cefotaxime on the growth and regeneration of callus from four varieties of barley (*Hordeum vulgare L.*). Plant Cell Reports. 6 : 454 - 457.
- Nethan , M.J.,C.J. Golt and P.P. Kumar. 1992. *In vitro* propagation of *Heliconia psittacorum* by bud culture. HortScience. 27 (5) : 450 - 452.
- Phillips, R.,S.M. Arnott and S.E. Kaplan. 1981. Antibiotics in plant tissue culture:Rifampicin effectively controls bacterial contaminants without affecting the growth of short-term explant cultures of *Helianthus tuberosus*. Plant Science Letters. 21 : 235 - 240.
- Shield, Robert.,Susan J. Robinson and Pat A. Anslow. 1984. Use of fungicide in plant tissue culture. Plant Cell Reports. 3 : 33 - 36.
- Tsang,E.W.T.,H. David,and D.I. Dunstan. 1989. Toxicity of antibiotics on zygotic embryos of white spruce (*Picea glauca*) cultured *in vitro*. Plant Cell Reports. 8 : 214 - 216.
- Yang, Hsu-Jen. 1976. Effect of Benomyl on *Asparagus officinalis L.* shoot and root development in culture media. HortScience. 11 (5) : 473 - 474.
- Young, Peter M.,Anita S. Hutchins and Marilyn L. Canfield. 1984. Use of Antibiotics to control bacteria in shoot cultures of woody plants. Plant Science Letters. 34 : 203 - 209.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 สูตรอาหารตัดแปลงของ Murashige & skoog (1962)

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณ (mg/l)
$(NH_4)NO_3$	1650.000
KNO_3	1900.000
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440.000
$MgSO_4$	370.000
KH_2PO_4	170.000
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.800
Na_2EDTA	37.300
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.300
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.600
H_3BO_3	6.200
KI	0.830
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.250
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025
$CaCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025
Myo-inositol	100.000
Nicotinic acid	0.500
Pyridoxine-HCl	0.500
Thiamine-HCl	0.500
Glycine	2.000
$NaHPO_4$	170.000
Adenine Sulphate	80.000
Sucrose	30 g
น้ำมะพร้าว	150 ml/l

ตารางที่ 2 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนของ *H. sticta* เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

SOURCE	df	SS	MS	F - test	F - Table	
					F.05	F.01
Total	35	19319.3915				
Treatment	11	9068.1109	824.2737	1.93 ^{NS}	2.22	3.09
Rifampicin	3	2074.4028	691.4676	1.62 ^{NS}	3.01	4.72
Benomyl	2	2684.6289	1342.3145	3.14 ^{NS}	3.40	5.61
Rifampicin & Benomyl	6	4309.0792	718.1799	1.68 ^{NS}	2.51	3.67
Error	24	10251.2806	427.1367			

Grand mean = 51.65

CV = 40.01

SE = 1.32

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.05$)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 3 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนของ *H. sticta* เมื่ออายุ 8 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

SOURCE	df	SS	MS	F - test	F - Table	
					F.05	F.01
Total	35	15345.4064				
Treatment	11	8679.9628	789.0875	2.84 *	2.22	3.09
Rifampicin	3	2400.7014	800.2338	2.88 ^{NS}	3.01	4.72
Benomyl	2	2400.4931	1200.2469	4.32 *	3.40	5.61
Rifampicin & Benomyl	6	3878.7677	646.4613	2.33 ^{NS}	2.51	3.67
Error	24	6665.4436	277.7263			

Grand mean = 54.23

CV = 30.73

SE = 1.29

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 4 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของการย้ายชิ้นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนของ *H. sticta* เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

F - Table						
SOURCE	df	SS	MS	F - test	F.05	F.01
Total	35	15678.5657				
Treatment	11	8663.3912	787.5810	2.69 *	2.20	3.09
Rifampicin	3	2580.1921	860.0640	2.94 ^{NS}	3.01	4.72
Benomyl	2	2948.5700	1474.2850	5.04 *	3.40	5.61
Rifampicin & Benomyl	6	3134.6291	522.4382	1.79 ^{NS}	2.51	3.67
Error	24	7015.1745	292.2989			

Grand mean = 55.52

CV = 30.79

SE = 1.29

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.05$)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 5 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการปนเปื้อนของ *H. densiflora* เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

SOURCE	df	SS	MS	F - test	F - Table	
					F.05	F.01
Total	35	10846.7026				
Treatment	8	1946.7499	243.3437	0.74 ^{NS}	2.30	3.26
Cefotaxime	2	257.8442	128.9221	0.39 ^{NS}	3.35	5.49
Benomyl	2	161.1611	80.5806	0.24 ^{NS}	3.35	5.49
Cefotaxime & Benomyl	4	1527.7466	381.9367	1.16 ^{NS}	2.73	4.11
Error	27	8899.9527	329.6279			

Grand mean = 43.63

CV = 41.61

SE = 0.82

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 6 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการปนเปื้อนของ *H. densiflora* เมื่ออายุ 7 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

SOURCE	df	SS	MS	F - test	F - Table	
					F.05	F.01
Total	35	11831.3459				
Treatment	8	2314.9116	289.3640	0.80 ^{MS}	2.30	3.26
Cefotaxime	2	123.9543	61.9772	0.17 ^{MS}	3.35	5.49
Benomyl	2	123.9543	61.9772	0.17 ^{MS}	3.35	5.49
Cefotaxime & Benomyl	4	2067.0030	561.7508	1.55 ^{MS}	2.73	4.11
Error	27	9764.3429	361.6423			

Grand mean = 48.04

CV = 39.59

SE = 0.89

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 7 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของการย้ายถิ่นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี Cefotaxime และ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนของ *H. densiflora* เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

SOURCE	df	SS	MS	F - test	F - Table	
					F.05	F.01
Total	35	7386.1974				
Treatment	8	1801.0512	225.1314	1.09 ^{NS}	2.30	3.26
Cefotaxime	2	141.9525	70.9763	0.34 ^{NS}	3.35	5.49
Benomyl	2	21.0817	10.5409	0.05 ^{NS}	3.35	5.49
Cefotaxime & Benomyl	4	1638.017	409.5043	1.98 ^{NS}	2.73	4.11
Error	27	5585.1462	206.8573			

Grand mean = 54.90

CV = 26.20

SE = 0.79

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 8 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *H. densiflora* เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

SOURCE	df	SS	MS	F - test	F - Table	
					F.05	F.01
Total	35	10608.6006				
Treatment	8	3882.3763	485.2970	1.95 ^{NS}	2.30	3.26
Cefotaxime	2	433.3081	216.6541	0.87 ^{NS}	3.35	5.49
Benomyl	2	1280.1534	640.0767	2.57 ^{NS}	3.35	5.49
Cefotaxime & Benomyl	4	2168.9148	542.2287	2.18 ^{NS}	2.73	4.11
Error	27	6726.2243	249.1149			

Grand mean = 38.43

CV = 41.07

SE = 1.15

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 9 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benonyl ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *H. densiflora* เมื่ออายุ 7 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

Source	df	SS	MS	F - test	F - Table	
					F.05	F.01
Total	35	13328.0637				
Treatment	8	5081.8090	635.2261	2.08 ^{NS}	2.30	3.26
Cefotaxime	2	240.5313	120.2657	0.39 ^{NS}	3.35	5.49
Benonyl	2	2241.7534	1120.8767	3.67 [*]	3.35	5.49
Cefotaxime & Benonyl	4	2599.5243	649.8811	2.13 ^{NS}	2.73	4.11
Error	27	8246.2547	305.4168			

Grand mean = 30.49

CV = 57.32

SE = 1.32

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญสูง ($p < 0.01$)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 10 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของการย้ายชิ้นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี Cefotaxime และ Benomyl ที่มีต่อการเจริญเติบโตของ *H. densiflora* เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

SOURCE	df	SS	MS	F - test	F - Table	
					F.05	F.01
Total	35	8292.9943				
Treatment	8	2674.9657	334.3707	1.61 ^{NS}	2.30	3.26
Cefotaxime	2	205.1975	102.5988	0.49 ^{NS}	3.35	5.49
Benomyl	2	1884.5075	942.2538	4.53 [*]	3.35	5.49
Cefotaxime & Benomyl	4	585.2607	146.3152	0.70 ^{NS}	2.73	4.11
Error	27	5618.0286	208.0751			

Grand mean = 22.88

CV = 63.05

SE = 0.96

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (p < 0.01)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 11 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการตายของชิ้นส่วน *H. densiflora* เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

SOURCE	df	SS	MS	F - test	F - Table	
					F.05	F.01
Total	35	6637.4481				
Treatment	8	2020.8182	252.6029	1.48 ^{NS}	2.30	3.26
Cefotaxime	2	90.5162	45.2581	0.26 ^{NS}	3.35	5.49
Benomyl	2	1440.6518	720.3259	4.21 *	3.35	5.49
Cefotaxime & Benomyl	4	489.6502	122.4126	0.72 ^{NS}	2.73	4.11
Error	27	4616.6299	170.9863			

Grand mean = 17.10

CV = 76.47

SE = 0.83

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 12 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีผลต่อการตายของชิ้นส่วน *H. densiflora* เมื่ออายุ 7 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

SOURCE	df	SS	MS	F - test	F - Table	
					F.05	F.01
Total	35	9171.7657				
Treatment	8	4367.8649	545.9831	3.07 *	2.30	3.26
Cefotaxime	2	533.7735	261.8868	1.47 ^{NS}	3.35	5.49
Benomyl	2	2320.3232	1160.1616	6.52 **	3.35	5.49
Cefotaxime & Benomyl	4	1523.7682	380.9421	2.14 ^{NS}	2.73	4.11
Error	27	4803.9008	177.9225			

Grand mean = 20.43

CV = 65.29

SE = 1.22

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 13 ผลทางสถิติการเปรียบเทียบผลของการย้ายชิ้นส่วนลงบนอาหารที่ไม่มี Cefotaxime และ Benonyl ที่มีผลต่อการตายของชิ้นส่วน *H. densiflora* เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (Arcsine Transformation)

SOURCE	df	SS	MS	F - test	F - Table	
					F.05	F.01
Total	35	9225.3489				
Treatment	8	2879.1130	359.8891	1.53 ^{MS}	2.30	3.26
Cefotaxime	2	688.1557	344.0779	1.46 ^{MS}	3.35	5.49
Benonyl	2	1346.5045	673.2523	2.86 ^{MS}	3.35	5.49
Cefotaxime & Benonyl	4	844.4528	211.1132	0.90 ^{MS}	2.73	4.11
Error	27	6346.2359	235.0458			

Grand mean = 21.17

CV = 72.42

SE = 0.99

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$)

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

