บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. พืชที่ใช้ในการวิจัย

   S. laciniatum Ait.

   S. torvum Sw.

2. ส่วนของพืชที่ใช้ในการวิจัย

   ใบ ลำต้น และรากจากต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อบน medium M.S. (1962)

3. สูตรอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการวิจัย

   3.1 Murashige and Skoog (1962)* ใช้สัญญลักษณ์ย่อ M.S.

   3.2 M.S. 1 = M.S. + kinetin 0.25 มก./ล + 2,4-D 1 มก./ล

   3.3 M.S. 2 = M.S. 1 + cholesterol 300 มก./ล

   3.4 M.S. 3 = M.S. 1 + cholesterol 500 มก./ล

   3.5 M.S. 4 = M.S. 1 + cholesterol 700 มก./ล

   3.6 M.S. 5 = M.S. 1 + cholesterol 900 มก./ล

   3.7 Schenk and Hildebrandt (1972)* ใช้สัญญลักษณ์ย่อ S.H.

   3.8 S.H. 1 = S.H. + อัมโมเนียมไนเตรท 500 มก./ล + แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$) 100 มก./ล + meso-inositol 500 + thiamin-hydrochloride 2.5 มก./ล + 2,4-D 1 มก./ล + อินโดลอาซีติคแอซิด 2 มก./ล + ไคนิติน 0.5 มก./ล

---

*สูตรอาหารสังเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. <u>เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย</u>

4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแคลลัส

4.1.1 ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (air flow) แบบ microflow prathfinder

4.1.2 เครื่องวัด pH แบบ digital pH/temperature meter

4.1.3 ตู้เย็นเก็บสารเคมีควบคุมอุณหภูมิประมาณ 5 °ซ

4.1.4 เครื่องชั่งวิเคราะห์

4.1.5 ชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ติดหลอดฟลูออเรสเซ็นต์ ชนิด day light ชั้นละ 2 หลอด โดยมีระยะห่างจากขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ 1.5 ฟุต

4.1.6 เครื่องเขย่า

4.1.7 เตาไฟฟ้า

4.1.8 หม้อนึ่งความดัน

4.1.9 เครื่องล้างปิเปต

4.1.10 ขวด MC. cartney ขนาด 20 ml

4.1.11 บีกเกอร์ ขนาด 50 100 250 500 1000 และ 2000 มล.

4.1.12 จานเลี้ยงเชื้อขนาด 11 มม.

4.1.13 Volumetric flask ขนาด 500 1000 และ 2000 มล.

4.1.14 แท่งแก้วคน

4.1.15 หลอดหยดสารพร้อมจุกยาง

4.1.16 หลอดทดลอง (test tube) ขนาดกลาง

4.1.17 กระบอกตวง ขนาด 5 25 100 และ 500 มล.

4.1.18 ปิเปตขนาด 1 5 และ 10 มล.

4.1.19 ปากคีบ

4.1.20 มีดผ่าตัด BS 2982 No.3

4.1.21 ใบมีดผ่าตัด Surgical Blade No.10

4.1.22 ตะเกียงแอลกอฮอล์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์สาร Solasodine

4.2.1 ตู้อบความร้อน

4.2.2 Laboratory centrifuge

4.2.3 Water bath

4.2.4 เครื่องวัดความขุ่น spectophotometer (Spectonic 20)

4.2.5 Orbital Incubator & Shaker

4.2.6 บีกเกอร์ขนาด 10 50 มล.

4.2.7 Flask ขนาด 250 มล.

4.2.8 Volumetic flasks ขนาด 10 มล.

4.2.9 แท่งแก้วคน

4.2.10 กระบอกตวง ขนาด 50 และ 100 มล.

4.2.11 ปิเปต ขนาด 1 และ 10 มล.

4.2.12 โกร่งแก้วพร้อมตัวบด

4.2.13 Buret

4.2.14 หลอดวัดความขุ่น

4.2.15 Centrifuge tube ขนาด 15 มล.

4.2.16 กรวยกรองพลาสติก

4.2.17 กระดาษกรอง Whatman #1

4.2.18 กระดาษ pH ช่วง 1-11

4.2.19 Thermometer

4.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ทั่ว ๆ ไป

4.3.1 กระดาษ tissue

4.3.2 ฟิล์มสี Fujichrome DX 100 และฟิล์มสไลด์สี Fuji ISO 100

4.3.3 กล้องถ่ายภาพ Pentax K1000 รุ่น F 1.4

4.3.4 Aluminium foil wrap ขนาด 26 1/4 SQ.FT

4.3.5 ถุงร้อนใส P.P. 100 % ขนาด 6" x 9" และขนาด 8" x 12"

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3.6 สำลี (absorbent cotton wool)

4.3.7 กระดาษชั่งสารพร้อมช้อนตักสาร

4.3.8 จุกยาง ผ้าขาวบาง ถุงมือยาง สบู่ล้างมือ

5. สารเคมี

5.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงแคลลัส

5.1.1 Ammonium nitrate (NH_4NO_3) ANALAR
ของ E. Merck, Darmstadt

5.1.2 Boric acid (H_3BO_3) ANALAR
ของ Ajax Chemical Sydney Australia

5.1.3 Calcium chloride dihydrate ($CaCl_2.2H_2O$) ANALAR
ของ Merck, Darmstadt

5.1.4 Cholesterol ANALAR
ของ Fluka, AG

5.1.5 Chloroform Zur Analyse (Trichlormethan) ANALAR
ของ E. Merck, Darmstadt

5.1.6 Cobaltous chloride ($CoCl_2.6H_2O$) ANALAR
ของ The British Drug Houser Ltd., England

5.1.7 Copper sulfate ($CuSO_4.5H_2O$) ANALAR
ของ May & Baker LTD., England

5.1.8 Dinatrium acthylendiaminoetraceticum acido Etilen-Disod. Ethylenediamine tetraacetate (NaEDTA) ANALAR

5.1.9 Ferrous sulphate ($FeSO_4.7H_2O$) ANALAR
ของ BDH England

5.1.10 Glycine
ของ BDH England

5.1.11 Magnesium sulfate ($MgSO_4.4H_2O$) ANALAR
ของ May & Baker Ltd., England

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.1.12 Manganese sulfate ($MnSO_4.4H_2O$) ANALAR
ของ E. Merck, Darmstadt

5.1.13 Meso-inositol
ของ Fluka AG

5.1.14 Myso-inositol
ของ Sigma Chemical Company, U.S.A.

5.1.15 Nicotinic acid
ของ Fluka AG

5.1.16 p-chlorophenoxy-acetic acid
ของ Fluka AG

5.1.17 Potassium chloride (KCl) ของ BDH ANALAR

5.1.18 Potassium dihydrogen ($KH_4H_2PO_4$) ANALAR
ของ Ajax Chemical Sydney Australia

5.1.19 Potassium dihydrogen or thophosphate (KH_2PO_4) ANALAR
ของ BDH Chemical Ltd., Poole England

5.1.20 Potassium nitrate (KNO_3) ANALAR
ของ Fluka Ag

5.1.21 Potassium iodide (KI) ANALAR
ของ E.Merck

5.1.22 Sodium molybdate ($Na_2MoO_4.2H_2O$) ANALAR
ของ E.Merck, Darmstadt

5.1.23 Sucrose
ของ E. Merck, Darmstadt

5.1.24 Vitamin B_1 (thiamine hydrochloride)
ของ Fluka AG

5.1.25 Vitamin B_6 (pyridoxin-hydrochloride)
ของ Fluka AG

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.1.26 Zinc sulfate-7-hydrate ($ZnSO_4.7H_2O$)
ของ Ajax Chemical Sydney

5.1.27 ผงวุ้น (Bacto-Agar)
ของ Difco

5.1.28 น้ำกลั่นจากเครื่องแก้ว

5.2 สารเคมีที่ใช้เป็นสารควบคุมการเจริญ

5.2.1 2,4-Dichlorophenooxyacetic acid (2,4-D)
ของ BDH

5.2.2 Indole acetic acid (IAA)
ของ Fluka AG

5.2.3 Kinetin(6-furfurylamino purine)
ของ Fluka AG

5.3 สารเคมีที่ใช้ในการปรับ pH ในอาหาร

5.3.1 NaOH 1 N

5.3.2 HCl 1 N

5.3.3 Standard buffer solution pH 7 ของ Pope scientific inc

5.3.4 Standard buffer solution pH 4.01 ของ Pope scientific inc

5.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาสาร solasodine

5.4.1 Acetic acid glacial (CH_3COOH)
ของ Hopkin & Williams Ltd., England

5.4.2 Ammonium hydroxide (NH_4OH)
ของ Mallinckrodt Inc., Paris Kentucky

5.4.3 Formaldehyd solution (HCHO) ของ E.Merck Germany

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.4.4 Methanol (CH_3OH)

ของ E. Merck

5.4.5 Solasodine

ของ Sigma Chemical Company U.S.A.

5.4.6 Sulfuric acid (H_2SO_4)

ของ E. Merck

5.5 สารเคมีที่ใช้ในขบวนการฆ่าเชื้อ (sterile)

5.5.1 95 % Alcohol

ของโรงงานสุราอยุธยาประเทศไทย

5.5.2 Chlorox

ของคลอร็อกซ โอ๊คแลนด์ U.S.A.

5.6 สารเคมีที่ใช้เตรียมสารละลายทำความสะอาดเครื่องแก้ว

5.6.1 37 % Hydrochloric acid

ของ Riedel-de Haen

5.6.2 Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$)

ของ BDH

5.6.3 Lipon lemon ของ Lion Cooporation, Thailand

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวิจัย

1. เทคนิคการวิจัย

1.1 การฆ่าเชื้อเครื่องมือ เครื่องใช้ และอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.1.1 การฆ่าเชื้อในอาหารวุ้นและน้ำกลั่น

นำอาหารวุ้นที่เตรียมเรียบร้อยแล้วในขวด MC cartney พร้อมน้ำกลั่นที่บรรจุใน flask ปิดด้วย Aluminium foil นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ป/น^2 นาน 15 นาที

1.1.2 การฆ่าเชื้ออุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายเนื้อเยื่อ

1.1.2.1 นำอุปกรณ์ที่ต้องการนึ่งฆ่าเชื้อเช่น ปากคีบ มีดผ่าตัด ใบมีดผ่าตัด ผ้าขาวบาง บิกเกอร์ จานเลี้ยงเชื้อและกระดาษกรองที่ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ ห่อด้วย Aluminium foil นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ป/น^2 นาน 15 นาที

1.1.3 การฆ่าเชื้อภายในตู้ถ่ายเชื้อ

ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ 70 % เช็ดภายในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อที่พื้นโดยทั่ว ๆ ให้ตลอด รวมทั้งตะเกียงแอลกอฮอล์ให้สะอาด หลังจากนั้นเปิดแสงอุลตราไวโอเลตทิ้งไว้นานประมาณ 4 ชั่วโมง ก่อนมีการถ่ายเนื้อเยื่อ

1.1.4 การฆ่าเชื้อเมล็ดของพืชที่จะนำมาเพาะเลี้ยง

นำเอาเมล็ดที่ต้องการเพาะเลี้ยงแช่ลงในสารละลาย chlorox 10 % (ปริมาตร/ปริมาตร) เขย่าตลอดเวลานาน 20 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ขั้นตอนการล้างน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วจะทำในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ

1.2 การทำความสะอาดเครื่องแก้วต่าง ๆ ที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ

ทำเป็นขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

- แช่เครื่องแก้วต่าง ๆ ในสารละลายโปตัสเซียมไดโครเมตนาน 9-10 ชม.
- ล้างด้วยน้ำประปา 2 ครั้ง
- แช่และล้างด้วยสารละลาย Lipon F.
- ล้างด้วยน้ำประปา 3 ครั้ง
- ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง
- นำไปตากแห้ง หรืออาจจะนำไปอบให้แห้งพร้อมกับฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 150 °ซ นาน 24 ชม.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3 วิธีการถ่ายเนื้อเยื่อ

หลังจากเปิดแสงอุลตราไวโอเลตนาน 4 ชม. แล้วปิดแสงอุลตราไวโอเลต แล้วเปิด air flow ของตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ ทิ้งไว้ ประมาณ 20 นาที หลังจากนั้นทำความสะอาดภายในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อด้วย แอลกอฮอล์ 70 % และในขณะที่ทำการถ่ายเนื้อเยื่อจะเปิดเครื่องกรองอากาศตลอดเวลา

ขั้นตอนในการถ่ายเนื้อเยื่อ

1.3.1 ขั้นตอนการเพาะเมล็ดลงบนอาหารวุ้น

1. นำเมล็ดที่ฆ่าเชื้อและล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง มากรองด้วยผ้าขาวบางปล่อยให้เมล็ดแห้งบนผ้าขาวบาง

2. นำขวดอาหารเพาะเลี้ยงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วโดยการใช้แอลกอฮอล์ 70 % เช็ดรอบ ๆ ขวดก่อนนำเข้าตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ

3. ใช้ปากคีบ คีบเมล็ดใส่ลงในขวดอาหารเพาะเลี้ยงโดยใช้เมล็ดประมาณ 3-4 เมล็ดต่อ 1 ขวดอาหารเพาะเลี้ยง

1.3.2 ขั้นตอนการถ่ายเนื้อเยื่อของส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้าลงในอาหารเพาะเลี้ยง

1. นำเอาต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาตัดแยกส่วนต่าง ๆ คือ ใบ ลำต้น ราก โดยทำการแยกส่วนบนกระดาษกรองที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ด้วยมีดผ่าตัด ตัดให้ชิ้นส่วนของพืชแต่ละส่วนจะต้องมีขนาดเท่า ๆ กัน

2. นำชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชที่แยกแล้วย้ายลงในอาหารเพาะเลี้ยง โดยใช้ชิ้นส่วนของพืช 1 ชิ้นต่ออาหารเพาะเลี้ยง 1 ขวด

1.4 สภาพการเก็บขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นำขวดที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปเก็บที่ชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอุณหภูมิกลางวันประมาณ 28-29 °ซ ในช่วงกลางคืนมีอุณหภูมิ 25-26 °ซ โดยให้แสงสว่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากหลอดฟลูออเรสเซนต์นาน 9 ชม. ที่มีความเข้มของแสงประมาณ 2000 lx ขวดเพาะเลี้ยงอยู่ห่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ประมาณ 2 1/2 ฟุต (ภาพที่ 9)

ภาพที่ 7 แสดงการเก็บขวดเพาะเมล็ดบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2. วิธีการวิจัย

ตอนที่ 1 เปรียบเทียบการเจริญของแคลลัสและปริมาณ solasodine ใน S. laciniatum และ S. torvum จากสูตรอาหาร M.S.1 และ S.H.1

ขั้นตอนการวิจัย

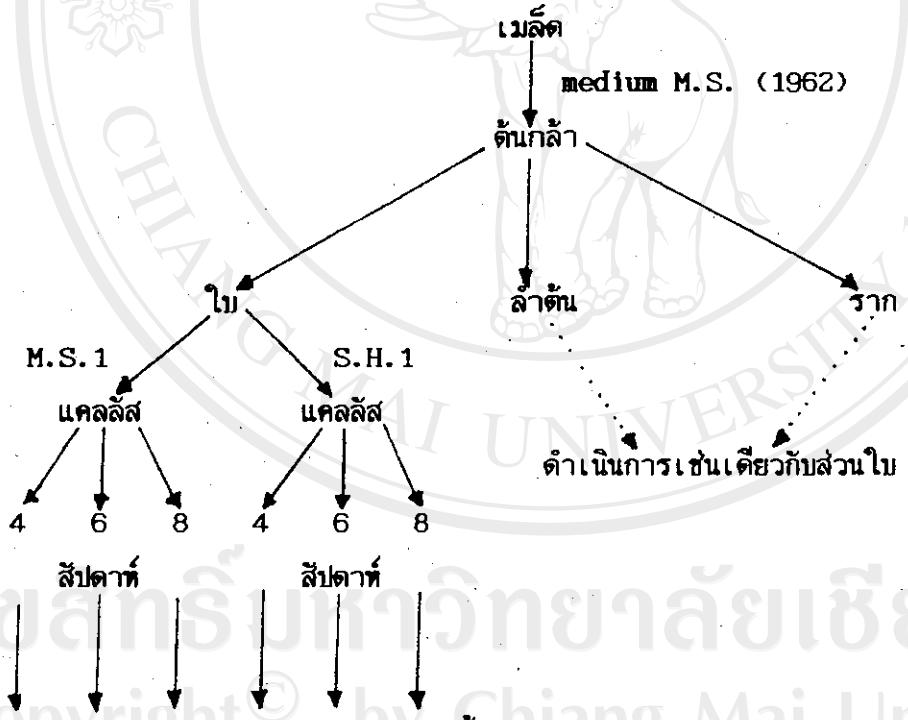
1. เพาะเมล็ดพันธุ์ S. laciniatum และ S. torvum ลงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) จนได้ต้นกล้า

2. นำเอาต้นกล้าที่มีอายุ 6 สัปดาห์ มาตัดเอาส่วนใบ ลำต้น และรากย้ายแต่ละส่วนลงบนอาหารสูตร M.S.1 และ S.H.1 (ตามวิธีการในข้อ 1.4) เลี้ยงจนกระทั่งเกิดแคลลัส

3. ชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของแคลลัส เมื่อแคลลัสอายุได้ 4 6 และ 8 สัปดาห์ โดยทำการทดลองอย่างละ 14 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. วิเคราะห์หาปริมาณ solasodine ในแคลลัสเป็น % ต่อน้ำหนักแห้ง เมื่อแคลลัสอายุได้ 4, 6 และ 8 สัปดาห์ (หลังจากชั่งหาน้ำหนักสดและแห้งแล้ว) ทำการวิเคราะห์อย่างละ 2 ซ้ำ ในแต่ละช่วงอายุของแคลลัสที่เจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงหนึ่งชนิด ในแต่ละซ้ำได้จาก 7 แคลลัสรวมกันเพื่อให้มีปริมาณแคลลัสเพียงพอต่อการตรวจสอบสาร solasodine ปริมาณสาร solasodine ที่วัดได้นำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (ดังแสดงในภาคผนวก)



*แต่ละซ้ำประกอบด้วย 7 แคลลัสรวมกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 2 เปรียบเทียบการเจริญของแคลลัสและปริมาณ solasodine ใน S. laciniatum และ S. torvum บนอาหารสังเคราะห์ สูตร M.S.1 ที่มี cholesterol ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ขั้นตอนการวิจัย

1. เพาะเมล็ดพันธุ์ S. laciniatum และ S. torvum ลงบนอาหารสูตร M.S. จนได้ต้นกล้า

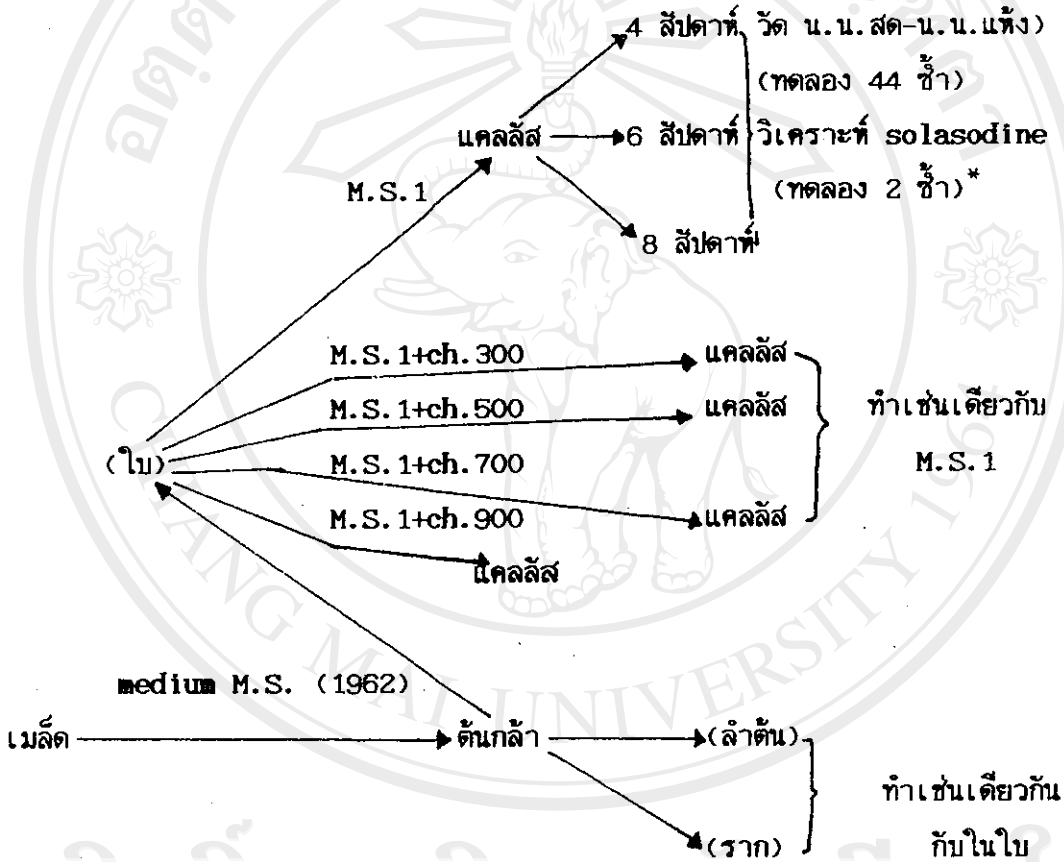
2. นำเอาต้นกล้าที่มีอายุ 6 สัปดาห์ มาตัดเอาส่วนใบ ลำต้น และราก ย้ายแต่ละส่วนลงในอาหารสูตร M.S.1, M.S.2, M.S,3, M.S.4 และ M.S.5 (ดูข้อ 3 หน้า 35 ประกอบ) เพาะเลี้ยงตามวิธีในข้อ 1.4 เลี้ยงจนกระทั่งเกิดเป็นแคลลัส

3. ชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของแคลลัส เมื่อแคลลัสอายุได้ 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ทำการทดลองอย่างละ 14 ซ้ำ

4. วิเคราะห์หาปริมาณ solasodine ในแคลลัสเป็น % ต่อน้ำหนักแห้ง เมื่อแคลลัสอายุได้ 4, 6 และ 8 สัปดาห์ (หลังจากชั่งหาน้ำหนักสดและแห้งแล้ว) ทำการวิเคราะห์อย่างละ 2 ซ้ำ ทำเช่นเดียวกับตอนที่ 1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แผนภาพขั้นตอนการทดลองตอนที่ 2



*แต่ละซ้ำประกอบด้วย 7 แคลลัสรวมกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการสกัดสารอัลคาลอยด์ (solasodine)

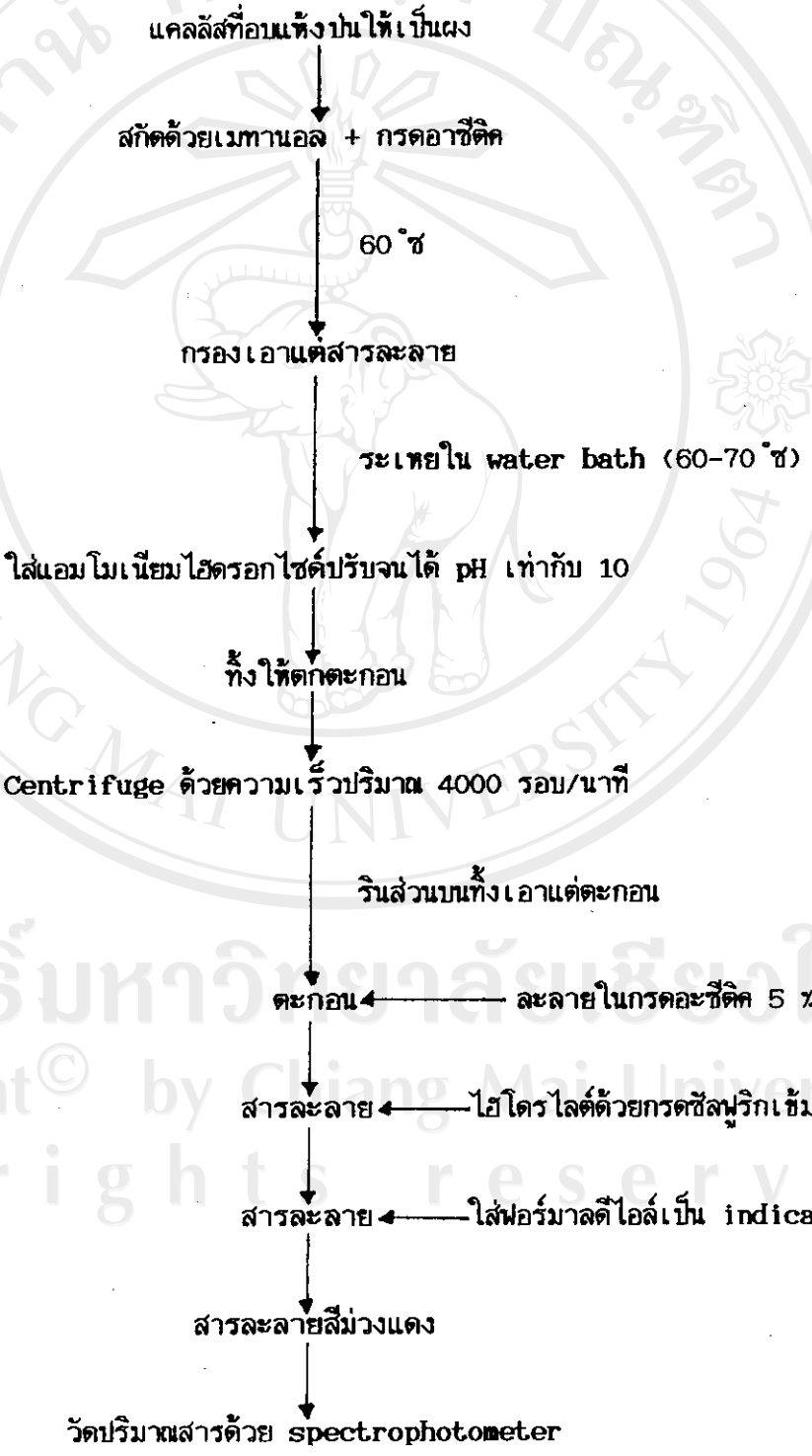
ใช้วิธีการของ Saber (1962)

ขั้นตอนการทำ

1. นำเอาแคลลัสที่อบแห้งมาบดให้ป่นเป็นผงด้วยโกร่งแก้ว นำไปใส่ใน flask
2. เติม methanol 80 มล. และตามด้วย glacial acetic acid 3 มล.
3. นำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 60 °ซ โดยใช้ speed 200 รอบ/นาที นาน 3-4 ชั่วโมง
4. นำสารละลายมากรองและนำเอาส่วนที่กรองได้ไประเหยใน water bath อุณหภูมิประมาณ 60-70 °ซ จนสารละลายที่ได้เหลือประมาณ 15-20 มล.
5. ใส่ Ammonium hydroxide ปรับจนได้ pH เท่ากับ 10
6. นำไปทำให้ตกตะกอนโดยการอุ่นใน water bath อุณหภูมิ 60-70 °ซ นาน 20 นาที
7. หลังจากนั้นนำไป centrifuge ด้วยความเร็วประมาณ 4000 รอบ/นาที นาน 1-2 ชั่วโมง
8. รินเอาสารละลายส่วนบนทิ้ง เหลือแต่ตะกอนสีขาวไว้
9. นำเอาตะกอนสีขาวที่ได้ไปละลายใน acetic acid 5 % ปริมาณ 10 มล.
10. นำ acetic acid 5 % (ที่มี solasodine ละลายอยู่) ปริมาณ 2 มล. ไปไตเตรทด้วย sulfuric acid 4 มล.
11. เติม formaldehyde (indicator) 2 มล. ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยาแล้วได้สารละลายสีม่วงแดง
12. นำไปวัดปริมาณสาร solasodine ด้วย spectrophotometer (spectonic 20) ด้วย wave length 570 nm

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แผนภาพขั้นตอนการสกัดสาร Solasodine



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระยะเวลา / การวิจัย	ปี พ.ศ.2530												พ.ศ.2531	
	มค.	กพ.	มีค.	เมย.	พค.	มิย.	กค.	สค.	กย.	ตค.	พย.	ธค.	มค.	กพ.
เพาะเมล็ด	←→		←→											
การเจริญของต้นกล้า	←	—	—	—	—	→								
เพาะเลี้ยงจนได้ แคลลัส				←	—	—	—	—	—	—	→			
ใน medium														
วิเคราะห์ปริมาณ						←	—	—	—	—	—	→		
solasodine														
สรุปผลการทดลองและเขียน												←	—	→
วิทยานิพนธ์														

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

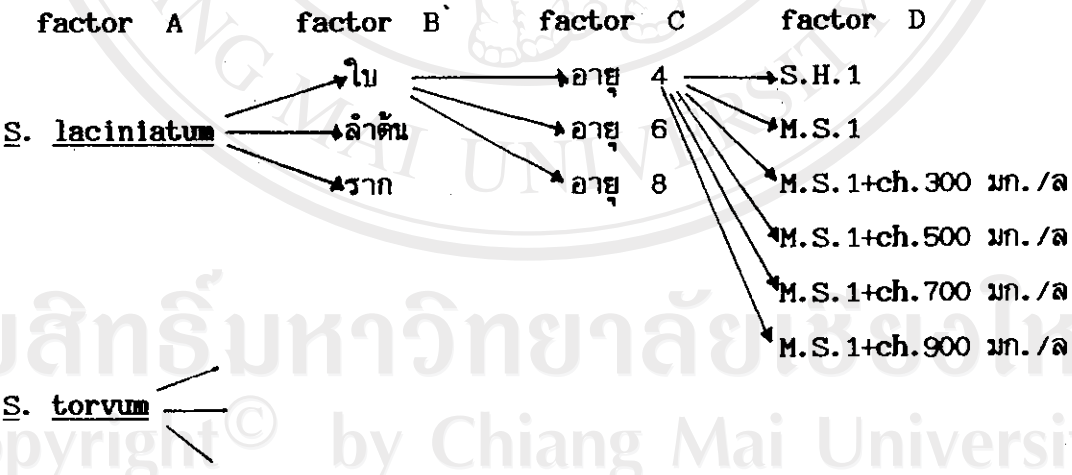
สถานที่ดำเนินงานวิจัย

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

- แผนการทดลองครั้งนี้ใช้แบบสุ่มตลอด
- คำนวณค่าทางสถิติแบบ factorial ประกอบด้วย 4 ปัจจัย (factor) แต่ละปัจจัยประกอบด้วยระดับต่าง ๆ ดังนี้

factor A มี 3 ระดับ
factor B มี 3 ระดับ
factor C มี 3 ระดับ
factor D มี 6 ระดับ
รวม 108 ทรีตเมนต์



การคิดระดับนัยสำคัญใช้การทดสอบแบบ F (F-test) โดยให้

** มีนัยสำคัญที่ 99 %
* มีนัยสำคัญที่ 95 %

- คำนวณเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยใช้แบบ LSD และ LSR (Duncan)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved