

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

LIBRARY AND INFORMATION CENTER

JRCTAF

ISSN 0028-0011

ปีที่ ๑๘ เล่มที่ ๑

๑ ก.ย. ๒๕๒๘

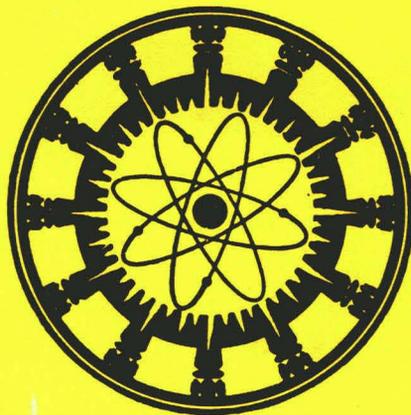
Vol. 18, No. 1

มกราคม - มิถุนายน ๒๕๒๘

January - June 1986

วารสาร

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



JOURNAL  
OF  
THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL  
OF THAILAND

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พิมพ์ปีละ ๒ ฉบับ การขอรับวารสารติดต่อกับ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

บางเขน กรุงเทพฯ ๑๐๕๐๐

ค่าบำรุง

ในประเทศ ปีละ ๖๐ บาท (รวมค่าส่ง)

ต่างประเทศ ปีละ ๑๘๐ บาท (รวมค่าส่ง)

**Journal of the National Research Council of Thailand** is a semiannual publication. Correspondences should be addressed to the National Research Council, Bangkok 10900, Thailand.

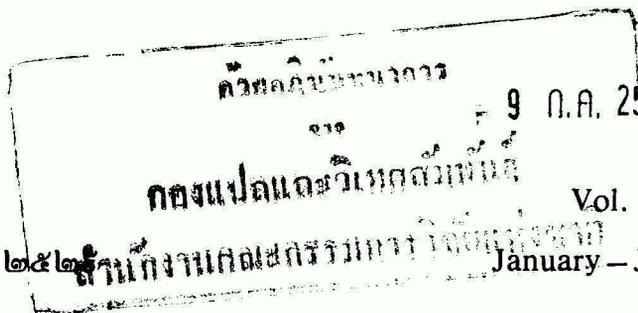
**Annual subscription**

Local 60 baht (postpaid)

Foreign 180 baht (U.S.\$7.00 postpaid)

ปีที่ ๑๘ เล่มที่ ๑

มกราคม - มิถุนายน ๒๕๒๙



9 ก.ค. 2529

Vol. 18, No. 1

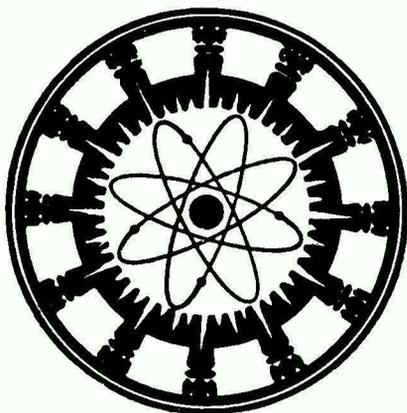
January - June 1986

สำนักบรรณสารการวิจัย

LIBRARY AND INFORMATION CENTER

วารสาร

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



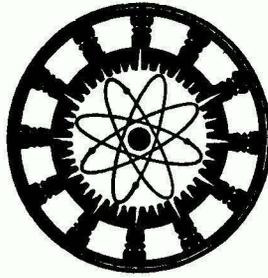
JOURNAL  
OF  
THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL  
OF THAILAND

พิมพ์ที่ บริษัท พิมพ์สยาม จำกัด  
๔๕/๑ ถนนสุขุมวิท ซอย ๓๖ กรุงเทพมหานคร โทร. ๒๕๘-๕๕๐๐-๒  
นายสว่าง เอื้องประสิทธิ์ ผู้พิมพ์ผู้โฆษณา พ.ศ. ๒๕๒๕

Printed at Siam Printing Co., Ltd.

45/1 Sukhumvit Soi 36, Bangkok. Tel. 258-9500-2

Mr. Sawang Euachongprasit Printer and Publisher, 1986.



สภาวิจัยแห่งชาติ  
NATIONAL RESEARCH COUNCIL

กรรมการบริหาร

EXECUTIVE BOARD

ประธาน สัญญา ธรรมศักดิ์  
กรรมการ สง่า สรรพศรี  
ประดิษฐ์ เชี่ยวสกุล  
ประเวศ วะสี  
พล.อ.อ.อรุณ พร้อมเทพ  
สุขุม ศรีชัยรัตน์  
ธงชัย ปกัสราทธ  
ประพฤษดิ์ ณ นคร  
จาริน อัดละโยธิน  
บุญเยี่ยม มีสุข  
วิทย์ วิศทเวทย์  
กำธร พันธุลาภ  
กระมล ทองธรรมชาติ  
วิชิตวงศ์ ณ ป้อมเพชร์  
นิพนธ์ กัณธเสวี

Chairman: Sanya Dharmasakti  
Committee: Sanga Sabhasri  
Pradisth Cheosakul  
Prawase Wasi  
A.C.M. Arun Promdhep  
Sukhum Sritanyaratana  
Tongchai Papasarathorn  
Praprit na Nagara  
Charin Atthayodhin  
Boonyium Meesook  
Wit Wisadavet  
Kamthorn Bhandhulabh  
Kramol Tongdhamachart  
Vichitvong Na Pombhejara  
Niphon Kantasewi

เลขาธิการฯ

จุมพล สวัสดิ์ยากร

Secretary - General:

Choompol Swasdiyakorn

รองเลขาธิการฯ ฝ่ายวิทยาศาสตร์  
อภิรัตน์ อรุณินท์

Deputy Secretary-General for Natural Science:

Aphirat Arunin

รองเลขาธิการฯ ฝ่ายสังคมศาสตร์  
สุมล ทรายแก้ว

Deputy Secretary-General for Social Science:

Sumol Saikeo

# วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

## คณะกรรมการที่ปรึกษา

ศาสตราจารย์ นายแพทย์อุดม โปษะกฤษณะ  
ศาสตราจารย์ (พิเศษ) ประดิษฐ์ เชี่ยวสกุล  
ศาสตราจารย์ ประเสริฐ ณ นคร

## คณะบรรณาธิการวารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

นายจุมพล สวัสดิ์ยากร	บรรณาธิการ
นายอภิรัตน์ อรุณินท์	ผู้ช่วยบรรณาธิการฝ่ายวิทยาศาสตร์
นางสุมล ทราญแก้ว	ผู้ช่วยบรรณาธิการฝ่ายสังคมศาสตร์
ศาสตราจารย์ วิรุฬห์ สายคณิต	ประจำกองบรรณาธิการ
ศาสตราจารย์ ประเสริฐ ทองเจริญ	"
รองศาสตราจารย์ อรรถพรณ มาตังคสมบัติ	"
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ บรรพต ณ ป้อมเพชร	"
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศศิธร บุญ-หลง	"
นายนิจ หิณูชีระนันท์	"
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกียรติขจร วัจนะสวัสดิ์	"
รองศาสตราจารย์ สุรพล ราชภัณฑารักษ์	"
นายชัยวัฒน์ วิบูลย์สวัสดิ์	"
รองศาสตราจารย์ เทียมพร ชีระสวัสดิ์	"
นางสาววนาศรี สามนแสน	ผู้จัดการ
นางอัจฉรา สุพรรณพัฒน์	ผู้ช่วยผู้จัดการ
นางสาวอัฐพร แจ่มใจ	"
นายวิเชียร คงทอง	"

# JOURNAL OF THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL

## ADVISORY BOARD

Udom Poshakrishna, M.B. (Med.)

Pradisth Cheosakul, Ph.D.

Prasert na Nagara, Ph.D.

## EDITORIAL BOARD

### Editor

Choompol Swasdiyakorn, M.Sc., Ph.D.

### Assistant Editor for Natural Science

Aphirat Arunin, Ph.D.

### Assistant Editor for Social Science

Sumol Saikeo, B.S.

## Representatives of the Divisions

### Physical Science and Mathematics:

Virulh Sa-yakanid, Ph.D. (Physics)

### Medical Science:

Prasert Thongcharoen, Dr. med., D.T.M.

### Chemical and Pharmaceutical Sciences:

Oraphan Matangkasombut, B.Sc. in Pharm.,  
Cert. Quality Control, Ph.D.

### Agriculture and Biology:

Banpot Napompeth, Ph.D. (Entomology)

### Engineering and Industrial Research:

Sasithorn Boon-Long, Dr. 3e Cycle  
(Chemical Engineering)

### Philosophy:

Nid Hinshiranan, M.R.P.

### Law:

Kietkajorn Vachanasvasti, S.J.D.

### Political Science and Public

Suraphol Rajbhandaraks,

### Administration:

Docteur en Droit

### Economics:

Chaiyawat Wibulsawasdi, Ph.D. (Econ.)

### Sociology:

Penporn Tiraswat, Ph.D.  
(Sociology Demography)

## BUSINESS STAFF

### Manager:

Wanasri Samanasena, M.A.

### Assistant Manager:

Achara Supanapat, B.A.

### Assistant Manager:

Addhaporn Jangjai, B.A.

### Assistant Manager:

Wichian Kongtong, B.Sc.

**วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ**  
**JOURNAL OF THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THAILAND**

**ภาค ๑**  
**วิทยาศาสตร์**

**PART I**  
**NATURAL SCIENCE**

# วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

Journal of the National Research Council

## ISOLATED LIVER CELL PREPARATIONS \*

เชลล์ตับอิสระ

Pornpen Pramyothin

พรเพ็ญ เปรมโยธิน

Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ABSTRACT

*Suspension of hepatocytes was isolated from the livers of male Wistar rats weighing 200-250 g by using the method of Berry and Friend as modified by Stacey and Priestly. Morphological features, plasma membrane integrity and metabolic capability were used as the criterion for cell viability. The successful method to obtain good cell preparations must involve three critical steps ; namely, exposure of the liver to a calcium free medium, digestion with collagenase in a recirculating system and gentle mechanical treatment. Albumin (1.2%) in the final medium which was used for suspending cells is necessary to maintain cell viability. Cell yields of  $2-3 \times 10^8$  cells were obtained with a trypan blue exclusion index of 90-98%. Cell preparations with a trypan blue exclusion index of less than 90% were not recommended for any studies.*

### บทคัดย่อ

เชลล์ตับอิสระเตรียมได้จากการแยกเซลล์ออกจากตับของหนูขาวใหญ่ เพศผู้ สกุล Wistar น้ำหนัก 200-250 ก. โดยใช้วิธีของ Berry และ Friend ซึ่งปรับปรุงโดย Stacey และ Priestly ลักษณะรูปร่างของเซลล์ ความคงตัวของผนังเซลล์ และความสามารถของเซลล์ในการเมตาบอลิซึมใช้ในการตรวจสอบว่า เซลล์ที่เตรียมได้นั้นเป็นเซลล์ที่มีชีวิตอยู่หรือไม่ วิธีการเตรียมเซลล์ที่ได้ผลดีจะต้องเกี่ยวข้องกับขั้นตอนสำคัญ 3 ขั้นตอน

\*This study was supported by Chulalongkorn University Research Fund 1982-1983.

คือ การผ่านน้ำยาที่ไม่มี  $\text{Ca}^{+2}$  เข้าไปในตับ การย่อยส่วนที่ติดกันของเซลล์ออกจากเอ็นไซม์ collagenase ในระบบหมุนเวียนกลับ (recirculating system) และการแยกเซลล์ออกจากกันด้วยแรงเบา ๆ พบว่าการเติม albumin (1.2%) ลงไปในน้ำยาสุดท้ายมีความสำคัญต่อการมีชีวิตอยู่ของเซลล์ เซลล์ที่บริสุทธิ์ที่เตรียมได้ในแต่ละครั้งจะมีค่าประมาณ  $2-3 \times 10^8$  เซลล์ โดยมีค่า trypan blue exclusion index อยู่ระหว่าง 90-98% สำหรับเซลล์ที่มีค่า trypan blue exclusion index ต่ำกว่า 90% นั้นไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการศึกษาใด ๆ

## INTRODUCTION

Early attempts to isolate hepatocytes by employing mechanical force<sup>3</sup> and subsequently, perfusion of the liver with  $\text{Ca}^{+2}$  or  $\text{K}^{+}$  chelators were unsuccessful in obtaining viable cells with high yields.<sup>9,12</sup> The major development was the introduction of collagenase and hyaluronidase for isolation of rat hepatocytes. This technique was first described by Howard et al.<sup>6,7</sup> The method was further modified by several investigators. Berry and Friend<sup>2</sup> introduced a recirculating perfusion technique, whereas Wagle and Ingebretsen<sup>22</sup> simplified the procedure by using collagenase as the only digestive enzyme. Seglen<sup>16</sup> preperfused the liver with calcium-free medium prior to the perfusion with collagenase in a calcium containing medium. These modifications decreased the perfusion time and increased viable cell yields.

The viability of cells was the important condition for relevant results. Therefore, several criteria for judging the intactness of hepatocytes were followed. These included the morphological features,<sup>9</sup> plasma membrane integrity,<sup>1,17</sup> cell respiration<sup>12</sup> and the capability to maintain biosynthetic and catabolic reactions.<sup>1,9</sup>

The factors involved in selecting suitable viability tests were the simplicity and sensitivity of the methods. In this study, the trypan blue exclusion test was used routinely to establish the viability of freshly prepared hepatocytes, while  $\text{K}^{+}$  retention and alanine aminotransferase (ALT) leakage were used to monitor the plasma membrane integrity during the course of an experiment.

The overall objective of this study was to set up a system for isolating rat liver cells. The criteria used for cell viability were based upon plasma membrane integrity and metabolic capability. Any preparations which were satisfied by these criteria should be recommended as a suitable model for studies on liver function, drug metabolism and drug induced toxicity.

## MATERIALS AND METHODS

Male Wistar rats weighing 200-250 g from Mahidol University Central Animal House were used as liver donors. They were allowed free access to food (Charlick's M and V mouse cubes) and water. Some experiments involved food deprivation (24 h fasting). Surgery was performed between 8.30-9.30 a.m. for each experiment. Under ether anesthesia, hepatocytes were isolated by the method of Berry and Friend<sup>2</sup> with some modifications by Stacey and Priestly.<sup>18</sup> Liver was perfused with  $\text{Ca}^{+2}$  free physiological solution (96 mM NaCl, 1.4 mM

KCl, 0.7 mM MgSO<sub>4</sub>, 2.5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 30 mM NaHCO<sub>3</sub> and 21.7 mM sodium gluconate, equilibrated with 95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub> at pH 7.4) via the portal vein. When the perfusion of all hepatic lobes was rapid and complete, the liver was perfused with 100 ml of 0.05% (w/v) collagenase (sigma type IV) in the same calcium free buffer equilibrated with carbogen (95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>), under the recirculating condition. Flow maintained at 30-35ml/min with a pressure head of 20 cm of water, and temperature was maintained at 37°C throughout the procedure.

After perfusion with collagenase (10-15 min), the liver was dispersed with a blunt spatula in 50 ml of fresh collagenase buffer (0.05%) and incubated (37°C, 80 oscillations/min) for 10 min. Bovine serum albumin (BSA) was added to give a final concentration of 12 mg/ml and cells were harvested through nylon mesh (250 - 61 μm). Hepatocytes were separated from other cells and cellular debris by differential centrifugation (50 G, 1 min). The resulting cell pellet was washed twice with this fresh physiological medium containing 12 mg/ml BSA and once with the incubation medium.<sup>10</sup> The final cell pellet was resuspended in the incubation medium at the concentration of approximately  $4-5 \times 10^6$  cells/ml. Viability of freshly isolated hepatocytes was determined routinely by the trypan blue exclusion test.<sup>17</sup> Cell preparations with a trypan blue exclusion index of less than 90% were never used in any studies.

Hepatocyte suspensions (3 ml) were incubated for 30 min at 37°C. Aliquots (0.5 ml) of cell suspension were centrifuged at 50 G for 1 min. ALT activity in the supernatant was determined by the method of Reitman and Frankel.<sup>14</sup> The cell pellet was extracted with 1 ml 3% (w/v) perchloric acid (PAC), then centrifuged at 3,500-5,000 rpm for 5-10 min. The resulting supernatant was diluted with distilled water and the K<sup>+</sup> concentration determined by flame photometer.

The gluconeogenic capacity of isolated cells was evaluated using the method of Cornell and Filkins.<sup>4</sup> Rats were fasted 24 h prior to isolation. After 1 h of incubation with 10 mM lactate, the samples were deproteinized with 1 ml each of 1.8% barium hydroxide and 2.0% zinc sulfate and centrifuged at 1,000 G, then 1 ml samples of supernatant were analyzed for glucose using the o-toluidine method.

Aminopyrine demethylase activity in cell suspension was determined by the method of Mazel.<sup>11</sup> Aliquots (2.5 ml) of cell suspension were incubated with 1 mM aminopyrine for 1 h. Formaldehyde formed during the incubation was trapped as the semicarbazone (by semicarbazide in the incubation medium) and measured by the colorimetric procedure of Nash.<sup>13</sup>

Cell counting, cell appearance and trypan blue exclusion tests of isolated hepatocytes were performed using a Nikon Optiphot light microscope at 40 × and 100 × magnification.

Electron micrographs of isolated cells were done by the transmission electron microscope. Cells were fixed with 1-2% OsO<sub>4</sub> in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.3 for 2 h. After washing with phosphate buffer, cells were dehydrated with ethanol (from 35% up to 100%) then infiltrated with propylene oxide and plastic mixture for 2-3 days. The embedded cells were sectioned with ultramicrotome and dyed with uranyl acetate and lead citrate prior to photomicrography.

## RESULTS

The morphology of freshly isolated adult rat hepatocytes was shown in Figure 1. Only viable cells with intact membrane excluded trypan blue. Cells obtained by this technique usually had the trypan blue exclusion index of 90-98%. They retained a rounded appearance and there was an abundance of normal-appearing intracellular organelles as shown in the electron micrographs (Figure 2).

The analysis of cell membrane integrity by  $K^+$  retention and ALT release before and after 30 min incubation was shown in Table 1. Values represent the mean  $\pm$  S.E. of 5 separated experiments.

Gluconeogenesis from lactate and microsomal aminopyrine demethylase activity were used as indices for metabolic capability of cells. Values as mean  $\pm$  S.E. from 3-5 separated experiments were shown in Table 2.

Trypan blue exclusion index was performed routinely for cell viability test. Cell preparations with a trypan blue exclusion index of less than 90% were never used in any studies. Addition of bovine serum albumin (1.2%) to the final medium for suspending cells improved cell viability as detected by trypan blue exclusion test (Table 3).

## DISCUSSION AND CONCLUSION

It was necessary to verify that isolated hepatocytes prepared by this technique were representatives of normal liver cells *in vivo*. The criteria used for cell viability are morphological features, plasma membrane integrity and capacity of cells to maintain biosynthetic and metabolic reactions.

For morphological features, nearly all of isolated cells retained their normal spherical shape with normal distribution and structure of organelles (Figures 1,2). The electron micrographs (Figure 2) of these cells were compared favourable with those reported by other investigators.<sup>2,8,9,15,22</sup> This suggested that cells isolated by the described procedure did not alter the morphology of cells.

Plasma membrane integrity were measured using trypan blue exclusion test,  $K^+$  retention and ALT release. The trypan blue exclusion test was used routinely to establish the viability of freshly isolated cells, while  $K^+$  retention and ALT release were used to monitor the plasma membrane integrity during the course of an experiment. The average values of initial  $K^+$  content and ALT release (Table 1) were consistent with those reported by Gottschall et al.<sup>5</sup> and other investigators.<sup>18,19,20</sup> In Table 1 the values of  $K^+$  retention and ALT release were persisted after 30 min of incubation. This indicated that the isolated cells could maintain

their intact membrane and plasma membrane integrity before or after incubation in the control environment.

The metabolic capability of cells as measured by gluconeogenesis from lactate and microsomal aminopyrine demethylase activity (Table 2) was comparable to other cell preparations prepared by other investigators.<sup>4,16,21</sup>

Suitable medium was required for good cell viability. Bovine serum albumin (1.2%) used for suspending cells in the final medium was found to be necessary (Table 3). Different laboratories seemed to use different kinds of medium, depending on their needs in experiments.

In conclusion, isolated hepatocytes obtained by this technique were morphologically intact and metabolically active. So they could be used as the representatives of normal liver cells *in vivo*.

## REFERENCES

1. Baur, H., Kasperek, S. and Pfaff, E. Criteria of viability of isolated liver cell. *Hoppe-Seyler's Z Physiol. Chem.*, 1975, **356**, 827-838.
2. Berry, M.N. and Friend, D.S. High yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells; a biochemical and fine structure study. *J. Cell Biol.*, 1969, **43**, 506-520.
3. Berry, M.N. The development of technique for the preparation of hepatic parenchymal cell suspensions-a history and rationale. In Tager, J.M., Soling, H.D. and Williamson, J.R. (eds.). *Use of Isolated Liver Cells and Kidney Tubules in Metabolic Studies*. North Holland Publishing Co., Amsterdam, 1976, 131-138.
4. Cornell, R.P. and Filkins, J.P. Characterization of gluconeogenesis in enzymatically isolated parenchymal cells of rat liver. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1974, **145**, 203-209.
5. Gottschall, D.W., Wiley, R.A. and Hanzlik, R.P. Toxicity of orthosubstituted bromobenzenes to isolated hepatocytes: comparison to *in vivo* results. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1983, **69**, 55-65.
6. Howard, R.B., Christensen, A.K., Gibbs, F.A. and Pesch, L.A. The enzymatic preparation of isolated intact parenchymal cells from rat liver. *J. Cell Biol.*, 1967, **35**, 675-684.
7. Howard, R.B. and Pesch, L.A. Respiratory activity of intact, isolated parenchymal cells from rat liver. *J. Biol. Chem.*, 1968, **234**, 3105-3109.
8. Howard, R.B., Lee, J.C. and Pesch, L.A. The fine structure, potassium content, and respiratory activity of isolated rat liver parenchymal cells prepared by improved enzymatic techniques. *J. Cell Biol.*, 1973, **57**, 642-658.
9. Jeejeebhoy, K.N. and Phillips M.J. Isolated mammalian hepatocytes in culture. *Gastroenterology*, 1976, **71**, 1086-1096.
10. Krebs, H.A. and Henseleit, K. Untersuchungen uber die Harnstoffbildung im Tierkorper. *Hoppe-Seyler's Z Physiol. Chem.*, 1932, **210**, 33-66.
11. Mazel, P. Experiments illustrating drug metabolism *in vitro*. In Ladu, B.N., Mandel, H.G. and Way, E.L., (eds). *Fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition*. Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1972, 546-550.
12. Moldeus, P., Hogberg, J. and Orrenius, S. Isolation and use of liver cells. *Meth. Enzymol.*, 1978, **52**, 60-71.
13. Nash, T. The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *J. Biol. Chem.*, 1953, **55**, 416-422.

14. Reitman, S. and Frankel, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1957, **28**, 56-63.
15. Schreiber, G. and Schreiber, M. The preparation of single cell suspensions from liver and their use for the study of protein synthesis. *Sub-cell Biochem.*, 1973, **2**, 307-353.
16. Seglen, P.O. Preparation of rat liver cells. III. Enzymatic requirements for tissue dispersion. *Exp. Cell Res.*, 1973, **82**, 391-398.
17. Seglen, P.O. Use of Isolated Liver Cells and Kidney Tubules in Metabolic Studies. North Holland Publishing Co., Amsterdam, 1976, 269.
18. Stacey, N. and Priestly, B.G. Dose-dependent toxicity of  $\text{CCl}_4$  in isolated rat hepatocytes and the effects of hepatoprotective treatments. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1978, **45**, 29-39.
19. Stacey, N.H. Cantilena, L.R. Jr. and Klaassen, C.D. Cadmium toxicity and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1980, **53**, 470-480.
20. Stacey, N.H. and Klaassen, C.D. Comparison of the effects of metals on cellular injury and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes. *J. Toxicol. Environ. Health*, 1981, **7**, 139-147.
21. Stewart, D.J., Inaba, T. and Kalow, W. N-demethylation of cocaine in the rat and in isolated rat hepatocytes : comparison with aminopyrine demethylation. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1978, **207**, 171-177.
22. Wagle, S.R. and Ingebretsen, W.R. Isolation, purification, and metabolic characteristics of rat liver hepatocytes. *Meth. Enzymol.*, 1975, **35**, 579-594.

**Table 1. Analysis of cell membrane integrity.**

Incubation time (min)	K <sup>+</sup> ( $\mu$ M/g cells)	ALT * (IU/g cells)
0	53.30 $\pm$ 1.11	3222.22 $\pm$ 104.17
30	52.93 $\pm$ 1.35	3553.82 $\pm$ 121.50

Values shown are mean  $\pm$  S.E. (n = 5)

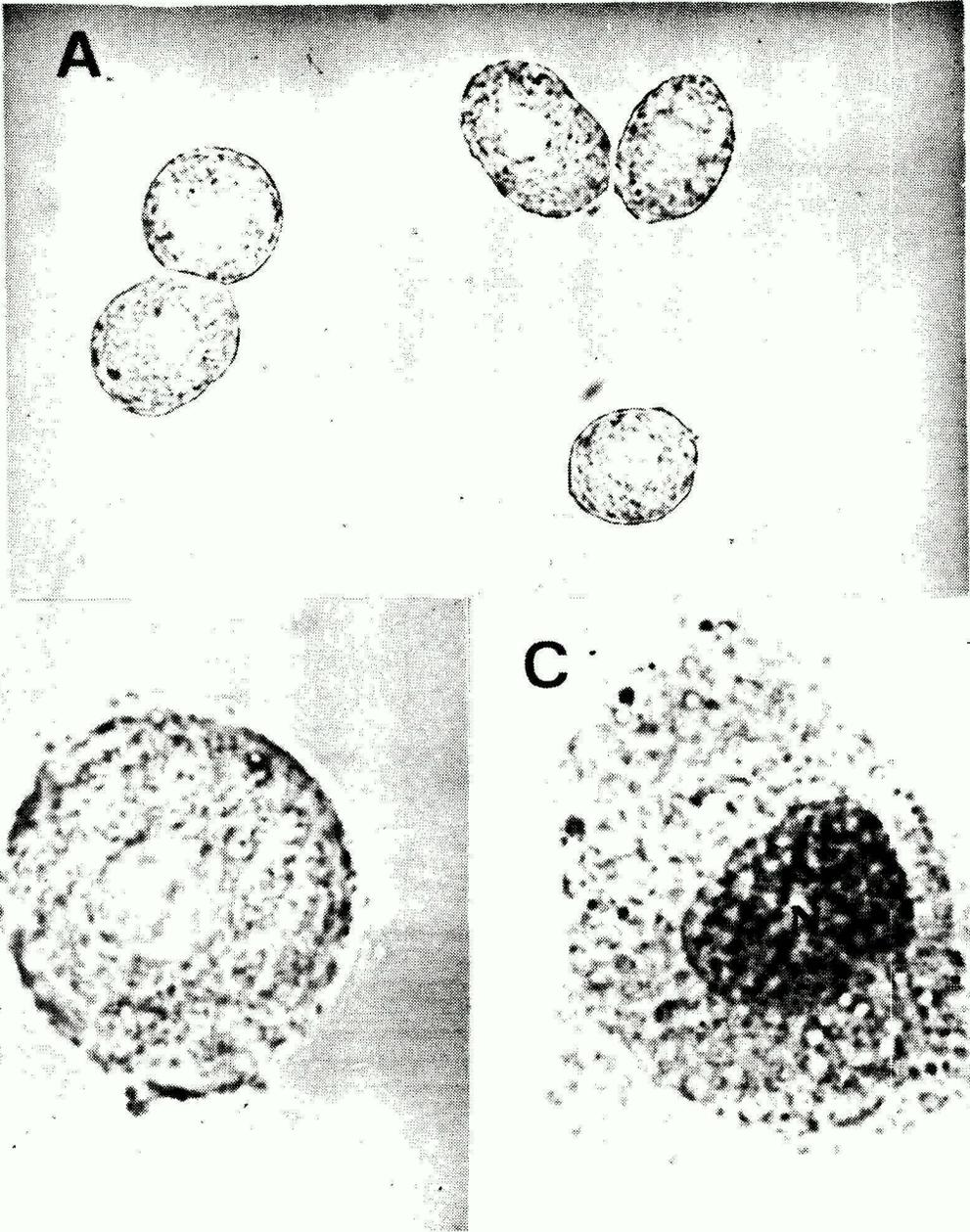
**Table 2. Metabolic capability of cells.**

Gluconeogenesis from lactate ( $\mu$ M Glucose formed/g cells/h)	Microsomal Aminopyrine Demethylase Activity ( $\mu$ M HCHO formed/g cells/30 min)
mean $\pm$ S.E. 21.00 $\pm$ 0.83 No. of experiment (n) = 5	mean $\pm$ S.E. 1.19 $\pm$ 0.11 No. of experiment (n) = 3

**Table 3. Effects of bovine serum albumin (BSA) on cell viability.**

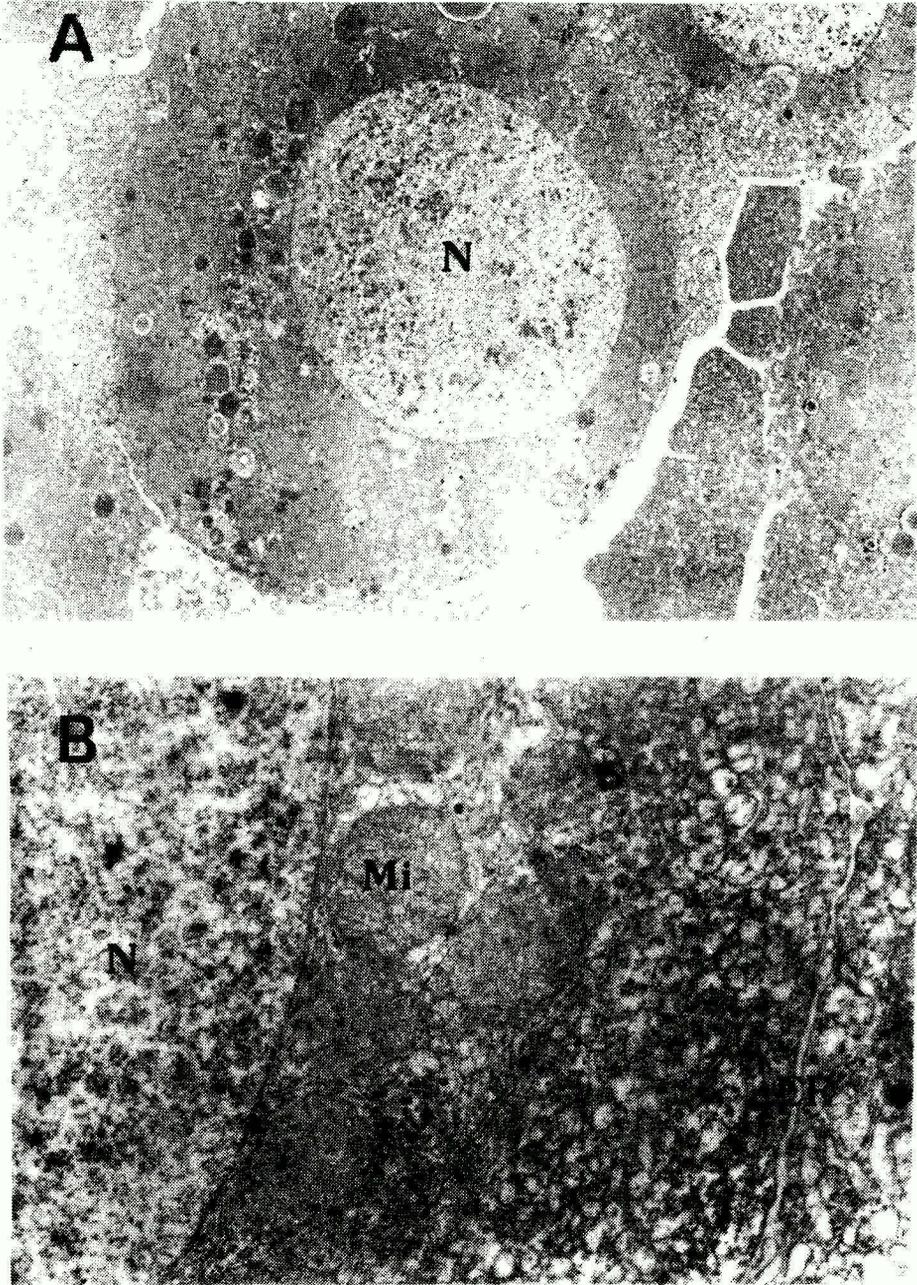
Trypan blue exclusion (%)	
Without BSA	With BSA
mean $\pm$ S.E. 73.8 $\pm$ 1.2 n = 5	mean $\pm$ S.E. 94.8 $\pm$ 0.9* n = 5

\*Significantly different from control (without BSA)  
(P < 0.05, t-test)



**Fig. 1** A. Suspension of freshly isolated rat hepatocytes in modified Krebs-Henseleit physiological solution ( $\times 40$ ).  
 B. Freshly isolated rat hepatocytes with rounded appearance ( $\times 100$ ).  
 C. Dead cell with stained nucleus (trypan blue) ( $\times 100$ ).

N = Nucleus



**Fig. 2 A.** Electron micrographs of freshly isolated rat hepatocytes with normal cell structure and organelles ( $\times 3,000$ ).

**B.** Electron micrographs of isolated rat hepatocytes with normal distribution and structure of mitochondria and endoplasmic reticulum ( $\times 15,000$ ).

**N = Nucleus      Mi = Mitochondria**

**ER = Endoplasmic reticulum**

ต้นฉบับเป็นหน้าว่าง

BLANK PAGE IN ORIGINAL

# การผลิตหัวย่อยของแกลดีโอลัสโดยการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อน\*

## GLADIOLUS CORMEL PRODUCTION BY YOUNG FLOWER STALK CULTURE

สอาด ร่มรื่นสุขารมย์  
Sa-ard Romroensukarom

ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
Department of Horticulture, Kasetsart University

### บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดีโอลัสในอาหารแข็ง ซึ่งประกอบด้วย macronutrient และ micronutrient ของ Murashige และ Skoog ร่วมกับ organic addenda ของ Nitsch & Nitsch พบว่าการวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนบนอาหารตั้งขึ้นตามทิศทางของช่อดอก จะทำให้เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตสูงกว่าการวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนในแนวนอน หรือกลับทิศทางในแนวตั้งและก้านช่อดอกอ่อนส่วนปลายช่อสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าก้านช่อดอกอ่อนส่วนโคนช่อ เมื่อนำเนื้อเยื่อที่ได้จากการเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อนมาเลี้ยงในอาหารที่เติม 6-benzylamino purine (BA) ตั้งแต่ 1.0-2.0 มก./ล. หรือใช้ร่วมกับ  $\alpha$ -naphthalene acetic acid (NAA) 0.1 มก./ล. เนื้อเยื่อจะมีการเจริญเติบโต สร้างตายอดและต้นแขนงจำนวนมาก และการเพิ่มปริมาณน้ำตาลจาก 30 เป็น 45 ก./ล. จะช่วยให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตเร็วขึ้นสร้างตายอดและต้นแขนงมากขึ้น อาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมคือ 0.4-0.8% จะทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโต สร้างต้นแขนงเป็นจำนวนมาก อาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นต่ำจะไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแขนง แต่การสร้างตายอดและต้นแขนงจะลดลง และอาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นสูงจะทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโต และการเกิดต้นแขนงลดลง

เมื่อย้ายเนื้อเยื่อที่มีตายอดและต้นแขนงจำนวนมากไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม BA หรือเติม BA ความเข้มข้นต่ำ จะทำให้ตายอดและต้นแขนงขนาดเล็กเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมาก เมื่อย้ายต้นแขนงเหล่านี้ไปเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. จะมีรากเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก สามารถย้ายออกมาปลูกเลี้ยงภายนอกได้ภายใน 8 สัปดาห์ ต้นแขนงที่ย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดรากจะสร้างหัวย่อย (cormel) และสามารถเก็บหัวย่อยได้ภายใน 4-5 เดือน การเปลี่ยนอาหารจำเป็นสำหรับการสร้างหัวย่อยที่มีขนาดใหญ่ขึ้น จำนวนหัวย่อยที่เกิดขึ้นจำนวนมาก มีผลทำให้ขนาดหัวย่อยลดลง อย่างไรก็ตาม การเพิ่มปริมาณน้ำตาลในอาหารให้สูงขึ้นจะทำให้ต้นแขนงสามารถสร้างหัวย่อยได้เร็วขึ้นและขนาดใหญ่ขึ้น

\* เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2528

โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร สามารถเก็บหัวย่อยได้ภายใน 3 เดือน จากการขยายพันธุ์โดยวิธีนี้สามารถผลิตหัวย่อยแกลดิโอลัสได้ 50,000-80,000 หัวย่อยต่อช่อดอกอ่อน 1 ช่อ ภายในเวลา 7-9 เดือน

### ABSTRACT

*Young flower stalk discs of gladiolus were aseptically cultured on a solid medium of Murashige and Skoog's macro-micronutrient and Nitsch & Nitsch's organic addenda. The discs of young flower stalk which were placed according to polarity on an agar medium grew better than those placed on a horizontal or reverse polarity. Tissues thus obtained produced callus, buds and adventitious shoots. They could be multiplied by subculturing them in a similar agar medium containing 1.0-2.0 mg/l, 6-benzylamino purine (BA) or BA with 0.1  $\alpha$ -naphthalene acetic acid (NAA). Increasing sucrose concentration from 30 g/l to 45 g/l promoted growth, number of shoot buds and adventitious shoots. Also the optimum agar concentration (0.4-0.8%) in the medium increased number of shoot buds and shoot formation. A low agar concentration promoted shoot growth only, but reduced number of shoot buds and shoot formation. A high agar concentration decreased both shoot proliferation and shoot growth.*

*After transferring shoot buds and small shoots to a basal or a low-BA medium, the elongation of buds and small shoots occurred and grew uniformly. When shoots were transferred to a rooting medium containing 0.1 mg/l NAA, roots developed and plantlets could be transplanted within 8 weeks. Development of a small size cormel occurred and could be harvested within 4-5 months after a shoot was cultured on a rooting medium. Subculturing plantlets to a fresh medium was necessary to obtain cormels of larger size. Increasing sugar concentrations in the medium could promote larger cormel within 3 months without subculturing. By this propagating method, 50,000-80,000 cormels could be produced per flower stalk within 7-9 months.*

### คำนำ

แกลดิโอลัส (*Gladiolus hybrida*) เป็นไม้ดอกที่ให้ความสวยงามชนิดหนึ่ง มีถิ่นกำเนิดแถบเมดิเตอร์เรเนียนและแอฟริกาใต้<sup>26</sup> มีผู้นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายทั้งในยุโรปและอเมริกา โดยเฉพาะที่มลรัฐฟลอริดาประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นแหล่งผลิตใหญ่ที่สุด<sup>1</sup> ปัจจุบันแกลดิโอลัสเป็นไม้ดอกที่กำลังได้รับความนิยมในประเทศไทย ไม่ว่าจะใช้เป็นไม้ตัดดอกหรือไม้ดอกประดับแปลงและตกแต่งสถานที่ ทั้งนี้เนื่องมาจากดอกสวยงามมีหลายสี และมีอายุการบานได้นานหลายวัน ช่อดอกยาวเหมาะสำหรับปักแจกัน จึงมีแนวโน้มว่าไม้ดอกชนิดนี้จะได้รับความนิยมมากขึ้นในอนาคต

สำหรับแกลดิโอลัสพันธุ์ลูกผสมต่างประเทศนั้น ทางภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้สั่งเข้ามาจากต่างประเทศเพื่อทำการคัดเลือกพันธุ์ รวมทั้งผสมพันธุ์เพื่อให้เกิดพันธุ์ใหม่ที่เหมาะสมสำหรับปลูกในประเทศไทย และขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณที่เพียงพอเพื่อส่งเสริมให้ผู้นิยมปลูกมากขึ้น แต่ในปีหนึ่ง ๆ พันธุ์ที่สั่งเข้ามาซึ่งมีราคาค่อนข้างแพง ตลอดจนปริมาณก็ยังไม่เพียงพอ การขยายพันธุ์ด้วยวิธี

ธรรมชาติ เพื่อให้ได้ปริมาณมากต้องใช้เวลานาน ดังนั้นเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการขยายพันธุ์เกลดิโอลัสให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาดังนั้น คลอดจนได้ต้นที่ตรงตามพันธุ์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของเกลดิโอลัสมีแนวโน้มว่าจะเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่สามารถเพิ่มปริมาณหัวได้อย่างรวดเร็วและประหยัด เพราะเนื้อเยื่อส่วนของหัว (corm) เมื่อนำไปเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจะทำให้สูญเสียหัวพันธุ์ไป รวมทั้งโอกาสที่จะได้เนื้อเยื่อที่ปราศจากเชื้อโรคมักมีน้อยกว่าการใช้เนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อน ดังนั้นการผลิตหัวย่อยของเกลดิโอลัสโดยการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อนจึงน่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์ต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

1. ช่อดอกอ่อนของเกลดิโอลัสพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีความยาวประมาณ 15-30 ซม. พันธุ์ละ 1-3 ช่อ
2. สารละลายที่ใช้ทำความสะอาดเนื้อเยื่อได้แก่ คลอโรกซ์ (Chlorox) และทีโพล (Teepol)
3. สารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหารซึ่งประกอบด้วย macro- และ micronutrient ของ Murashige และ Skoog<sup>14</sup> และ organic addenda ของ Nitsch & Nitsch
4. สารเร่งการเจริญเติบโต ได้แก่  $\alpha$ -naphthalene acetic acid (NAA) และ 6-benzylamino purine (BA)

### วิธีการ

1. การเตรียมอาหาร เตรียมอาหารแข็งโดยมีองค์ประกอบของ macro-และ micronutrient ของ Murashige และ Skoog<sup>14</sup> และ organic addenda ของ Nitsch & Nitsch เติมน้ำตาล (sucrose) 3% เติม BA และ/หรือ NAA ความเข้มข้นต่างกันไปตามการทดลอง ปรับ pH ให้ได้  $5.8 \pm 0.1$  โดยใช้ 1 N NaOH และ 1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ใส่ใน (Difco-bacto agar) 0.8% เทยวจนวันละลายหมดแล้วจึงบรรจุอาหารลงในขวด เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปิดฝาด้วยกระดาษตะกั่ว (aluminum foil) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว นาน 20 นาที

2. การทำความสะอาดเนื้อเยื่อ นำช่อดอกอ่อนเกลดิโอลัสที่มีความยาว 15-30 ซม. พันธุ์ละ 1-3 ช่อ มาลอกใบ ปลิดกาบหุ้มดอกและดอกออก แล้วตัดเป็นท่อนยาวท่อนละประมาณ 10 ซม. โดยแยกเป็นส่วนปลายช่อ (ช่วง 10 ซม. จากปลายช่อ) และส่วนโคนช่อ (ส่วนที่ต่ำกว่า 10 ซม. จากปลายช่อ) นำไปแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ 10% เติมทีโพล 2-3 หยด เขย่าบนเครื่องเขย่านาน 10 นาที แล้วจึงย้ายไปแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ 1% เติมทีโพล 2-3 หยด เขย่าบนเครื่องเขย่านาน 30 นาที ล้างส่วนของช่อดอกอ่อนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในตู้ถ่ายเชื้อ 3 ครั้ง

3. การตัดและการเลี้ยงเนื้อเยื่อ นำส่วนของช่อดอกที่ปลอดเชื้อแล้วมาตัดตามขวาง แต่ละชิ้นหนา 5-7 มม. ภายได้สภาพปลอดเชื้อ นำชิ้นก้านช่อดอกอ่อนไปเลี้ยงในอาหารที่เตรียมไว้ แล้วจึงย้ายไปเลี้ยงในห้อง

ที่มีอุณหภูมิ  $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ . ได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ นาน 24 ชม.

#### การวางแผนการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของก้านช่อดอกอ่อนส่วนโคนช่อและส่วนปลายช่อที่วางในทิศทางต่าง ๆ กัน

ศึกษาการเจริญเติบโตไปเป็นแคลลัสและต้นแขนงของก้านช่อดอกอ่อนส่วนปลายช่อและส่วนโคนช่อ โดยเปรียบเทียบการวางในแนวตั้ง แนวราบ และกลับทิศทางในแนวตั้ง อย่างละ 1 ช่อ (11 พันธุ์) เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 2 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 2 ศึกษาระดับความเข้มข้นของ BA และ NAA ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ

นำเนื้อเยื่อที่เจริญดีจากการทดลองที่ 1 มา 5 พันธุ์ เพื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA และ NAA ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันตั้งแต่ 0–3.0 มก./ล. และ 0–2.0 มก./ล. ตามลำดับ โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial Experiment in Completely Randomized Design (CRD) การทดลองนี้มี 30 ชุด (treatment) แต่ละชุดมี 5 ซ้ำ ใช้เวลาทดลอง 6 สัปดาห์

การทดลองที่ 3 ศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ

นำเนื้อเยื่อจาก 3 พันธุ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของน้ำตาลตั้งแต่ 0–6.0% โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD การทดลองมี 5 ชุดแต่ละชุดมี 5 ซ้ำ ใช้เวลาทดลอง 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 4 ศึกษาระดับความเข้มข้นของวุ้น (Difco-bacto agar) ต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ

นำเนื้อเยื่อจาก 3 พันธุ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของวุ้นตั้งแต่ 0–1.2% โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD การทดลองนี้มี 7 ชุด แต่ละชุดมี 5 ซ้ำ ใช้เวลาทดลอง 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 5 การเร่งให้ตายอดและต้นแขนงขนาดเล็กเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงขนาดสม่ำเสมอจำนวนมากเพื่อนำไปใช้ในการชักนำให้เกิดรากต่อไป

นำเนื้อเยื่อที่มีตายอดและต้นแขนงจำนวนมากมาเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้นต่ำตั้งแต่ 0, 0.5 และ 1.0 มก./ล. เพื่อชักนำให้เกิดต้นแขนงขนาดสม่ำเสมอจำนวนมากใช้เวลาทดลอง 3 สัปดาห์

การทดลองที่ 6 การชักนำให้ต้นแขนงสร้างรากจำนวนมาก และเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์เพื่อย้ายต้นมาปลูกเลี้ยงภายนอก

แยกต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจากการทดลองที่ 5 มาเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ กันโดยวางแผนการทดลองแบบ CRD การทดลองนี้มี 10 ชุด แต่ละชุดมี 14 ซ้ำ ใช้เวลาทดลอง 6 สัปดาห์

การทดลองที่ 7 ศึกษาจำนวนครั้งในการเปลี่ยนอาหารที่มีผลต่อการสร้างขนาดและน้ำหนักสดของ

ห้วยย่อย การเจริญเติบโตของต้นแขนง จำนวนใบ ความยาวใบ รวมทั้งศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างห้วยย่อยของต้นแขนงใช้เวลาทดลอง 5 เดือน

## ผล

### การทดลองที่ 1

จากการทดลองพบว่า การวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนตั้งขึ้นตามทิศทางของช่อดอกโดยให้ส่วนโคน (proximal end) ติดกับอาหาร จะทำให้ชิ้นก้านช่อดอกมีการเจริญเติบโตไปเป็นเกล็ดส และต้นแขนงได้ดีกว่า การวางในแนวราบหรือกลับทิศทางและชิ้นก้านช่อดอกส่วนปลายช่อสามารถเจริญเติบโตไปเป็นเกล็ดสและต้นแขนงได้ดีกว่าส่วนโคนช่อ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตแตกต่างกันไปตามพันธุ์ พันธุ์ Formality มีการเจริญเติบโตดีที่สุด คือ 91.89% รองลงมาคือพันธุ์ Wine & Rose 89.74% และพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตต่ำสุดคือพันธุ์ Golden Shown 60.53% (ตารางที่ 1)

### การทดลองที่ 2

จากการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อน 5 พันธุ์ในอาหารแข็งที่เดิม BA ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0-3.0 มก./ล. และ NAA 0-2.0 มก./ล. พบว่าพันธุ์ Formality จะมีเนื้อเยื่อที่เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารที่เดิม BA 1.5-2.0 มก./ล. และสร้างรากได้ดีที่สุดในอาหารที่เดิม NAA 0.1 มก./ล. (ตารางที่ 2) พันธุ์ Wine & Rose เนื้อเยื่อเจริญดีที่สุด ในอาหารที่เดิม BA 1.5 มก./ล. และสร้างรากได้ดีที่สุดในอาหารที่เดิม NAA 0.1 มก./ล. (ตารางที่ 3) สำหรับพันธุ์ Dottee Dee, Violetta x True Love และ Violetta x Mardigras ก็จะมีผลการทดลองใกล้เคียงกัน ซึ่งระดับความเข้มข้นของ BA และ NAA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อแตกต่างกันไปตามพันธุ์ (ตารางที่ 4,5,6)

### การทดลองที่ 3

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 3 พันธุ์ ในอาหารที่เดิม BA 1.0 มก./ล. และความเข้มข้นของน้ำตาล จาก 0, 1.5, 2.0, 4.5 และ 6.0% พบว่าเนื้อเยื่อจะมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปตามพันธุ์และความเข้มข้นของน้ำตาล สำหรับพันธุ์ Dottee Dee ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมน้ำตาลจะขาวซีดตายภายใน 2 สัปดาห์ และมีน้ำหนักสดเฉลี่ยน้อยมาก เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมน้ำตาลด้วยน้ำหนักสดเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น การเกิดตายอดและต้นแขนงจะเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาล 6.0% เนื้อเยื่อจะมีน้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 10.27 ก. และมีจำนวนต้นแขนงที่ยาวกว่า 1 ซม. 17.0 ต้น ส่วนที่ความเข้มข้นน้ำตาล 4.5% มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 8.28 ก. แต่มีจำนวนต้นแขนงที่ยาวกว่า 1 ซม. มากที่สุดคือ 32.8 ต้น (ตารางที่ 7) ส่วนพันธุ์ Violetta x True Love และพันธุ์ Violetta x Mardigras ก็พบว่าการตอบสนองคล้ายคลึงกับพันธุ์ Dottee Dee อย่างไรก็ตาม จากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลให้สูงขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตของต้นแขนงลดลง จากการเปรียบเทียบพันธุ์ Dottee Dee กับพันธุ์ Violetta x True Love พบว่าการสร้างต้นแขนงที่มีขนาดมากกว่า 1 ซม. ได้ดีที่สุด ในอาหารที่เติมน้ำตาล 4.5% และเมื่อระดับความเข้มข้นของน้ำตาลเกินกว่านี้การสร้างต้นแขนงที่มีขนาดยาวกว่า 1 ซม. จะเริ่มลดลง

#### การทดลองที่ 4

จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ 3 พันธุ์ในอาหารที่เติม BA 1.0 มก./ส. และมีระดับความเข้มข้นของวุ้นต่าง ๆ กันคือ 0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0 และ 1.2% พบว่าอาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นสูงจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อและการสร้างต้นแขนง อาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นต่ำจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแขนง เนื้อเยื่อพันธุ์ Dottee Dee จะมีน้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 8.58 ก. เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมวุ้น 0.8% และจะเริ่มลดลงเมื่อความเข้มข้นของวุ้นมากขึ้น การเกิดตายอดและต้นแขนงมีมากที่สุดในการเติมวุ้น 0.4% และจะเริ่มลดลงเมื่อความเข้มข้นของวุ้นมากขึ้น พันธุ์ Violetta x True Love จะมีน้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 7.88 ก. เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมวุ้น 0.8% การเกิดตายอดและต้นแขนงดีที่สุดในการเติมวุ้น 0.4% ส่วนพันธุ์ Violetta x Mardigras จะมีน้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 7.39 ก. ในอาหารที่เติมวุ้น 0.8% และมีต้นแขนงมากที่สุดในอาหารที่เติมวุ้น 0% (ตารางที่ 8)

#### การทดลองที่ 5

จากการทดลองย้ายเนื้อเยื่อ 3 พันธุ์จากขั้นตอนที่ 2 และ 3 มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตรเดียวกันที่มี BA 0, 0.05 และ 0.1 มก./ล. พบว่าพันธุ์ Dottee Dee มีต้นแขนงขนาด 5 ซม.ขึ้นไป ซึ่งเหมาะต่อการแยกไปชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดในอาหารที่ไม่เติม BA ส่วนพันธุ์ Violetta x True Love จะเกิดต้นแขนงที่มีขนาด 5 ซม.ได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม BA 0.1 มก./ล. และพันธุ์ Violetta x Mardigras จะเกิดต้นแขนงที่มีขนาด 5 ซม.ขึ้นไปได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม BA 0-0.05 มก./ล. (ตารางที่ 9) เนื้อเยื่อทั้ง 3 พันธุ์เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ BA ให้สูงขึ้นมีแนวโน้มที่จะทำให้ต้นแขนงที่มีขนาด 5 ซม.ขึ้นไปลดลง ขณะที่ต้นแขนงที่มีขนาดเล็กกว่า 5 ซม.เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มจลความเข้มข้นของ BA ขึ้นไปถึง 0.1 มก./ล. เนื้อเยื่อจะมีการเจริญเติบโตและแตกแขนงเพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันการเจริญเติบโตของต้นแขนงจะลดลง

#### การทดลองที่ 6

จากการทดลองย้ายต้นแขนง 3 พันธุ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ที่เติม NAA หรือใช้ NAA ร่วมกับ ผงถ่าน (activated charcoal) พบว่าต้นแขนงพันธุ์ Dottee Dee และพันธุ์ Violetta x True Love มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากจำนวนมากคือ 92.86% และ 92.88% ตามลำดับ ตลอดจนมีการเจริญเติบโตของต้นแขนงได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. ส่วนพันธุ์ Violetta x Mardigras มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและสร้างรากจำนวนมากคือ 92.86% ในอาหารที่ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่งและเติม NAA 0.1 มก./ล. (ตารางที่ 10,11,12)

#### การทดลองที่ 7

หลังจากย้ายต้นแขนงที่มีขนาดเหมาะสมมาเลี้ยงในอาหารที่เติมสารเร่งการเจริญเติบโต หรือเติม NAA ในปริมาณน้อย ๆ เพื่อให้การเจริญเติบโตของรากดีขึ้น การสร้างหัวขนาดเล็กจะเกิดขึ้นภายในเวลา 1-2 เดือน ขนาดของหัวย่อยขึ้นอยู่กับความแข็งแรง ขนาดของต้น การเปลี่ยนอาหาร ตลอดจนสภาพแวดล้อม และสามารถเก็บเกี่ยวหัวย่อยได้ในเวลา 4-5 เดือน จากการเปรียบเทียบต้นที่มีการเปลี่ยนอาหารกับต้นที่ไม่มีการเปลี่ยนอาหาร พบว่าต้นที่มีการเปลี่ยนอาหารจะมีจำนวนใบต่อต้น ความยาวใบ ขนาดหัวย่อย และน้ำหนัก

สดของหัวย่อย สูงกว่าต้นที่ไม่เปลี่ยนอาหาร อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนอาหารควรอยู่ในช่วงที่ต้นยังไม่เกิดรากหรือมีรากน้อยและสั้น เพราะการเปลี่ยนอาหารในช่วงที่มีรากมากและยาว จะทำให้รากกระทบกระเทือนต้นจะชะงักการเจริญเติบโต การสร้างหัวย่อยจะช้าและมีขนาดเล็กลงด้วย และยังพบว่าชิ้นส่วนใดมีการสร้างหัวย่อยน้อย หัวย่อยจะมีขนาดใหญ่กว่าหัวย่อยที่เกิดจากชิ้นส่วนที่มีจำนวนหัวย่อยมาก (ตารางที่ 13,14)

จากการทดลองผลของความเข้มข้นน้ำตาลต่อการสร้างหัวย่อยของพันธุ์ Dottee Dee, Violetta x True Love และ Violetta x Mardigras พบว่าทั้ง 3 พันธุ์จะมีการสร้างรากเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นจาก 3,6 และ 9% (ตารางที่ 15) และเมื่อใช้ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล. ต้นแขนงจะสร้างรากจำนวนมาก แต่ปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตของต้นแขนงช้าลง และการเลี้ยงต้นแขนงในอาหารเป็นเวลา 3 เดือน โดยไม่มีการเปลี่ยนอาหารพบว่า ต้นแขนงที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลจะไม่มีการสร้างรากและหัวย่อยเกิดขึ้นเลย ส่วนต้นแขนงที่เลี้ยงในอาหารผสมน้ำตาลจะมีการเจริญเติบโตสร้างรากและหัวย่อย ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวย่อยและน้ำหนักสดของหัวย่อยจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น และสามารถเก็บหัวย่อยได้เร็วขึ้น 2 เดือน แต่ปริมาณน้ำตาลที่สูงขึ้นจะทำให้จำนวนหัวย่อยลดลง

## วิจารณ์

การศึกษาและทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนเพื่อผลิตหัวย่อยของเกล็ดโคลัสได้แบ่งขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเป็นหลายขั้นตอน การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อในแต่ละขั้นตอนก็แตกต่างกันไปซึ่งมีผลมาจากปัจจัยต่าง ๆ คือ

**การชักนำให้ชิ้นก้านช่อดอกอ่อนมีการเจริญเติบโตเป็นแคลลัส ตายอด และต้นแขนงจำนวนมากเพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณต่อไป** มีปัจจัยบางชนิดที่สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนคือ

### โพลาริตี

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นก้านช่อดอกอ่อนของเกล็ดโคลัสในอาหารแข็งที่ประกอบด้วย macro-และ micronutrient ของ Murashige และ Skoog<sup>14</sup> ร่วมกับ organic addenda ของ Nitsch & Nitsch เดิม BA 2.0 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล. พบว่าการวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนบนอาหารในลักษณะที่ตั้งขึ้นตามทิศทางของช่อดอกและวางในแนวนอนทำให้เปอร์เซ็นต์ของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนมีการเจริญเติบโตสูงกว่าการวางชิ้นก้านช่อดอกอ่อนในลักษณะกลับทิศทางในแนวตั้ง การเกิดแคลลัสและต้นแขนง จะเกิดที่ด้านปลายด้านใดด้านหนึ่งของชิ้นก้านช่อดอกอ่อน ส่วนใหญ่มักเกิดทางด้านปลาย ส่วนด้านโคนเป็นส่วนที่สัมผัสกับอาหาร การกลับทิศทางของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนในแนวตั้งจะทำให้เปอร์เซ็นต์ของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนมีการเจริญเติบโตน้อยมาก เพราะว่าโพลาริตีเป็นลักษณะประจำในการปักชำ ส่วนโคนมักเกิดราก การเกิดตาและยอดใหม่มักอยู่ทางด้านปลาย<sup>6</sup> การกลับทิศทางในลักษณะตรงข้ามจะทำให้ลักษณะของโพลาริตีเปลี่ยนไป จากการเพาะเลี้ยงชิ้นก้านช่อดอกอ่อนเมื่อกลับชิ้นส่วนเอาส่วนปลายไปฝังในอาหาร อาจทำให้เนื้อเยื่อส่วนนี้ซึ่งมีความสามารถที่จะเจริญเติบโตขาดอากาศ โอกาสที่ชิ้นก้านช่อดอกอ่อนจะมีการเจริญเติบโตจึงลดลง ชิ้นส่วนที่ไม่มีการสร้างแคลลัสและต้นแขนงจะตายไป แม้ว่าบริเวณรอยตัดทางด้านโคนจะมีการเจริญเติบโตในระยะแรกก็

ตาม อย่างไรก็ตาม งานทดลองนี้แตกต่างจากงานทดลองของ Ziv et al.<sup>27</sup> ซึ่งได้ทดลองเพาะเลี้ยงช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัส พบว่ารากมักเกิดขึ้นทางด้านฐาน และตาเกิดขึ้นทางด้านบน โดยไม่คำนึงถึงตำแหน่งเริ่มต้นของชิ้นส่วนของช่อดอกอ่อน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างในด้านอาหาร สภาพแวดล้อม และระดับของสารเร่งการเจริญเติบโต

เนื้อเยื่อที่ก้านช่อดอกอ่อนส่วนปลายช่อและส่วนโคนช่อ

จากการทดลองเปรียบเทียบพบว่าก้านช่อดอกอ่อนส่วนปลายช่อมีแนวโน้มที่จะเจริญเติบโตสร้างแคลลัสและต้นแขนงได้ดีกว่าก้านช่อดอกอ่อนส่วนโคนช่อ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากบริเวณส่วนปลายช่อมีเนื้อเยื่อเจริญและสารเร่งการเจริญเติบโตบางอย่างมากกว่าในเนื้อเยื่อพืชส่วนโคนช่อ ซึ่งเนื้อเยื่อบริเวณนี้ส่วนใหญ่ได้เปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อถาวรแล้ว ผลการทดลองนี้ สอดคล้องกับงานทดลองของ Bajaj et al.<sup>2</sup>, Meyer et al.<sup>12</sup> และ Hosoki และ Asahira<sup>7</sup> เนื้อเยื่อส่วนที่อ่อนอาจจะมีเนื้อเยื่อเจริญกระจายอยู่ทั่วไป จึงทำให้เนื้อเยื่อส่วนที่อ่อนสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าเนื้อเยื่อส่วนที่แก่<sup>3</sup>

ระดับของสารเร่งการเจริญเติบโตและพันธุ์

ชิ้นก้านช่อดอกอ่อนสามารถสร้างแคลลัส ดายอด และต้นแขนง ภายใน 2-3 สัปดาห์ จำนวนของตายอดและต้นแขนงเกิดขึ้นจำนวนมากภายใน 4-8 สัปดาห์ การสร้างตายอดและต้นแขนงของชิ้นก้านช่อดอกอ่อนจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตและพันธุ์ของแกลดิโอลัส จากการทดลองเลี้ยงชิ้นก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัส 11 พันธุ์ พบว่าพันธุ์ Formality, Wine & Rose, Cardinal และ Corel สามารถเจริญเติบโต สร้างตายอดและต้นแขนงจำนวนมากในอาหารที่เติม BA 2.0 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล. พันธุ์ Virgo, Departing Sun, Adagio, Deimos และ Angel Eye เจริญเติบโตสร้างตายอดและต้นแขนงได้ดีรองลงมา ขณะที่พันธุ์ Golden Shown และ Sabre มีการสร้างต้นแขนงน้อยมากในอาหารสูตรเดียวกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระดับของสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมกับแกลดิโอลัสพันธุ์ต่าง ๆ แตกต่างกันไป ซึ่งมีส่วนสอดคล้องกับงานทดลองของ Hussey<sup>10</sup> และ Ziv et al.<sup>27</sup>

การเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นก้านช่อดอกอ่อน การชักนำให้เกิดตายอด และต้นแขนงจำนวนมาก ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ คือ

ผลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

เนื้อเยื่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสพันธุ์ Formality, Wine & Rose, Dottee Dee, Violetta x True Love และ Violetta x Mardigras เมื่อย้ายมาเลี้ยงในอาหารที่เติม BA และ NAA ระดับต่าง ๆ กัน พบว่าระดับของสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Wang และ Huang<sup>24</sup> และ BA มีผลต่อการเจริญเติบโต การสร้างตายอดและต้นแขนงของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัส กล่าวคือ BA ความเข้มข้นต่ำจะส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแขนง BA ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจะส่งเสริมการเจริญเติบโต การเกิดตายอดและต้นแขนง

ของเนื้อเยื่อ ส่วน BA ที่ระดับความเข้มข้นสูงจะไปยับยั้งการเจริญเติบโต การเกิดตายอดและต้นแขนงของเนื้อเยื่อ ตายอดและต้นแขนงบดงจนทำให้ลักษณะของเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยตายอดและต้นแขนงคล้ายกับลักษณะของแคลลัส ส่วน BA ที่ใช้ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสามารถช่วยให้เนื้อเยื่อของแคลดิโอลัสบางพันธุ์สร้างตายอดและต้นแขนงได้ดีขึ้น แต่เมื่อมีการใช้ NAA ที่ระดับความเข้มข้นสูงร่วมกับ BA จะทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตลดลงและเจริญไปเป็นแคลลัส มีการสร้างตายอดและต้นแขนงน้อยมากหรือไม่เกิดขึ้นเลย การใช้ NAA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อสร้างรากได้แต่จะไปยับยั้งการเจริญเติบโต การเกิดตายอดและต้นแขนงของเนื้อเยื่อซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hussey<sup>8,9</sup> การใช้ไซโตไคนิน (cytokinin) เพียงอย่างเดียวจะให้ผลดีและควรหลีกเลี่ยงการใช้ออกซิน (auxin) เพื่อมิให้เนื้อเยื่อนั้นสร้างแคลลัสขึ้น ซึ่งจะทำให้ออกาสที่จะเกิดการกลายพันธุ์ลดลง นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงแคลลัสที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนอันเนื่องมาจากการใช้ BA หรือ NAA ที่ระดับความเข้มข้นสูงหรือเกิดจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเดิมเป็นเวลานาน ๆ โดยไม่มีการเปลี่ยนอาหาร พบว่าเมื่อนำแคลลัสเหล่านี้มาเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 1.0-3.0 มก./ล. ไม่สามารถทำให้เกิดตายอดและต้นแขนงได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Wilfret<sup>25</sup>, Hussey<sup>8</sup> และ Bajaj et al.<sup>2</sup>

ผลของน้ำตาลที่มีต่อการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

จากการทดลองเพิ่มปริมาณน้ำตาลจาก 3% เป็น 4.5% สามารถทำให้เนื้อเยื่อของแคลดิโอลัสพันธุ์ Dottee Dee, Violetta x True Love และ Violetta x Mardigras เจริญเติบโต สร้างตายอดและต้นแขนงได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มน้ำตาลเป็น 6% การเจริญเติบโตของต้นแขนงจะลดลง แต่น้ำหนักสดของเนื้อเยื่อยังคงเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำตาลซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่เพิ่มสูงขึ้นนั้นไปส่งเสริมกิจกรรมทางสรีระของเนื้อเยื่อให้สูงขึ้น แต่ขณะเดียวกันก็ทำให้สภาพของ osmotic potential ภายในเซลล์ของเนื้อเยื่อเปลี่ยนไป จะเห็นได้ว่าเนื้อเยื่อยังคงมีการเจริญเติบโตได้ดี แต่ลักษณะการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อผิดปกติไป กล่าวคือลักษณะของเนื้อเยื่อมีลักษณะเป็นก้อนแน่น การเกิดตายอดและต้นแขนงลดลง ตายอดและต้นแขนงมีลักษณะบดง อย่างไรก็ตามถ้ามีการเพิ่มปริมาณน้ำตาลให้สูงขึ้นเกิน 6% ก็มีแนวโน้มที่จะทำให้การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อลดลง เช่นเดียวกับเนื้อเยื่อของแคลดิโอลัสพันธุ์ Violetta x Mardigras ซึ่งเมื่อเพิ่มน้ำตาลเกิน 4.5% การเจริญเติบโตและการเกิดต้นแขนงของเนื้อเยื่อจะลดลง ส่วนเนื้อเยื่อช่อดอกอ่อนที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมน้ำตาลมีการเจริญเติบโตช้าและตายไปอย่างรวดเร็ว ดังเช่นงานทดลองของ Niimi และ Onozawa<sup>15</sup>, Papachtzi et al.<sup>16</sup>, Takayama และ Misawa<sup>20,21,22</sup> และอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงจะมีผลยับยั้งการทำงานของไซโตไคนิน<sup>13</sup> ขณะที่อาหารที่มีน้ำตาลพอเหมาะช่วยส่งเสริมการทำงานของไซโตไคนินในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการแตกแขนงของเนื้อเยื่อ อย่างไรก็ตาม ผลที่เกิดจากน้ำตาลยังไม่แน่ชัด แต่กลไกที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่ออาจเนื่องมาจากเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลให้สูงขึ้นทำให้ค่า osmotic potential เปลี่ยนแปลงไปจนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อได้

ผลของวันที่มีต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

จากการทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนช่อดอกอ่อนของแคลดิโอลัสในอาหารที่มีความเข้มข้นของวัน

แตกต่างกัน พบว่าเนื้อเยื่อสามารถเจริญเติบโต สร้างตายอดและต้นแขนงได้ดีในอาหารที่มีความเข้มข้นของวัน 0.4–0.8% สอดคล้องกับงานทดลองของ Singha<sup>18</sup>, Dutcher และ Powell<sup>5</sup>, Snir และ Erez<sup>19</sup> และ Kusey et al.<sup>11</sup> พบว่าการเจริญเติบโตของต้นแขนงในอาหารเหลวเป็นไปได้ดีกว่าในอาหารแข็ง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการดูดซึมและความเป็นประโยชน์ ตลอดจนการกระจายตัวของสารเร่งการเจริญเติบโตในอาหารเหลวเป็นไปได้ดีกว่านั่นเอง อย่างไรก็ตาม ขณะที่อาหารเหลวมีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแขนงของแกลลีโอไลต์ แต่จะทำให้การแตกแขนงของเนื้อเยื่อลดลง อาหารที่มีความเข้มข้นของวันที่เหมาะสมสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อรวมทั้งการสร้างตายอดและต้นแขนงและอาหารที่มีความเข้มข้นของวันสูงเกินไปมีผลทำให้การเจริญเติบโต การเกิดตายอด และต้นแขนงลดลงเพราะมักมีสารยับยั้งการเจริญเติบโตอยู่ในวัน<sup>17</sup> ดังนั้นอาหารที่มีความเข้มข้นของวันสูงจึงมีสารยับยั้งการเจริญเติบโตมากขึ้นด้วย จึงทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตลดลงรวมทั้งยับยั้งการเกิดตายอดและต้นแขนงด้วย

### การเร่งการเจริญเติบโตของตายอดและต้นแขนงให้สม่ำเสมอ

เมื่อย้ายเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยตายอดและต้นแขนงขนาดเล็กมาเลี้ยงในอาหารที่มี BA ความเข้มข้นต่ำ 3 ระดับตั้งแต่ 0, 0.05 และ 0.1 มก./ล. จะทำให้ตายอดและต้นแขนงขนาดเล็กมีการยึดตัวและเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมาก อาหารที่ไม่เติม BA จะทำให้ต้นแขนงเจริญเติบโตได้ดี ขณะที่อาหารที่เติม BA สูงขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตของต้นแขนงช้าลง แต่เนื้อเยื่อจะมีการเกิดต้นแขนงมากขึ้น Debergh และ Maene<sup>4</sup> พบว่าการชักนำให้เกิดต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมากเพื่อย้ายไปชักนำให้เกิดราก เป็นขั้นตอนหนึ่งที่จะช่วยลดต้นทุนการผลิตโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้และพบว่าไซโตไคนินความเข้มข้นต่ำและความเข้มข้นของแสงสูงจำเป็นสำหรับขั้นตอนนี้

### การชักนำให้ต้นแขนงสร้างราก

ต้นแขนงที่มีขนาดพอเหมาะเมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. จะมีรากเกิดขึ้นจำนวนมาก รากเจริญเติบโตได้ดีเรียวยาวสีขาว ขณะที่อาหารที่เติม NAA สูงขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตของรากช้าลง รากสั้นและอวบใหญ่ การใช้ผงถ่านร่วมกับ NAA มีผลทำให้จำนวนรากของต้นแขนงน้อยลงแม้ว่ารากจะมีการเจริญเติบโตก็ตาม นอกจากนี้ยังทำให้ต้นแขนงมีการเจริญเติบโตลดลงด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผงถ่านไปดูดซับสารเร่งการเจริญเติบโตและธาตุอาหารไว้ ทำให้ความเป็นประโยชน์ของสารเร่งการเจริญเติบโตคือ NAA และธาตุอาหารลดลง มีผลทำให้การเกิดราก และการเจริญเติบโตของต้นแขนงลดลง ดังเช่นงานทดลองของ Takayama และ Misawa<sup>21</sup>

### การย้ายปลูก

การย้ายต้นแขนงที่เกิดรากและเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงออกมาปลูกเลี้ยงภายนอก โดยใช้วัสดุปลูกที่นิ่งมาเชื้อแล้วเป็นสิ่งจำเป็นเพราะทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายของต้นแขนงสูงขึ้น สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะช่วยให้ต้นแขนงที่ย้ายปลูกมีการเจริญเติบโตและตั้งตัวได้เร็วขึ้น อย่างไรก็ตาม จากกา

ทดลองพบว่าต้นแขนงมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายต่ำมาก แต่ต้นที่รอดตายมักจะอ่อนแอ ปลายใบแห้ง รากมีการเจริญเติบโตช้าหรือไม่มีเลย และรากมักจะเน่า ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ziv<sup>26</sup> ที่พบว่ารากที่เกิดขึ้นนั้นไม่ได้เกิดจากต้นแขนงโดยตรง แต่เกิดจากส่วนของเนื้อเยื่อที่หักเน็ดต้นแขนง ทำให้ระบบท่อลำเลียงน้ำและอาหารไม่เชื่อมโยงกัน จึงทำให้อาหารที่ได้จากการสังเคราะห์แสงและสารบางอย่างที่จะส่งไปยังราก และการที่รากจะส่งน้ำและแร่ธาตุอาหาร ไปยังต้นไม่ก็ถูกกั้นจึงทำให้ต้นมีโอกาสรอดตายน้อยมากและ Ziv et al.<sup>27</sup> ได้ศึกษาวิธีการย้ายต้นแขนงแคลคิโอลัสออกมาปลูกเลี้ยงภายนอก โดยการเตรียมต้นแขนงไปเลี้ยงในอาหารที่ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่งก่อนภายใต้สภาพที่มีความเข้มของแสงสูงชั่วระยะเวลาหนึ่ง เมื่อย้ายออกมาปลูกเลี้ยงภายนอกสามารถทำให้ต้นเจริญเติบโตต่อไปได้

การย้ายต้นแขนงไปปลูกเลี้ยงภายใต้กระบะพ่นหมอกชั่วระยะเวลาหนึ่ง ทำให้ต้นแขนงของแคลคิโอลัสมีการเจริญเติบโต สร้างรากใหม่ ก่อนย้ายไปปลูกเลี้ยงในเรือนเพาะชำมีแนวโน้มว่าจะให้ผลดีอย่างไรก็ตาม ก็ยังพบว่ามันต้นที่รอดตายน้อยมาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไม่มีการนั่งฆ่าเชื้อวัสดุปลูกก่อนและ Meyer<sup>12</sup> แนะนำว่าการย้ายต้นแขนงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและมีการชักนำให้เกิดรากแล้ว ควรมีการเตรียมต้นให้แข็งแรงภายในกระบะพ่นหมอกเป็นเวลา 10-14 วัน ก่อนที่จะย้ายไปปลูกในเรือนเพาะชำ

จากการทดลองย้ายต้นแขนงของแคลคิโอลัสออกมาปลูกเลี้ยงภายนอก ในการทดลองนี้นับว่าเป็นปัญหาสำคัญ เนื่องจากขาดอุปกรณ์ที่ช่วยในการย้ายปลูกที่ดี เช่น กระบะพ่นหมอก ดังนั้นจึงน่าจะมีการศึกษาวิธีการย้ายปลูกที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งจะช่วยให้ต้นแขนงเจริญเติบโตได้เร็ว สร้างหัวพันธุ์เพื่อผลิตคอกได้ภายในระยะเวลาอันสั้น

#### การสร้างหัวย่อย

หลังจากย้ายต้นแขนงไปเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดรากแล้ว ต้นแขนงจะสร้างหัวย่อยขึ้นภายใน  $1\frac{1}{2}$  - 2 เดือน สามารถเก็บหัวย่อยได้ภายใน 4-5 เดือน การสร้างหัวย่อยจะช้าหรือเร็ว ตลอดจนขนาดของหัวย่อย ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์และขนาดของต้นแขนง การเปลี่ยนอาหาร ตลอดจนสภาพแวดล้อมที่ทำการเพาะเลี้ยง การเปลี่ยนอาหารให้กับต้นแขนงจะทำให้ขนาดของหัวย่อยใหญ่ขึ้น จำนวนต้นแขนงที่ย้ายลงมาในอาหารขวดเดียวกันก็ไม่ควรมากเกินไป จะทำให้ขนาดของหัวย่อยลดลง

การเพิ่มปริมาณของน้ำตาลให้สูงขึ้นจะทำให้ต้นแขนงสร้างรากได้ดีขึ้น ตลอดจนการเจริญเติบโตของรากเป็นไปอย่างรวดเร็ว แต่จะทำให้ต้นแขนงมีการเจริญเติบโตช้าลง ต้นแขนงที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลมากขึ้นจะสร้างหัวย่อยได้เร็วขึ้น ขนาดใหญ่ขึ้น สามารถเก็บหัวได้ภายใน 3 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหารเลย แต่ขณะเดียวกันปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้จำนวนต้นแขนงลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Niimi และ Onozawa<sup>15</sup>

การทดลองครั้งนี้พบว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ อุณหภูมิ และแสงไม่สามารถควบคุมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้เนื่องจากความเสียหายของอุปกรณ์เหล่านี้ อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อโดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 25-28°C. ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Tanaka และ Sakanishi<sup>23</sup> ที่ว่าอุณหภูมิสูงทำให้จำนวนตาที่จะเจริญเติบโตมีน้อยกว่าที่อุณหภูมิพอเหมาะ ส่วน

ปัจจัยที่เกี่ยวกับแสงนั้นพบว่าความสม่ำเสมอในการให้แสงกับเนื้อเยื่อพืชมีน้อยมาก บางตำแหน่งของห้องมีความเข้มของแสงมาก บางตำแหน่งมีความเข้มของแสงต่ำ ซึ่งทำให้ความสม่ำเสมอในการทดลองมีน้อยลงไป โดยเฉพาะขั้นตอนการชักนำต้นแขนงให้สร้างราก เพื่อการเตรียมต้นออกมาปลูกเลี้ยงภายนอก และการสร้างห้วยย่อยของต้นแขนงภายใต้สภาพปลอดเชื้อนั้น จำเป็นต้องใช้ความเข้มของแสงสูง นอกจากนี้ระยะเวลาในการให้แสงกับเนื้อเยื่อในการทดลองครั้งนี้คือให้แสงตลอด 24 ชม. ขณะที่การทดลองเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยทั่วไปต้องการแสง 16 ชม. ซึ่งเหมาะสำหรับการพัฒนาและการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชโดยทั่วไป

## สรุป

จากการศึกษาการขยายพันธุ์ของเกล็ดโอลีสโดยการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อน พบว่าการวางชั้นก้านช่อดอกอ่อนตั้งขึ้น จะทำให้เปอร์เซ็นต์ของชั้นก้านช่อดอกอ่อนมีการเจริญเติบโตสูงกว่าการวางชั้นก้านช่อดอกอ่อนในลักษณะนอนหรือกลับทิศทางในแนวตั้ง และเนื้อเยื่อของชั้นก้านช่อดอกอ่อนส่วนปลายช่อสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าเนื้อเยื่อส่วนโคนช่อ

การเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อน พบว่าเนื้อเยื่อสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่เติม BA 1.0–2.0 มก./ล. หรือใช้ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล. การเพิ่มปริมาณน้ำตาลในสูตรอาหารที่เหมาะสมเป็น 4.5% จะทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตได้เร็วขึ้น สร้างตายอดและต้นแขนงจำนวนมาก ความเข้มข้นของวุ้นในอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต สร้างตายอดและต้นแขนงได้ดีอยู่ในช่วง 0.4–0.8% เนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยตายอดและต้นแขนงขนาดเล็ก เมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกันที่ไม่เติม BA หรือเติม BA ความเข้มข้นต่ำ ตายอดและต้นแขนงจะเจริญเติบโตเป็นต้นแขนงที่มีขนาดสม่ำเสมอจำนวนมากเมื่อย้ายต้นแขนงเหล่านี้ไปเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. จะมีรากเกิดขึ้นจำนวนมาก สามารถย้ายไปปลูกได้ภายใน 6 สัปดาห์ หลังจากย้ายต้นแขนงมาเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดรากได้เป็นเวลา  $1\frac{1}{2}$  – 2 เดือน ต้นแขนงจะสร้างห้วยย่อยขึ้น สามารถเก็บห้วยย่อยได้ภายในเวลา 4–5 เดือน การเปลี่ยนอาหารให้กับต้นแขนงจะทำให้ขนาดของห้วยย่อยใหญ่ขึ้น การเพิ่มปริมาณน้ำตาลในอาหารจาก 3% เป็น 9% จะทำให้ต้นแขนงสร้างห้วยย่อยที่มีขนาดใหญ่และแก่เร็วขึ้น สามารถเก็บห้วยได้ภายใน 3 เดือน จากการขยายพันธุ์เกล็ดโอลีสโดยวิธีนี้สามารถผลิตห้วยย่อยได้ 50,000–80,000 หัว จากช่อดอกอ่อน 1 ช่อ ภายในเวลา 7–9 เดือน

## คำขอขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ผศ.ปรานอม พุดผพงษ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา รศ.แสงธรรม คมกฤษ ศจ.อักษร ศรีปลั่ง กรรมการที่ปรึกษา และอาจารย์ยุพา มงคลสุข ที่ได้ให้คำแนะนำในการศึกษาวิจัย ตลอดจน ผศ.ดร.กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย และ ผศ.ดร.ไพบุลย์ กวิมลศิวณา ที่ได้ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังได้รับความสนับสนุนจากศูนย์ปฏิบัติการและเครื่องมือเกษตรกลาง บางเขน

## เอกสารอ้างอิง

1. เกษมทรัพย์, สมเพียร. การปลูกไม้ดอก. ห้างหุ้นส่วนจำกัดพันธ์พืชบลิซซิ่ง, กรุงเทพมหานคร, 2522.
2. Bajaj, Y.P.S., Sidhu, M.M.S. and Buiatti, M. Some factors effecting the *in vitro* propagation of gladiolus. *Sci. Hort.*, 1982/83, **18**, 269-275.
3. Cutter, E. Plant Anatomy: Experiment and Interpretation Part II. Edward Arnold (Publishers), Ltd., London, 1971.
4. Debergh, P.C. and Maene, L.J. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Sci. Hort.*, 1981, **14**, 335-345.
5. Dutcher, R.D. and Powell, L.E. Culture of apple shoots from buds *in vitro*. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 1972, **97**, 511-514.
6. Hartmann, H.T. and Kester, D.E. Plant Propagation Principles and Practices. Prentice-Hall, Inc., New Jersey, 1964.
7. Hosoki, T. and Asahira, T. *In vitro* propagation of narcissus. *Hort. Sci.*, 1980, **15** (5), 602-603.
8. Hussey, G. Totipotency in tissue explants and callus of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. *J. Ex. Bot.*, 1975, **29** (91), 253-262.
9. Hussey, G. *In vitro* release of axillary shoots from apical dominance in monocotyledonous plantlets. *Ann. Bot.*, 1976, **40**, 1323-1325.
10. Hussey, G. *In vitro* propagation of gladiolus by precocious axillary shoot formation. *Sci. Hort.*, 1977, **6**, 287-296.
11. Kusey, W.E., Hammer, P.A. and Weiler, T.C. *In vitro* propagation of *Gypsophilla paniculata* L. "Bristol Fairy". *Hort. Sci.*, 1980, **15** (5), 600-601.
12. Meyer, M.M., Fuchiyami, L.H. and Roberts, A.N. Propagation of Tall Bearded Irises by tissue cultures. *Hort. Sci.*, 1975, **10** (5), 479-480.
13. Misawa, M., Sakalo, K., Tanaka, H., Hayashi, M. and Samejima, H. Production of physiologically active substances by plant cell suspension cultures. In Street, H.E. (ed). Tissue Cultures and Plant Science. Academic Press, Inc., New York, 1974.
14. Murashige, T. and Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, 1962, **15**, 473-497.
15. Niimi, Y. and Onozawa, T. *In vitro* bulblet formation from leaf, segments of lilies especially *Lilium rubellum* Baker. *Sci. Hort.*, 1979, **11**, 379-389.
16. Papachatz, M., Hammer, P.A. and Hasegawa, P.M. *In vitro* propagation of *Hosta plantaginea*. *Hort. Sci.*, 1980, **15** (4), 506-507.
17. Romberger, J.A. and Tabor, C.A. The *Picea abies* shoot apical meristem in culture I. Agar and autoclaving effects. *Am. J. Bot.*, 1971, **58**, 131-140.
18. Singha, S. Influence of agar concentration on *in vitro* shoot prelfiferation of *Malus* sp. "Almey" and *Pyrus communis* "Seekel." *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 1982, **107** (4), 657-660.
19. Snir, L. and Erez, A. *In vitro* propagation of Malling Merton apple rootstocks. *Hort. Sci.*, 1980, **15**, 597-598.
20. Takayama, S. and Misawa, M. Differentiation in lilium bulbscales grown *in vitro*: Effect of various cultural conditions. *Physiol. Plant*, 1979, **46**, 184-190.
21. Takayama, S. and Misawa, M. Differentiation in lilium bulbscales grown *in vitro*: Effect of activated charcoal, physiological age of bulbs and sucrose concentration on differentiation and scale leaf formation *in vitro*. *Physiol. Plant*, 1980, **48**, 121-125.
22. Takayama, S. and Misawa, M. A scheme for mass propagation of lilium *in vitro*. *Sci. Hort.*, 1982/83, **18**, 353-362.
23. Tanaka, M. and Sakanishi, Y. Factors affecting the growth of *in vitro* cultured lateral buds from phalaenopsis flower stalks. *Sci. Hort.*, 1978, **8**, 169-178.
24. Wang, T.Y. and Huang, M.C. Studies on the tissue culture in *Gladiolus hybridus* Hort. I. Shoot tip culture of vegetative lateral buds on flower stem. *J. Chinese Soc. Hort. Sci.*, 1978, **24** (4), 137-144.

25. Wilfret, G.J. Introduction to Floriculture. Academic Press Inc., New York, 1980.
26. Ziv, M. Transplanting of gladiolus plants propagated *in vitro*. 1979, **11**, 357-360.
27. Ziv, M., Halevy, A.H. and Shilo, R. Organ and plantlets regeneration of gladiolus through tissue culture. *Ann. Bot.*, 1970, **34**, 671-676.

ตารางที่ 1. เปอร์เซ็นต์ของจีนก้านช่อดอกอ่อนที่มีการเจริญเติบโตและสร้างต้นแขนงเมื่อวางจีนก้านช่อดอกอ่อนบนอาหารในลักษณะตั้งขึ้นตามทิศทางช่อดอก แนวนอน และกลับทิศทางในแนวตั้งของแกลดิโอลัส 11 พันธุ์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 4 สัปดาห์

พันธุ์	ความยาวช่อดอก (ซม.)	โคนช่อ			ปลายช่อ		
		ตั้งขึ้น (%)	แนว นอน (%)	กลับ ทิศทาง (%)	ตั้งขึ้น (%)	แนว นอน (%)	กลับ ทิศทาง (%)
Wine & Rose	21.13	80.65	74.29	20.59	89.74	86.84	38.89
Corel	19.33	78.78	78.13	18.13	89.19	89.47	34.21
Deimos	23.00	57.14	64.29	27.27	78.95	77.50	23.53
Virgo	21.33	71.86	70.97	38.71	83.78	73.68	41.03
Adagio	20.29	65.52	52.00	28.57	67.80	76.32	18.42
Formality	20.16	80.00	69.44	34.48	91.89	81.58	42.86
Angel Eye	20.66	44.44	56.76	8.82	83.78	68.42	36.11
Golden Shown	24.00	39.47	40.54	10.53	60.53	48.65	18.42
Departing Sun	25.24	51.43	51.61	11.43	60.98	58.76	23.08
Sabre	24.33	73.53	71.43	6.90	74.36	60.53	17.95
Cardinal	20.00	78.57	82.14	22.58	89.74	80.00	37.50

ตารางที่ 2. น้ำหนักสดและลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนก้านข้อคอกอ่อนของเกล็ดโคลัสพันธุ์ Formality ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย* (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	ต้นแขนง	ราก
0	0	4.27 jklmn	+	+	+
1.0	0	8.94 bcd	++	++	-
1.5	0	11.24 ab	++	++	-
2.0	0	12.16 a	++	++	-
2.5	0	8.32 cdef	+	+	-
3.0	0	6.06 fghij	+	+	-
0	0.1	4.77 ijkimn	-	+	+++
0	0.5	2.74 mno	-	-	+
0	1.0	1.58 o	-	-	-
0	2.0	1.35 o	-	-	-
1.0	0.1	8.18 cdef	++	++	-
1.5	0.1	9.46 bc	+++	++	-
2.0	0.1	8.53 cde	+++	+++	-
2.5	0.1	7.14 cdefghi	++	+	-
3.0	0.1	5.31 hijkl	++	+	-
1.0	0.5	6.76 defghi	++	+	-
1.5	0.5	8.87 cde	++	+	-
2.0	0.5	7.75 cdefg	++	+	-
2.5	0.5	5.74 ghijk	+	+	-
3.0	0.5	6.50 efghij	+	-	-

\*ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 2. (ต่อ)

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย* (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	ค้ำแขนง	ราก
1.0	1.0	5.50 ghijk	+	+	+
1.5	1.0	7.66 cdefgh	+	+	-
2.0	1.0	4.21 jklmn	+	-	-
2.5	1.0	3.48 klmno	+	-	-
3.0	1.0	3.04 lmno	+	-	-
1.0	2.0	4.89 ijklm	+	-	-
1.5	2.0	3.02 lmno	+	-	-
2.0	2.0	1.91 no	+	-	-
2.5	2.0	2.58 mno	-	-	-
3.0	2.0	2.63 mno	-	-	-

\* ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's new multiple range test

- ไม่เกิดขึ้น
- + เกิดขึ้นเล็กน้อย
- ++ เกิดขึ้นปานกลาง
- +++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ 3. น้ำหนักสดและลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสพันธุ์ Wine & Rose ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย * (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	ต้นแขนง	ราก
0	0	3.48 ijklmn	+	++	+
1.0	0	8.98 ab	++	++	-
1.5	0	9.33 a	+++	+++	-
2.0	0	8.50 abc	++	+	-
2.5	0	8.35 abcd	++	+	-
3.0	0	5.88 efgh	+	-	-
0	0.1	4.56 fghij	-	+	+++
0	0.5	2.05 lmn	-	-	-
0	1.0	1.66 n	-	-	-
0	2.0	1.53 n	-	+	-
1.0	0.1	6.82 bcdefg	++	++	-
1.5	0.1	5.79 efghi	++	+	-
2.0	0.1	5.91 efgh	++	+++	-
2.5	0.1	6.45 cdefgh	++	+	-
3.0	0.1	6.04 defgh	++	+	-
1.0	0.5	6.87 bcdef	++	+	-
1.5	0.5	7.22 abcde	++	+	-
2.0	0.5	7.18 abcde	++	+	-
2.5	0.5	5.89 efgh	++	+	-
3.0	0.5	6.83 bcdef	+	-	-

\* ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 3. (ต่อ)

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย* (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	คั่นแขนง	ราก
1.0	1.0	5.39 efghi	++	+	-
1.5	1.0	6.95 bcdef	++	+	-
2.0	1.0	4.36 ghijkl	+	+	-
2.5	1.0	4.13 hijklm	+	-	-
3.0	1.0	4.81 efghij	+	-	-
1.0	2.0	4.56 fghijk	+	+	-
1.5	2.0	1.89 mn	+	-	-
2.0	2.0	3.19 ijklmn	+	-	-
2.5	2.0	2.28 klmn	+	-	-
3.0	2.0	3.00 jklmn	+	-	-

\*ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

- ไม่เกิดขึ้น
- + เกิดขึ้นเล็กน้อย
- ++ เกิดขึ้นปานกลาง
- +++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ 4. น้ำหนักสดและลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสพันธุ์ Dottee Dee ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย* (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	ต้นแขนง	ราก
0	0	2.42 f	+	+	-
1.0	0	8.67 a	+++	+++	-
1.5	0	5.23 bcde	+	+	-
2.0	0	5.48 bcde	++	+	-
0	0.1	3.42 def	+	+	-
0	0.5	2.20 f	+	+	-
0	1.0	1.80 f	+	-	-
1.0	0.1	7.25 ab	+++	+++	-
1.5	0.1	6.08 abcd	+	+	-
2.0	0.1	7.29 ab	++	+	-
1.0	0.5	4.29 cdef	+	+	-
1.5	0.5	5.51 bcde	+	-	-
2.0	0.5	6.40 abc	+	-	-
1.0	1.0	2.77 ef	+	-	-
1.5	1.0	4.20 cdef	+	+	-
2.0	1.0	3.83 cdef	++	-	-

\*ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's new multiple range test

- ไม่เกิดขึ้น
- + เกิดขึ้นเล็กน้อย
- ++ เกิดขึ้นปานกลาง
- +++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ 5. น้ำหนักสดและลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัสพันธุ์  
Violetta x True Love ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย* (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตาชอด	ต้นแขนง	ราก
0	0	2.88 fg	-	+	-
1.0	0	12.47 a	+++	+++	-
1.5	0	6.02 de	++	+	-
2.0	0	9.38 bc	++	+	-
0	0.1	3.90 efg	-	+	+++
0	0.5	4.12 efg	-	+	++
0	1.0	2.60 g	-	+	-
1.0	0.1	11.93 ab	+++	+++	-
1.5	0.1	6.58 de	++	++	-
2.0	0.1	9.75 b	++	++	-
1.0	0.5	6.23 de	+	+	-
1.5	0.5	9.48 bc	+	+	-
2.0	0.5	6.98 c	+	+	-
1.0	1.0	5.45 def	+	+	-
1.5	1.0	7.08 cd	++	-	-
2.0	1.0	5.48 def	+	-	-

\*ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's new multiple range test

- ไม่เกิดขึ้น
- + เกิดขึ้นเล็กน้อย
- ++ เกิดขึ้นปานกลาง
- +++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ ๑๖. น้ำหนักสดและลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนของเมล็ดคิโด้ส พันธุ์ Violetta x Mardigras ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา ๑ สัปดาห์

ชุดการทดลอง		น้ำหนักสดเฉลี่ย * (ก.)	ลักษณะการเจริญเติบโต		
BA มก./ล.	NAA มก./ล.		ตายอด	คั้นแขนง	ราก
0	0	3.38 bc	+	+	-
1.0	0	4.39 abc	+	-	-
1.5	0	3.72 abc	+	-	-
2.0	0	3.20 bc	+	-	-
0	0.1	2.47 bc	-	-	+
0	0.5	3.10 bc	-	-	-
0	1.0	1.95 c	-	-	-
1.0	0.1	4.54 ab	+	+	-
1.5	0.1	5.79 a	+++	+	-
2.0	0.1	2.79 bc	+	+	-
1.0	0.5	2.94 bc	+	-	-
1.5	0.5	3.18 bc	+++	+	-
2.0	0.5	2.25 bc	+	-	-
1.0	1.0	2.16 bc	+	-	-
1.5	1.0	4.19 abc	+	-	-
2.0	1.0	2.69 bc	+	-	-

\*ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ ๑๕% เปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's new multiple range test

- ไม่เกิดขึ้น
- + เกิดขึ้นเล็กน้อย
- ++ เกิดขึ้นปานกลาง
- +++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ 7. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนน ทิริ - โอตตัปปะ แบบ 2 ของครู จำแนกกลุ่มอายุ  
พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอนและประเภทโรงเรียน

แหล่งความแปรปรวน	19-30 ปี			31-60 ปี		
	df	MS	F	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	139.86	1.60	2	274.79	2.99
วิชาที่สอน (ข)	1	38.30	< 1	1	.05	< 1
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	0.00	< 1	1	158.38	1.72
ก + ข	2	58.23	< 1	2	136.25	1.58
ก + ค	2	22.48	< 1	2	15.48	< 1
ข + ค	1	201.18	2.31	1	136.32	1.48
ก + ข + ค	2	246.68	2.83*	2	274.35	2.99**
ภายในกลุ่ม	278	87.17		291	91.82	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01

ตารางที่ 8. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนน ทิริ - โอตตัปปะ แบบ 2 ของครู พิจารณาตามระดับ  
การศึกษา วิชาที่สอน (สอนทุกวิชาทั้งสอนสังคมศึกษา) และประเภทโรงเรียน

แหล่งความแปรปรวน	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	473.43	5.01**
วิชาที่สอน (ข)	1	474.17	5.02*
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	51.85	< 1
ก + ข	2	109.75	1.16
ก + ค	2	296.78	3.14*
ข + ค	1	4.38	< 1
ก + ข + ค	2	99.44	1.05
ภายในกลุ่ม	331	94.42	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01

ตารางที่ 8. น้ำหนักสดและจำนวนต้นแขนงของเนื้อเยื่อส่วนก้านช่อดอกอ่อนที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของวุ้นแตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์

พันธุ์	ความเข้มข้นของวุ้น (%)	ตายอด	ต้นแขนงที่มีขนาด <1.0 ซม.	จำนวนต้นแขนงที่มีขนาด >1.0 ซม.*	น้ำหนักสด* (ก.)
Dottee Dee	0	+	+	7.0 bc	5.87 b
	0.2	++	+	28.8 a	5.04 bc
	0.4	+++	++	30.0 a	6.39 b
	0.6	+++	++	10.8 bc	8.58 a
	0.8	++	+	3.2 c	6.37 b
	1.0	++	+	2.2 c	3.78 c
	1.2	++	++	15.6 b	3.73 c
Violetta x True Love	0	++	+	19.0 ab	6.28 b
	0.2	+++	++	15.8 ab	6.21 b
	0.4	+++	+++	27.2 a	6.21 b
	0.6	+++	++	14.0 b	6.39 ab
	0.8	+++	+++	17.0 ab	7.68 a
	1.0	++	+	6.4 b	3.76 c
	1.2	+	+	5.6 b	2.09 d
Violetta x Mardigras	0	+	+	30.6 a	6.64 ab
	0.2	++	+	22.2 abc	7.15 a
	0.4	+	+	14.0 bcd	4.89 bc
	0.6	++	++	25.2 ab	7.39 a
	0.8	++	+	15.6 bcd	4.84 bc
	1.0	+	+	7.4 d	3.32 c
	1.2	+	+	11.8 cd	3.86 c

\* ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's new multiple range test

+ เกิดขึ้นเล็กน้อย

++ เกิดขึ้นปานกลาง

+++ เกิดขึ้นจำนวนมาก

ตารางที่ 9. จำนวนต้นแขนงขนาดต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA ระดับต่ำหรือไม่เติม เป็นเวลา 3 สัปดาห์

พันธุ์	BA มก./ล.	ต้นแขนงที่มีขนาด (ซม.)	จำนวนต้นแขนง
Dottee Dee	0	<5	34.0
		5-8	19.8
		>8	1.8
	0.05	<5	48.4
		5-8	10.8
		>8	-
	0.10	<5	71.0
		5-8	7.8
		>8	-
Violetta x True Love	0	<5	21.8
		5-8	16.4
		>8	3.2
	0.05	<5	20.6
		5-8	3.2
		>8	-
	0.10	<5	37.8
		5-8	24.4
		>8	0.8
Violetta x Mardigras	0	<5	19.8
		5-8	14.8
		>8	4.0
	0.05	<5	23.2
		2-8	24.0
		>8	4.2

## ตารางที่ ๑. (ต่อ)

พันธุ์	BA มก./ล.	ต้นแขนงที่มีขนาด (ซม.)	จำนวนต้นแขนง
Violetta x Mardigras	0.10	<5	46.0
		5-8	8.8
		>	-

หมายเหตุ ข้อมูลได้จากค่าเฉลี่ย 5 ตัวอย่าง

ตารางที่ 10. เปอร์เซนต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวใบของต้นแขนงของแกดดิโอดีส์พันธุ์ Dottee Dee ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆเป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร	culture ที่ออกราก (%)	จำนวน ราก	ความยาวใบ* (ซม.)
1. MS basal	64.29	+	18.91 a
2. MS + NAA 0.1 มก./ล.	92.86	+++	19.36 a
3. MS + NAA 0.5 มก./ล.	50.00	+++	17.52 a
4. MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	42.86	+	14.68 bcd
5. MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	42.86	+	12.28 d
6. $\frac{1}{2}$ MS basal	57.14	+	14.70 bcd
7. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.1 มก./ล.	78.57	++	16.89 ab
8. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.5 มก./ล.	50.00	+	14.96 bc
9. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	7.14	+	12.51 cd
10. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	85.71	+	13.25 cd

\*ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 11. เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวใบของต้นแขนงของแกลดิโอัสพันธุ์ Violetta x True Love ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร	culture ที่ออกราก (%)	จำนวน ราก	ความยาวใบ* (ซม.)
1. MS basal	85.71	+	18.20 ab
2. MS + NAA 0.1 มก./ล.	92.88	+++	20.82 a
3. MS + NAA 0.5 มก./ล.	78.57	+++	17.08 abc
4. MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	64.29	+	16.06 bcd
5. MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	35.71	+	13.62 cd
6. $\frac{1}{2}$ MS basal	78.57	+	17.88 ab
7. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.1 มก./ล.	64.29	+++	19.23 ab
8. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.5 มก./ล.	35.71	++	13.19 cd
9. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	64.29	+	13.22 cd
10. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	64.29	+	12.48 d

\* ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 12. เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวใบของต้นแขนงของแกลดิโอลัสพันธุ์  
Violetta x Mardigras ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆเป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร	culture ที่ออกราก (%)	จำนวน ราก	ความยาวใบ* (ซม.)
1. MS basal	78.57	+	18.03 ab
2. MS + NAA 0.1 มก./ล.	85.71	+++	19.59 a
3. MS + NAA 0.5 มก./ล.	57.14	+++	17.16 abc
4. MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	71.43	+	14.93 cd
5. MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	78.57	+	11.98 ef
6. $\frac{1}{2}$ MS basal	71.43	+	17.42 abc
7. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.1 มก./ล.	92.86	+++	16.13 bcd
8. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.5 มก./ล.	64.29	++	13.71 de
9. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.1 มก./ล. + ac 0.1%	57.14	+	10.86 f
10. $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.5 มก./ล. + ac 0.1%	71.43	+	10.49 f

\* ชุดการทดลองคู่ใดที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ 95% เปรียบเทียบโดยวิธี

Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 18. เปรียบเทียบจำนวนใบ ความยาวใบ ขนาดและน้ำหนักสดของห้วยย่อยของต้นแขวงที่มีการ  
เปลี่ยนอาหารและไม่เปลี่ยนอาหาร เมื่อเลี้ยงต้นแขวงเป็นเวลา 5 เดือน

พันธุ์	วิธีการ	จำนวน ใบ	ความยาวใบ (ซม.)	ขนาดห้วยย่อย (มม.)	น้ำหนักสดของ ห้วยย่อย (มก.)
Formality	ไม่เปลี่ยนอาหาร	3.8	9.36	4.50	120.26
	เปลี่ยนอาหาร	4.0	21.34	9.93	550.74
Wine & Rose	ไม่เปลี่ยนอาหาร	2.8	8.46	3.59	57.50
	เปลี่ยนอาหาร	4.2	18.74	8.50	462.68
Cardinal	ไม่เปลี่ยนอาหาร	3.8	8.14	4.37	97.10
	เปลี่ยนอาหาร	3.4	17.10	7.73	319.22
Corel	ไม่เปลี่ยนอาหาร	3.0	8.02	4.13	72.00
	เปลี่ยนอาหาร	3.4	21.94	7.65	340.20
Virgo	ไม่เปลี่ยนอาหาร	2.4	7.60	2.89	35.25
	เปลี่ยนอาหาร	3.2	19.50	8.46	363.00

หมายเหตุ ข้อมูลได้จากค่าเฉลี่ย 10-15 ตัวอย่าง

ตารางที่ 14. จำนวนหัวย้อย/ชิ้นส่วนและขนาดของหัวย้อยของแมลงศัตรูพืชต่าง ๆ เมื่อเลี้ยงในอาหาร MS เป็นเวลา 5 เดือน

ตัวอย่างที่	Formality		Wine & Rose		Cardinal		Corel		Virgo	
	จำนวนหัวย้อย/ชิ้นส่วน	ขนาด $\phi$ (มม.)								
1	3	9.93	2	8.50	4	7.73	2	11.66	5	8.53
2	4	7.63	6	8.52	5	7.72	3	9.87	5	6.74
3	4	6.30	7	7.10	8	5.79	3	6.43	8	5.98
4	8	6.38	9	5.45	11	5.14	5	8.53	10	5.14
5	8	5.63	13	5.63	14	4.65	9	8.00	15	3.92
6	18	4.43	15	5.67	17	4.81	14	4.14	18	4.13
7	21	3.94	21	4.68	30	4.11	19	4.63	25	3.87
8	22	4.44	35	3.95	39	3.95	28	3.98	38	3.02
9	29	4.58	37	3.63	40	3.92	45	3.08	41	3.13
10	40	3.84	44	2.86	44	3.97	52	2.83	43	2.78

ตารางที่ 15. การเกิด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและน้ำหนักสดของหัวย่อยที่เกิดจากต้นแขนงของเกล็ดโอดัส พันธุ์ต่าง ๆ ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกันเป็นเวลา 3 เดือน

Sucrose (%)	NAA มก./ถ.	Dottee Dee			Violetta x True Love			Violetta x Mardigras		
		cormel	ขนาด Ø (มม.)	น้ำหนักสด (มก.)	cormel	ขนาด Ø (มม.)	น้ำหนักสด (มก.)	cormel	ขนาด Ø (มม.)	น้ำหนักสด (มก.)
0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0	+	4.65	100.27	+	4.57	112.08	+	3.90	57.67
6	0	+	5.18	171.63	+	6.02	180.90	+	6.00	140.06
9	0	+	6.48	202.70	+	7.98	359.60	+	5.70	214.10
3	0.1	+	3.23	44.95	+	6.47	134.40	+	3.95	84.40
6	0.1	+	6.12	239.54	+	6.08	207.70	+	5.78	178.25
9	0.1	+	7.48	335.05	+	9.70	624.80	+	7.95	306.50

หมายเหตุ + เกิดหัวย่อย

- ไม่เกิดหัวย่อย

ข้อมูลได้จากค่าเฉลี่ย 10-15 ตัวอย่าง

# HAPTOGLOBIN TYPING IN BLOODSTAINS\*

## การตรวจหาแฮปโตโกลบินในคราบเลือด

Amporn Chamsuwan

อัมพร แจ่มสุวรรณ

Faculty of Graduate Studies, Mahidol University

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

### ABSTRACT

*In crime scene, biological evidences which are usually found are bloodstains. Most forensic science laboratories can provide the answer for the detective, whether they are human or animal; and if human, to what kind of ABO group it belongs. Haptoglobin typing will also increase per centage accuracy of identification.*

*The detection of haptoglobin in bloodstains is carried out by extracted blood in tris-citrate buffer and run in starch gel electrophoresis in NaOH-boric and stained with benzidine-hydrogen peroxide. The persistence of haptoglobin varies according to the supporting medium and environment (heat, moisture) and also to its phenotypes. The duration for detection of haptoglobin in bloodstains is between 1 and 7 days.*

### บทคัดย่อ

แฮปโตโกลบิน เป็นสารประกอบพวกแอลฟาไกลัยโคโปรตีน ทำหน้าที่รวมตัวเป็นเฮโมโกลบินเกิดเป็นสารประกอบแฮปโตโกลบิน-เฮโมโกลบิน เพื่อจะป้องกันการสูญเสียเฮโมโกลบินจากร่างกายทางไต แฮปโตโกลบิน แบ่งออกเป็น 3 พวกใหญ่คือ Hp 1-1, Hp 2-1 และ Hp 2-2 การถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์อาศัยยีนส์ 2 ตัวคือ Hp 1 และ Hp 2 ประโยชน์ที่นำมาใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์คือ ใช้ในการตรวจพิสูจน์ปฏิเสธความเป็นพ่อ ลูก และการตรวจพิสูจน์บุคคล

ในสถานที่เกิดเหตุคืออาชญากรรมทั่ว ๆ ไป วัตถุพยานทางชีวภาพที่พบได้บ่อยที่สุดคือคราบเลือด การตรวจพิสูจน์คราบเลือดก็เพื่อจะได้ทราบว่า คราบเลือดนั้นเป็นของคนหรือสัตว์ ถ้าเป็นของคน เป็นหมู่ เอ บี โอ หรือ เอบี นอกจากการตรวจหาหมู่เลือดเอ บี โอแล้ว การตรวจหาหมู่ซีรั่มพวกแฮปโตโกลบิน ยังจะสามารถช่วยในการตรวจพิสูจน์ขั้นอื่นอีกด้วย

\* Supported by the National Research Council of Thailand, 1980.

การตรวจหาชนิดของเฮปโตโกลบินในคราบเลือดทำได้โดยสกัดคราบเลือดด้วย tris-citrate buffer โดยมี starch gel เป็นตัวกลาง นำไปแยกด้วยเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยมี NaOH-Boric acid เป็นบัฟเฟอร์ ย้อมด้วยสีเบนซิดีนและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ พบว่าความคงทนของเฮปโตโกลบินในคราบเลือดขึ้นอยู่กับขนาดของเฮปโตโกลบิน สภาพแวดล้อม (ความร้อน, ความชื้น) และสิ่งรบกวนคราบเลือด ระยะเวลาที่สามารถตรวจพบเฮปโตโกลบินได้ คือ ระหว่าง 1 ถึง 7 วัน

## INTRODUCTION

Bloodstains are one of the most frequent and important types of evidence encountered in criminal investigation. They are found at times in connection with almost every type of criminal activity and must not be overlooked. Bloodstain may be on the victim, the crime scene, the culprit and the weapon:

Haptoglobin is a  $\alpha$ -glycoprotein which combines hemoglobin in serum to form haptoglobin-hemoglobin complex, to prevent the loss of iron via the kidney. Haptoglobin is divided into three main groups: Hp 1-1, Hp 2-1 and Hp 2-2. The inheritance of it is determined by two allele autosomal genes, Hp 1 and Hp 2. The haptoglobin is used in forensic science in case of disputed paternity and personal identification.

In bloodstain investigation, the following questions are liable to arise<sup>4</sup>:

Is it blood or not?

Is it human or animal blood?

Does the blood belong to male or female?

Does the blood come from a certain individual?

The most common chemical for presumptive test is benzidine. A solution, comprising of saturated solution of benzidine in glacial acetic acid and hydrogen peroxide, will turn blue with very small quantities of blood. This is a preliminary sorting test. A negative result excludes blood. A positive result should be followed by other confirmatory tests. Because this test is unspecific, since it is also positive with direct oxidising agents such as potassium permanganate, potassium dichromate, and copper sulphate.

These substances will give positive result only with the solution of benzidine in acetic acid.

### Confirmatory test

a. Serological Test: This method is the most common used for various confirmatory procedures, having the advantages of speed and specificity. Precipitation caused by antihuman globulin, or other antisera, will confirm that the substance causing the stain is blood and will indicate whether the blood is human or animal.

b. Spectroscopic Test: A solution of reduced hemoglobin (obtained by adding reducing agents such as ammonium sulphide, 10% sodium dithionate, 0.2% hydrazine hydrate or sulphate to  $HbO_2$ ) has a characteristic spectrum. The test is made more specific by adding various reagents

to the solution of the stain, to produce different products of hemoglobin, such as methemoglobin, which have their own characteristic spectrum.

c. Microscopic Test: In dried bloodstains, the various formed elements of the blood, red cell and white cell, etc. are usually destroyed. However, red cell can occasionally be identified if the stain is reasonably fresh, and their appearance may allow the source of the blood to be identified. Thus, red cells of avis are destroyed and those from a camel are oval<sup>2</sup>.

For the question of individuality, the ABO grouping of dried bloodstains usually give satisfactory answers. Other blood group systems, MNS, Rh, Duffy, Kell etc. could be used but they are not popular as ABO.

Serum types could be used too. Detection of serum types in bloodstain has been described since the year 1961 by Durwald on haptoglobin and also in the year 1961, 1962 by Planques and Ducos respectively<sup>3</sup>. The studies on Gm typing in bloodstain were first described by Nielsen and Henningsen in 1963. Other serum types for example InV, Gc typing in bloodstain have also been studied too.

The possibility of detection of haptoglobin phenotype in bloodstains in different conditions and at various stages will be possible in these studies.

## MATERIALS AND METHODS

### Electrophoresis vessel

Plastic trays with dimension 12 × 12 × 6 cm are used. The upper halves of the side frames, 0.3 cm thick, are removable and screw to the lower halves.

Appropriate-sized buffer chamber was made from plastic plates, and small platinum wires were used as electrodes.

### Chemical

1. Trizma Base No. T-1503 (Sigma Chemical Company, St. Louis, U.S.A)
2. Hydrolysed Starch for electrophoresis No. S-4501 (Sigma Chemical Company, St. Louis, U.S.A.)

### Buffer system

1. Bridge buffer (0.3 M boric acid, 0.05 M sodium hydroxide)
2. Gel buffer (0.076 M Trizma base (tris-hydroxymethyl aminomethane) 0.005 M citric acid pH 8.6)

### Preparation of the starch gel

The gel was prepared by boiling 14% hydrolysed starch in gel buffer in a suction flask. The suspension was continuously stirred with a magnetic stirrer, until it was ready to be used. Cease boiling and a suction pump was applied to degas the gel, when all air bubbles were completely removed, poured the solution into the tray. Allowed the gel to cool in room temperature for about 30 min and at 4°C for about 30 min.

Made slots in the gel by using single-edge razor blade and then put filter paper with equal width of the slots into the holes and withdrew. Serum sample was introduced into the slots with pasteurized pipettes.

### Sample preparation

Packed red cells were washed in 0.9% normal saline three times. Hemolysed red cells were produced by adding distilled water with proportion 2 : 15.

Five drops serum sample were mixed with 2 drops of hemoglobin solution, incubated at 37°C for 30 min immediately before electrophoresis.

Bloodstains were prepared from known typing blood on clean white cotton cloth, kept in three conditions:

1. room temperature
2. direct sunlight
3. damp place

For the bloodstain analysis, a piece of bloodstained cloth (about 3 × 10 mm) was cut and soaked in tris-citrate buffer. It was put in a moist chamber at 4°C over night and inserted in the starch gel.

### Electrical connection

Filter paper wads were soaked in the bridge buffer solution connecting the gel and the bridge compartments. Thick wads with a width corresponding to the entire tray were used. Similar filter paper bridge connected the electrode compartment and the bridge solution.

### Electrophoresis time

Average voltage for electrophoresis was 4-6 V/cm for 4 h.

### Slicing of the gel

At the end of electrophoresis released the screws on the rims of the tray to remove the upper side frames. With a very small wire, sliced the gel into two horizontal slabs along the edge of the new half-heighted sides.

### Staining method

Saturated solution of the benzidine in glacial acetic acid was applied to the cut surface by using a soft brush and hydrogen peroxide, by means of a piece of filter paper.

## RESULTS

The persistence of haptoglobin in bloodstains does not depend on sex but depends on phenotypes of them. Table 2 shows that the persistence of haptoglobin Hp 2-2 is least in every medium and environment. The nature of medium and environment has much effect on the persistence of haptoglobin (Table 1 & 2). It is found that :

### For absorbent medium

- a. The persistence of haptoglobin on absorbent medium in damp place are less stable than in condition of room temperature and direct sunlight (Table 1 & 2).
- b. There is no significant difference of the persistence of haptoglobin between phenotypes of them in the same condition (Table 2).
- c. The stable phenotype of haptoglobin is between 3 days (in damp place) and 5 days (at room temperature or under direct sunlight).

### For non-absorbent medium

- a. The persistence of haptoglobin direct sunlight is less stable than in room temperature and damp place (Table 1 & 2).
- b. There is no significant difference of the persistence of haptoglobin between phenotype of them in condition of direct sunlight and damp place; but at room temperature, the difference of the persistence of haptoglobin between phenotypes are clearly seen, Hp 1-1 is the most stable and Hp 2-2 is the least (Table 2).
- c. Hp 1-1 is the most stable (7 days) and Hp 2-2 is the least (1 day direct sunlight) (Table 2).

## DISCUSSION

The most frequent laboratory examinations required for forensic purposes are the examination of articles for the presence of blood. The question "Does the blood come from a certain individual?" may be important in accusing a suspected person and of proving or disproving the truth of this statement. In general, most laboratories ABO grouping are used to solve this question by absorption-elution method. Serum grouping is also used too, to increase per centage accuracy of identification.

Starch gel electrophoresis divides haptoglobin into three main types (Figure 1). Detection of haptoglobin in bloodstains on absorbent material is available if the stains are not more than five days old in room temperature, but may be about three days in damp place. On non-absorbent material heat has much effect on the persistence of haptoglobin, so we cannot detect them if the stains are more than three days old. But under room temperature condition and in damp place, detection of them depends on the phenotypes for example, about 7 days for Hp 1-1, 5 days for Hp 2-1 and not more than three days for Hp 2-2.

Effect of sunlight on the persistence of haptoglobin in bloodstains is due to the process of "denaturation" caused by heat and ultraviolet light. Sunlight is not the only factor that produces denaturation but also moisture. Bacterial growth in damp place cause protein lysis from its digestion. So moisture as well as heat and ultraviolet light can cause denaturation.

The reason is that the difference of the persistence of haptoglobin on non-absorbent medium and absorbent medium which makes the difference between Hp 2-2 and Hp 1-1 by preserving Hp 2-2 bands rather than Hp 1-1 and Hp 2-1 bands in contrast to the persistence of haptoglobin on non-absorbent medium, is not yet known; further investigation should be done.

It is very difficult to interpret the result as well as to distinguish the difference between Hp 1-1 and Hp 2-1 if the 2-2 like components are absent, so the control serum should be done in every bloodstain typing to avoid the misinterpretation. The most suitable control serum is Hp 2-1.

### SUMMARY

1. Haptoglobin grouping of bloodstains was performed on experimental stains on two kinds of material : absorbent (cloth) and non-absorbent material (wood, glass, cement floor). The stains were kept for 1, 3, 5 and 7 days. Each was subdivided into 3 groups. One group was placed in drying stage at room temperature, another in moist stage at room temperature and the last in drying stage under direct sunlight.

All the haptoglobin grouping was performed by starch gel electrophoresis.<sup>1</sup>

2. The result of typing in absorbent material at room temperature can be detected for 5 days in dry condition, but in damp place or moist chamber it is reduced to 3 days and shows no significant difference between their phenotypes.

3. The haptoglobin grouping, on non-absorbent material, at room temperature clearly shows that the persistence of haptoglobin is correlated to phenotypes of them, Hp 1-1 is the most stable and Hp 2-2 is the least. Hp 1-1 can be detected in bloodstains up to 7 days, but Hp 2-2 in only 3 days. The environment such as moisture showed no difference of the persistence.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to express her sincere appreciation to Dr. Viroj Waiyawuth for his numerous helpful suggestions and discussions throughout the course of this study. And also to Dr. Narong Singhaprasert, for his helpful advice, Dr. Sompool Kritalaksana, for providing instruments used, Dr. Dasayanee Chandanayingyoung, for supplying blood samples.

### REFERENCES

1. Gliblett, E.R. Genetics Markers in Human Blood. Blackwell Scientific Publication, Oxford and Edinburgh, 1969, 62-115.
2. Parikh, C.K. Handbook of Forensic Medicine Part 1, Section III. Medical Publications. Bombay, 1969, 241-264.
3. Prokop, O. and Uhlenburck, G. Human Blood and Serum Groups. John Willey & Son. Inc., New York, 1969, 567-596.
4. Svenson, A. and Wendel, O. Crime Detection. Cleve-Hume press Ltd., London, 1955, 81-82.





ผลของเลกตินในการรักษามะเร็งตับ :  
ผลต่อก้อนมะเร็ง ฤทธิ์ข้างเคียงและอัตราการรอด  
EFFECT OF LECTIN IN TREATING HUMAN  
HEPATOCELLULAR CARCINOMA : EFFECT ON  
TUMOR TISSUE, SIDE EFFECT AND SURVIVAL RATE

กิงกาญจน์ เลาทัย  
Kingkarnch Laohathai

คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล  
Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital  
Mahidol University

บทคัดย่อ

คอนคานาวัลิน-เอ (Concanavalin-A) สามารถรักษามะเร็งตับ ที่ปลูกในหนูปลอดเชื้อให้หายขาดได้ (7 ตัว จาก 10 ตัว) โดยไม่ทำให้เกิดอาการข้างเคียง แต่ไม่ทำลายเซลล์มะเร็งตับโดยตัวของมันเอง สันนิษฐานว่า การหายขาดนี้ น่าจะมีส่วนเกี่ยวเนื่องจากการกระตุ้น non-adaptive immune system ซึ่งได้แก่ natural killer cells และ macrophages

ABSTRACT

*Concanavalin-A (Con-A) showed no direct effect on human hepatocellular carcinoma in vitro, but completely cured (7 out of 10 mice) when it was injected intraperitoneally into tumor-bearing nude mouse. There were no significant side effects. This suggested the possibility of host mediated action involving a non-adaptive immune system, per se natural killer cells and macrophages.*

คำนำ

การรักษามะเร็งตับในปัจจุบันสามารถทำให้ผู้ป่วยมีอายุยืนยาวได้ไม่เกิน 1-3 ปี<sup>1,8,15,20,29,31,39</sup> ทั้งนี้ต้องอาศัยแพทย์ผู้ชำนาญและโรงพยาบาลที่มีเครื่องมือทันสมัย ประกอบกับผู้ป่วยเป็นมะเร็งในประเทศเราส่วนมากมักจะมาหาแพทย์เมื่อโรคลุกลามมากแล้ว แพทย์จะช่วยให้รอดก็เพียงให้ยารักษามะเร็ง ซึ่งส่วนมากนอกจากจะรักษาไม่หายแล้วยังทำให้โรคลุกลามเร็วขึ้น ทำลายระบบสร้างภูมิคุ้มกัน ทำให้อ่อนแอ เกิดมะเร็งชนิดอื่นซ้ำซ้อนและเกิดอาการข้างเคียงที่รุนแรง

ปัจจุบันการรักษามะเร็งจึงมุ่งกลับมาศึกษาถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้ระบบการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกายของผู้ป่วยเอง ป้องกันหรือรักษาโรค โดยการให้ immunomodulators เช่น Interferon,<sup>2,5</sup> Lentinan,<sup>4,23</sup> Alocin<sup>3,12,16,33</sup> แต่ยังไม่มียาชนิดใดให้ผลการรักษาเป็นที่น่าพอใจ นอกจาก BCG ซึ่งให้ผลดีเฉพาะมะเร็งผิวหนังชนิด melanoma

สารคอนคานาวัลลิน-เอ (Concanavalin-A) เป็นเลคติน (lectin) ชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติน่าสนใจหลายประการ คือ ตัวมันเองสามารถทำลายเซลล์มะเร็ง (lysis)<sup>17</sup> บางชนิดได้ อาจยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง<sup>3,17</sup> เปลี่ยนสภาพเซลล์มะเร็งให้เป็นเซลล์ปกติ (โครโมโซมยังผิดปกติตามเดิม)<sup>35</sup> กระตุ้นเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างภูมิคุ้มกัน<sup>37</sup> และสามารถทำให้เซลล์มะเร็งกลายเป็นเซลล์ที่มีคุณสมบัติเป็น antigenic มากขึ้น<sup>18,28</sup> การวิจัยนี้จึงเลือกศึกษาสารคอนคานาวัลลิน-เอ ในการรักษามะเร็งตับที่เกิดในคน

## อุปกรณ์และวิธีการ

### สัตว์ทดลอง

หนูปลอดเชื้อ nu/nu ตัวเมีย จำนวน 50 ตัว อายุประมาณ 8 สัปดาห์ ได้รับการปลูกมะเร็งตับคน จำนวน 0.2 มล. จากเซลล์ที่มีความเข้มข้น  $2 \times 10^6$  เซลล์/มล. ที่หลังบริเวณใต้ผิวหนัง การทดลองเริ่มเมื่อก่อนมะเร็งโตขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.2 ซม. การรักษายาชนิดหนึ่งกระทำกับหนูจำนวน 10 ตัว ยกเว้นกลุ่มที่ฉีดคอนคานาวัลลิน-เอ เข้าที่ก้อนมะเร็งโดยตรง กระทำเพียง 5 ตัว

### สารเคมี

1. คอนคานาวัลลิน-เอ ของบริษัท ชิโกมา ชนิดผงแห้ง (lyophilized) ไม่มีเกลือเจือปน มีความบริสุทธิ์สูง ไม่มีคาร์โบไฮเดรต สารถูกละลายด้วย PBS ซึ่งมี pH 7.4 ใช้ฉีดจำนวน 10 ไมโครกรัม/กรัม (น้ำหนักหนู)
2. ยา Adriamycin (ADR) ฉีด 25 ไมโครกรัม/กรัม (น้ำหนักหนู)

### วิธีการ

- ก. การแบ่งกลุ่มรักษา แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้
- กลุ่ม ก. ฉีดคอนคานาวัลลิน-เอ อย่างเดียว เข้าทางช่องท้อง สัปดาห์ละครั้ง
  - กลุ่ม ข. ฉีดคอนคานาวัลลิน-เอ อย่างเดียว เข้าก้อนมะเร็ง สัปดาห์ละครั้ง
  - กลุ่ม ค. ฉีดคอนคานาวัลลิน-เอ เข้าทางช่องท้อง สัปดาห์ละครั้ง และฉีด ADR เข้าทางช่องท้อง สัปดาห์ละ 2 ครั้ง
  - กลุ่ม ง. ฉีด ADR อย่างเดียว เข้าทางช่องท้อง สัปดาห์ละ 2 ครั้ง
  - กลุ่ม จ. ฉีด ADR อย่างเดียว เข้าทางช่องท้อง สัปดาห์ละครั้ง
  - กลุ่ม ฉ. (กลุ่มควบคุม) ฉีดน้ำเกลือออร์มิต (PBS) ซึ่งมี pH 7.4 เข้าทางช่องท้อง สัปดาห์ละครั้ง
- ข. การศึกษาการทำลายเซลล์มะเร็งทางตรงของคอนคานาวัลลิน-เอ (Cytotoxicity test *in vitro*)
- ใช้สารคอนคานาวัลลิน-เอ ผสมใส่ขวดเลี้ยงเซลล์มะเร็งตับ เป็นระยะเวลาและความเข้มข้นต่าง ๆ

กัน ผลการทำลายเซลล์มะเร็งตัววัดโดยอาศัยวิธีอบเซลล์มะเร็งด้วย  $^{51}\text{Cr}$  ไว้ก่อนผสมกับคอนคานาวัลลิน-เอ ในน้ำเลี้ยง ในสัดส่วน 0.1 ไมโครกรัม  $^{51}\text{Cr}$  ต่อเซลล์มะเร็ง  $7 \times 10^5$  เซลล์ ทำให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ  $37^\circ\text{C}$ . เป็นเวลา 1 ชม. แล้วจึงล้าง  $^{51}\text{Cr}$  ส่วนเกินออกให้หมด ใส่ในน้ำเลี้ยงเซลล์ที่มีคอนคานาวัลลิน-เอตาม กำหนด เซลล์ที่ทำการทดลอง ใช้เซลล์ที่ได้จากผู้ป่วย 3 คน (3 cell lines) วิธีการแบ่งกลุ่มในหนึ่งตัวอย่าง ตรวจสอบจะมี 5 หลอด และ หนึ่งหลอดจะมีเซลล์จำนวน  $5 \times 10^5$  เซลล์ รายละเอียดอื่น ๆ มีดังต่อไปนี้

กลุ่ม 1. ใส่คอนคานาวัลลิน-เอ จำนวน 20 ไมโครกรัม/มล.

กลุ่ม 2. ใส่คอนคานาวัลลิน-เอ จำนวน 40 ไมโครกรัม/มล.

กลุ่ม 3. ใส่คอนคานาวัลลิน-เอ จำนวน 60 ไมโครกรัม/มล.

กลุ่ม 4. ใส่คอนคานาวัลลิน-เอ จำนวน 80 ไมโครกรัม/มล.

กลุ่ม 5. ใส่คอนคานาวัลลิน-เอ จำนวน 100 ไมโครกรัม/มล.

กลุ่ม 6. ใส่คอนคานาวัลลิน-เอ จำนวน 200 ไมโครกรัม/มล.

กลุ่ม 7. ใส่แต่น้ำเกลือออร์มัล 0.9% pH 7.4

สำหรับระยะเวลาได้ปล่อยให้ทำปฏิกิริยาเป็นเวลาต่างกัันดังนี้ คือ 1 ชม. 24 ชม. และ 72 ชม.

#### วิธีอ่านผลการทำลายเซลล์

แบ่งอ่านเป็น  $^{51}\text{Cr}$  ที่พบในเซลล์ (pellets) และส่วนที่พบในน้ำเลี้ยง supernatant (culture medium) กลุ่มที่ไม่ได้รับสารคอนคานาวัลลิน-เอ คือ กลุ่มควบคุม มีค่า cpm  $^{51}\text{Cr}$  ต่ำกว่า 5%, S.E. = 0.4771, S.D. = 1.169 ค่า  $^{51}\text{Cr}$  ที่วัดได้จะถูกนำมาคำนวณเพื่อหาค่าเปอร์เซ็นต์ต่อกลุ่มควบคุม ค่าเปอร์เซ็นต์ที่ได้ต้องสูงกว่า 10% ของกลุ่มควบคุม จึงจะถือว่ามืผลทางการทำลายเซลล์มะเร็งจริง

#### วิธีคำนวณ

$$\text{Percentage of lysis} = \frac{\text{cpm จากน้ำเลี้ยง (supernatant)}}{\text{cpm (ค่าเฉลี่ยของ control)}} - \frac{\text{cpm จากน้ำเลี้ยงของ control}}{\text{cpm (ค่าเฉลี่ยของ control)}} \times 100$$

ก. การรักษากับหนูที่เป็นมะเร็ง (เต้านม) ซึ่งมีระบบภูมิคุ้มกันปกติ

ใช้หนู BALB/CCR ซึ่งได้รับการปลูกให้เกิดมะเร็งชนิดที่เกิดที่เต้านม แบ่งกลุ่มการทดลอง เป็น รักษา 10 ตัว ไม่รักษา 10 ตัว การรักษาเพิ่มเมื่อขนาดของมะเร็งวัดได้  $0.02 \pm 0.02$  ลบ.ซม. ฉีดคอนคานาวัลลิน-เอ เข้าทางช่องท้อง จำนวน 10 ไมโครกรัม/กรัม (น้ำหนักหนู) สัปดาห์ละครั้ง

#### ผล

ก. การรักษาเมะเร็งที่ปลูกในหนูปลอดเชื้อ ผลแสดงไว้ในตารางที่ 1

หนูกลุ่ม ก. ที่ถูกฉีดคอนคานาวัลลิน-เอ อย่างเดียวเข้าทางช่องท้องสัปดาห์ละครั้ง จำนวน 10 ไมโครกรัม/กรัม (น้ำหนักหนู) พบว่า 7 ตัวจาก 10 ตัว มะเร็งปฐมภูมิ (primary) หายขาดในเวลา 2

เดือน อีก 2 ตัวที่มะเร็งปฐมภูมิ ยังคงปรากฏอยู่ มีมะเร็งขนาดใหญ่สุด 12.5 ลบ.ซม. แต่อายุยืนเกิน 120 วัน หนู 1 ตัวตายทันทีที่เข็มผ่านช่องท้อง (เชื่อว่าเกิดจากการกระตุ้นเยื่อหุ้มท้องมากกว่าจากอาการข้างเคียงของยา เพราะเริ่มมีอาการชักทันทีที่เข็มผ่าน) ไม่มีอาการข้างเคียงชนิดอื่นที่ชัดเจน ไม่มีโรคติดเชื้อที่บริเวณที่ก้อนมะเร็งตาย (necrosis) และหลุดหายไปโดยเร็ว 2 ใน 7 ตัวของหนูที่ก้อนมะเร็งหลุดหายไป พบมะเร็งที่ปอดหลังจากก้อนมะเร็งหลุดหายไปแล้ว เป็นเวลา 3 เดือน 1 ตัว และ 7 เดือน 1 ตัว ไม่มีความผิดปกติในอวัยวะอื่นรวมทั้งตับ ม้าม และไต ไม่มีลักษณะเยื่อช่องท้องอักเสบเนื่องจากสารที่ฉีด

หนูกุ่ม ข. ที่ถูกฉีดคอนคานาวาลิน-เอ ที่ก้อนมะเร็งโดยตรง มี 2 ตัวที่ก้อนมะเร็งกลายเป็นโพรง (cystic) ตัวหนึ่งเหลือมะเร็งที่ขอบขนาด  $0.5 \times 0.3 \times 1.2$  ลบ.ซม. อีกตัวหนึ่งมะเร็งหยุดโตในขณะที่ก้อนมะเร็งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม. ที่เหลืออีก 3 ตัว ก้อนมะเร็งใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ (32.5 ลบ.ซม.) ใกล้เคียงกับหนูที่ถูกฉีด ADR สัปดาห์ละครั้งและอายุของหนูกุ่มนี้เท่ากับกลุ่มที่ฉีด ADR สัปดาห์ละครั้ง

หนูกุ่ม ค. ที่ถูกฉีดทั้งคอนคานาวาลิน-เอ และ ADR 4 ตัว จาก 10 ตัว หายขาดและมีอายุเกินกว่า 90 วัน 6 ตัวไม่หายแต่อายุยืนถึงระหว่าง 60 - 90 วัน

หนูกุ่ม ง. ที่ถูกฉีดแค่ ADR สัปดาห์ละ 2 ครั้ง มะเร็งไม่หายขาด ก้อนมะเร็งขนาด 6 - 25 ลบ.ซม. มี 1 ตัว จากจำนวน 10 ตัว อายุยืน 100 วัน ส่วนใหญ่มีอายุเฉลี่ย 70 วัน 3 ตัว ตายใน 40 วัน

หนูกุ่ม จ. ที่ถูกฉีดแค่ ADR สัปดาห์ละครั้ง ก้อนมะเร็งก่อนตายวัดได้ใหญ่ถึง 14 - 25 ลบ.ซม. หนู 4 ตัวตายใน 40 วัน อีก 6 ตัว ตายใน 60 วัน

หนูกุ่ม ฉ. (กลุ่มควบคุม) ก้อนมะเร็งขนาด 9 ลบ.ซม. ตายภายใน 60 วัน

#### ข. การศึกษาการทำลายเซลล์มะเร็งทางตรง

คอนคานาวาลิน-เอ ไม่ทำลายเซลล์มะเร็งโดยลำพัง เซลล์มะเร็งหลังจากเลี้ยงในคอนคานาวาลิน-เอ ระยะเวลาหนึ่งเมื่อล้างคอนคานาวาลิน-เอ ออกหมดแล้วเลี้ยงต่อไป พบว่ายังคงเติบโตและขยายจำนวนได้ตามปกติ (เลี้ยงอยู่ประมาณ 3 สัปดาห์)

#### ค. การรักษามะเร็งที่ปลูกในหนูซึ่งมีภูมิคุ้มกันเป็นปกติ (มะเร็งเต้านม)

ผลสรุปแสดงในแผนภูมิที่ 1. คอนคานาวาลิน-เอ ไม่เป็นอันตรายแก่ชีวิตเมื่อฉีดเข้าทางช่องท้อง หนู

หนูที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยคอนคานาวาลิน-เอ จำนวน 6 ตัวจาก 10 ตัว ตายภายใน 33 วัน แต่ในเวลาเดียวกันหนูที่ได้รับการรักษายังคงมีชีวิตอยู่ถึง 8 ตัว ขนาดของก้อนมะเร็งวัดได้ครั้งหนึ่งของหนูที่ไม่ได้รับการรักษา คือ  $0.69 \pm 0.3$  ลบ.ซม. ขณะที่กลุ่มหนูไม่ได้รับการรักษาก้อนมะเร็งโต  $1.4 \pm 0.03$  ลบ.ซม. หนูกุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา 9 ตัวจาก 10 ตัว ตายหลังเริ่มการรักษา 44 วัน ในขณะที่กลุ่มที่ถูกรักษา (9 ตัวจาก 10 ตัว) ตายหลังจากเริ่มการรักษา 60 วัน หนูที่รับการรักษาเริ่มตายมาหลังจากเริ่มการรักษา 60 วัน

## สรุป

คอนคานาวาลิน-เอ ตามลำพังไม่สามารถทำลาย (lysis) หรือหยุดการเติบโตของเซลล์มะเร็งระดับได้ แต่จะสามารถรักษามะเร็งระดับที่ปลูกในหนูปลอดเชื้อ เมื่อฉีดเข้าทางช่องท้องโดยที่ไม่ทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิต

การที่คอนคานาวาลิน-เอ ไม่ทำลายเซลล์มะเร็งที่เลี้ยงในขวดทดลอง (tissue culture) ไม่สามารถหยุดการเจริญเติบโต (จากการที่สามารถทำ passage ได้เป็นเวลานานกว่า 3 สัปดาห์) และเมื่อฉีดโดยตรงเข้าที่ก้อนมะเร็ง จะทำลายก้อนมะเร็งเพียงทำให้เกิดเป็นโพรง (1 ตัว จาก 5 ตัว) แต่ผลการรักษากลับปรากฏอย่างชัดเจนเมื่อฉีดเข้าทางช่องท้องนั้น น่าจะเกิดจากการที่คอนคานาวาลิน-เอ ที่ฉีดเข้าทางช่องท้องไปกระตุ้น non-adaptive immune system เพราะหนูปลอดเชื้อนี้ไม่มี thymus มีเหลือเพียง non-adaptive immune system ซึ่งประกอบไปด้วย natural killer cells (NK)<sup>21,22</sup> และ macrophages<sup>36</sup> เซลล์ NK เป็นที่พบแล้วว่าสามารถทำลายมะเร็ง<sup>19,28,30</sup> B-cells ก็พบว่าทำปฏิกิริยากับ insoluble Con-A การหายของมะเร็งที่พบจากการทดลองนี้จึงน่าจะมีความเกี่ยวเนื่องจากการที่เกิดปฏิกิริยาเพิ่มภูมิคุ้มกันขึ้นซึ่งเกี่ยวข้องกับการเพิ่มปฏิกิริยาการทำลายเซลล์มะเร็งของ NK cells, B-cells และหรือ macrophages มากขึ้น

การเกิดการแพร่กระจายของโรค (metastasis) ในภายหลัง โดยปกติหนูปลอดเชื้อพวกนี้มีการแพร่กระจาย เกิดได้ประมาณ 10% ตามธรรมชาติ<sup>10</sup> ถ้าได้รับการปลูกให้เกิดเป็นมะเร็งโดยใช้เซลล์พวกที่เป็น cell lines ความเป็นไปได้ที่จะเกิดการแพร่กระจายมีมากกว่าพวกที่ใช้เนื้อที่ตัดจากการผ่าตัด (open biopsy) ปลูกให้เป็นมะเร็งเลย (surgical specimen)<sup>11</sup> นอกจากนี้ non-immunological control เช่น environmental limitation ผลของ immunostimulator<sup>28,32</sup> และ gene different tumor cells (heterogeneity)<sup>6,27</sup> ยังมีส่วนเกี่ยวเนื่องที่จะทำให้เกิดการแพร่กระจายด้วย

การที่กลุ่มฉีดสารทั้งคอนคานาวาลิน-เอ และ ADR มีมะเร็งหายขาดเพียง 4 ตัว อีก 6 ตัวพบว่า 2 ตัวตายใน 40 วัน อีก 4 ตัว ตายใน 60 วัน น่าจะเป็นเพราะจังหวะเวลาที่ทำให้สารทั้งสองยังไม่ถูกต้อง เพราะ ADR เป็นยาเมื่อให้จำนวนน้อยไม่ทำลายระบบสร้างภูมิคุ้มกัน<sup>34</sup> โดยเฉพาะเมื่อไม่มี T cells และไม่ทำลายคุณสมบัติ cytotoxic activity ทั้งของ NK cells และ peritoneal macrophages<sup>7,24,25</sup> แต่ถ้าให้จำนวนมากจะกลับทำลายระบบสร้างภูมิคุ้มกัน<sup>38</sup> เช่น peritoneal macrophages<sup>9</sup> และ natural killer cells<sup>34</sup>

การทดลองที่ทำกับหนูปกติ BALB/CCR ซึ่งได้รับการปลูกมะเร็งเต้านมเพื่อศึกษาถึงอาการข้างเคียงที่อาจจะเกิดขึ้นได้กับหนูที่มีระบบสร้างภูมิคุ้มกันปกติ นั้น ผลปรากฏว่าคอนคานาวาลิน-เอ ยังคงยับยั้งการเติบโตของมะเร็งได้ และทำให้หนูมีอายุยืนกว่าหนูที่ไม่ได้รับการรักษา

## ข้อเสนอแนะ

1. คอนคานาวาลิน-เอ เป็นสารที่น่าจะใช้ในการรักษามะเร็งระดับคนได้ จึงควรที่จะศึกษาต่อไปว่าสารนี้ให้ผลดีต่อการรักษาเพราะเหตุใด ถ้าสามารถกระตุ้น non-adaptive immune system จริง สารนี้กระตุ้นเซลล์

ชนิดใด NK cells หรือ peritoneal macrophages การศึกษาต่อไปนอกจากจะให้ประโยชน์ในการศึกษา กลไกของการทำลายมะเร็งในร่างกายของสิ่งมีชีวิตแล้ว ยังอาจหวังผลในการรักษาได้ในกรณีที่การฉีดเข้า ทางช่องท้องโดยตรงมีปัญหา ซึ่งปัจจุบันมีเทคนิคที่สามารถกระตุ้น effector cells นอกร่างกาย และใส่ กลับไปในร่างกายโดยไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียง (adoptive immunotherapy)

- การศึกษาผลร่วมระหว่างคอนคานาวัลลิน-เอ และยารักษามะเร็ง Adriamycin (ADR) เป็นที่พบว่า มี small mononuclear cell จำนวนมากในบริเวณที่มะเร็งถูกทำลาย\* ทำให้เชื่อได้ว่า ADR ไม่ทำลายระบบ สร้างภูมิคุ้มกันของคน และเมื่อคอนคานาวัลลิน-เอ สามารถกระตุ้น non-adaptive immune system วิธีการทั้งสองชนิดเมื่อนำมาประกอบกัน น่าจะมีผลช่วยเพิ่มผลการรักษามะเร็งชนิดนี้ได้

### เอกสารอ้างอิง

- Ando, K. et al. A Proposal of High Risk Group for the Early Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma. *Acta Hepatol. Japon.*, 1981, **22** (8).
- Braun, W. New approaches to immunology as potential adjuncts to chemotherapy. *Progr. Antimicrobial Anticancer Chemotherapy*, 1970, **1**, 17.
- Burger, M.M. et al. The Biology of Oncogenic Viruses. 2<sup>nd</sup> ed., Lepetit Collog, North Holland, 1971.
- Chihara, G. and Taguchi, T. Lentinan, Biological Activities and Possible Clinical Use Review Immunology & Immunopharmacology. *Estratto Dalla Rivista EOS*, 1982, **11** (3).
- Chirigos, M.A. Control of Neoplasia by Modulation of the Immune System. *Progr. Cancer Res. Therap.*, 1977, **2**, 1.
- Colombatti, A. et al. Genetic of Murine Sarcoma Virus (MSV) Induced Tumours in AKK Mice. Evidence that Late Progressing and Early Regressing Tumours ARS Controlled by Different Genes. *Intern. J. Cancer*, 1977, **19**, 565-575.
- Djen, J.J. et al. The effect of immunopharmacological agents on mouse natural cell mediated cytotoxicity and on its augmentation by poly I. *Immunopharmacol.*, 1979, **1**, 231.
- Ettinger, Ds. et al. Isotopic Immunoglobulin in Integrated Multimodel Treatment Program in a Primary Liver Cancer: A Case Report. *Cancer Treat Rep.*, 1979, **63**, 131-134.
- Facchinetti, T., Raz, A. and Goldman, R. A Differential Interaction of Daunomycin, Adriamycin, and N-Trifluoroacetyl-adriamycin 14-Valerate with Mouse Peritoneal Macrophages. *Cancer Res.*, 1978, **38**, 3944-3949.
- Francis, E. et al. Metastasis of Human Tumours in Athymic Nude Mice. *Intern. J. Cancer*, 1979, **24**, 733-738.
- Giovannella, B.C., Stehlin, J.S. and Williams L.J. Jr. Heterotransplantation of human malignant tumour in "nude" thymusless mice. II. Malignant tumours induced by injection of cell culture derived from human solid tumours. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1974, **62**, 920-921.
- Hozumi, M. The lectin and carcinoma. Lectin. Kondansha Scientific, 1979, 124-125.
- Hunt, S.M. and Marchalonis, J.J. Radioiodinated Lymphocytes Surface Glycoproteins: Concanavalin A Binding Proteins Include Surface Immunoglobulin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1974, **61**, 1227.
- Ichida, T. et al. Clinicopathological Study of Transcatheter Arterial Embolization Therapy in Hepatocellular Carcinoma: Study of Effectiveness of the Therapy. *Acta Hepatol. Japon.*, 1981, **22** (9).
- Ichida, T. et al. Clinicopathological Study of Transcatheter Arterial Embolization Therapy in Hepatocellular Carcinoma: Study of Indication and Limitation of Therapy. *Acta Hepatol. Japon.*, 1982, **23** (61).

\*วารสารอายุรศาสตร์ ปี 1984 โดยทุนอุดหนุนการวิจัยแห่งชาติ ปี 2524-2525

16. Imanishi, K. et al. Pharmacological Studies on a Plant Lectin, Alectin A I. Growth Inhibition of Mouse Methylcholanthrene-Induced Fibrosarcoma (Meth A) in Ascites Form by Alectin A. *Experientia*, 1981, **37**, 1186-1187.
17. Inbar, M., Ben-Bassat, H. and Sachs, L. Inhibition of Ascites Tumour Development by Concanavalin A. *Intern. J. Cancer*, 1972, **9**, 143-149.
18. Janossy, G. and Greaves, M.F. Lymphocyte Activation: I. Response of T and B Lymphocytes to Phytomitogens. *Clin. Exp. Immunol.*, 1971, **9**, 483.
19. Janossy, G. and Greaves, M.F. Lymphocyte Activation: II. Discriminating Stimulation of Lymphocyte Subpopulations by Phytomitogens and Heterologous Antilymphocyte Sera. *Clin. Exp. Immunol.*, 1972, **10**, 525.
20. Kanno, T. et al. A comparison of Transcatheter Arterial Embolization with Intraarterial One-shot Injection of Anticancer Drugs for the Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Acta Hepatol. Japon.*, 1982, **22** (6).
21. Karre, K. et al. Low activity *in vivo* resistance to syngeneic leukaemias in natural killer cell-deficient mice. *Nature (Lond.)*, 1980, **284**, 624-626.
22. Kenneth, J. et al. Diploid Human Lymphoblastoid and Burkitt Lymphoma Cell Lines: Susceptibility to Murine NK Cells and Heterotransplantation to Nude Mice. *Intern. J. Cancer*, 1981, **28**, 455-458.
23. Maeda, Y. and Chihara, G. The effects of neonatal thymectomy on the antitumour activity of lentinan, carboxymethylpachyman and zymosan, and their effects on various immune responses. *Intern. J. Cancer*, 1973, **2**, 153.
24. Mantovani, A. *In vitro* and *in vivo* Cytotoxicity of Adriamycin and Daunomycin for murine macrophages. *Cancer Res.*, 1977, **37**, 815.
25. Mantovani, A. et al. Effect of Chemotherapeutic Agents on Natural Cell-Mediated Cytotoxicity in Mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 1978, **61**, 1255.
26. Martin, W.M. et al. Enhanced Immunogenicity of Chemically-coated Syngeneic Tumour Cell. *Proc. Natl. Acad. Scientific (Wash.)*, 1971, **68**, 469-472.
27. Meier, L., Lilly, R. and Pincus, T. Genetic control of murine viral leukemogenesis. *Advan. Cancer Res.*, 1973, **17**, 231-277.
28. Milas, L. et al. Protection by *Corynebacterium granulosum* against radiation-induced enhancement of artificial pulmonary metastasis of a murine fibrosarcoma. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1974, **52**, 1875.
29. Nakano, S. et al. Clinical Studies of Minute Hepatocellular Carcinoma. *Acta Hepatol. Japon.*, 1982, **23** (7).
30. Noonan, K.D. and Burger, M.M. The Relationship of Concanavalin A Binding to Lectin-Initiated Cell Agglutination. *J. Cell Biol.*, 1973, **59**, 134.
31. Order, S. et al. Report of Radiation Immunology Working Group. *Intern. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1979, **5**, 727-744.
32. Proctor, J.W., Rudenstam, C.M. and Alexander, P. Increased incidence of lung metastasis following treatment of rat bearing hepatomas with irradiated tumour cells and the beneficial effect of *Corynebacterium parvum* in the system. *Biomed.*, 1973, **19**, 248.
33. Saito, H. et al. Pharmacological Studies on Plants Lectin Alectin A II. Inhibitory Effect of Alectin A on Experimental Models of Inflammation in Rat. *Japan. J. Pharmacol.*, 1982, **32**, 139-142.
34. Santoni, A., Riccardi, C., Sorci, V. and Herberman, R. Mouse Natural Killer Cells. *Immunol.*, 1980, **124**, 2329-2335.
35. Soham, J., Inbar, M. and Sachs, L. Differential Toxicity on Normal and Transformed Cell *in vitro* and Inhibition of Tumour Development *in vivo* by Concanavalin A. *Nature*, 1970, **227**, 1244.
36. Suzanne, A.E. Macrophages and Cancer. In Castro, J.E. (ed.). Immunological Aspects of Cancer. University park press, Battimore, 1978, 212.
37. Toyoshima. The Lectin and Immunocytes. Lectin. Kondansha Scientific, 1979, 98-111.
38. Vecchi, A. et al. A Characterization of the Immunosuppressive Activity of Adriamycin and Daunomycin on Humoral Antibody Production and Tumour Allograft Rejection. *Cancer Res.*, 1976, **36**, 1222-1227.
39. Yamasaki, S. et al. Clinico-pathological Observation of the Minute Liver Cancer and the New Method of Hepatectomy Analysis of 27 Resected Cases. *Acta Hepatol. Japon.*, 1981, **22** (12).

ตารางที่ 1. การรักษามะเร็งตับคนที่ปลูกในหนูปลอดเชื้อด้วย Concanavalin-A และ Adriamycin

กลุ่ม	ชนิดของสาร	จำนวนสาร ไมโครกรัม/กรัม (น้ำหนักหนู)	ความถี่ของ การฉีด	ผลการรักษา (จำนวนหนู)		ขนาดมะเร็ง ขณะตาย (ลบ.ซม.)	อายุหลังฉีดยา (วัน)		
				หายขาด	หายบางส่วน		ไม่หาย	40-60	61-90
ก	Con-A	10	i.p. สัปดาห์ละครั้ง	7	2	1	0	2	7
ข	Con-A	10	i.i. สัปดาห์ละครั้ง	0	2	3	0	1	0
ค	Con-A +	10	i.p. สัปดาห์ละครั้ง	4	0	6	2	1	4
ง	ADR	26	i.p. สัปดาห์ละครั้ง	0	0	10	3	3	1
จ	ADR	26	i.p. สัปดาห์ละ 2 ครั้ง	0	0	10	4	0	0
ฉ	PBS	0.5 มด.	i.p. สัปดาห์ละครั้ง	0	0	10	4	0	0

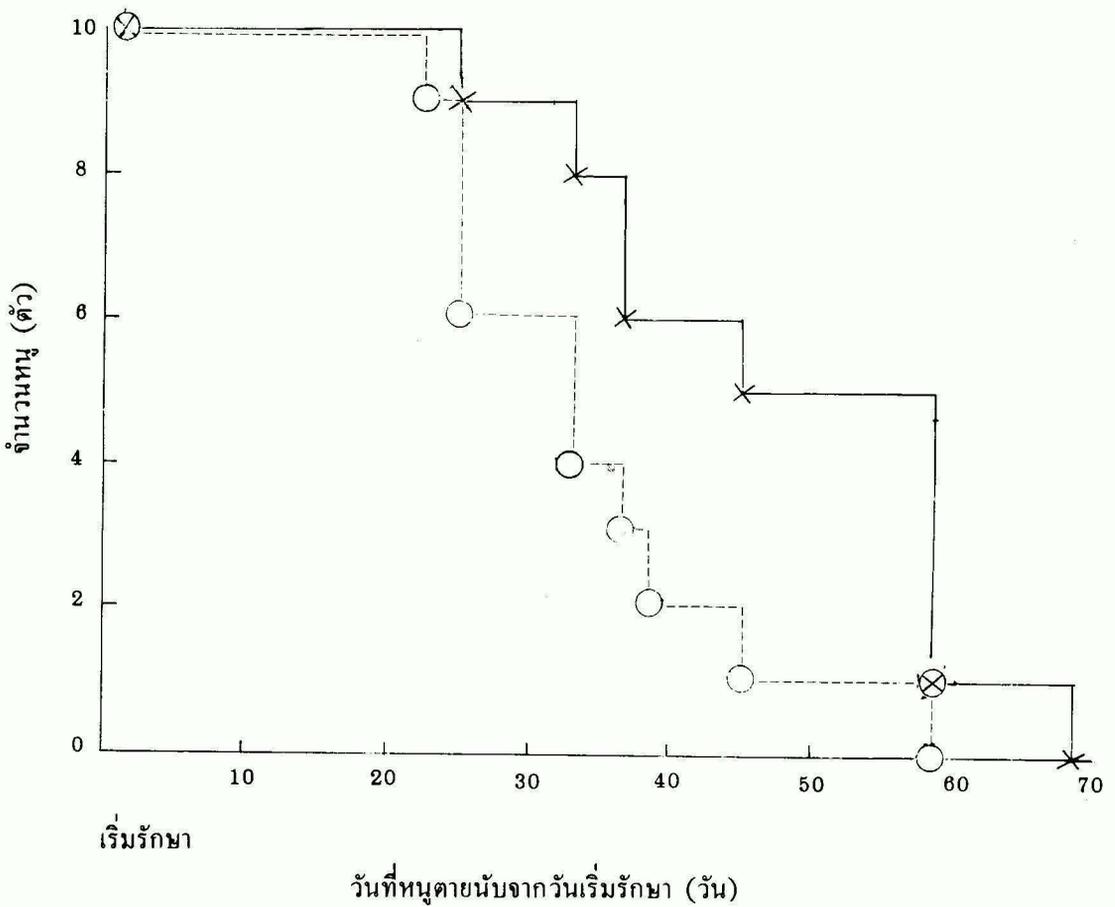
Con - A = Concanavalin-A  
 ADR = Adriamycin  
 i.p. = intraperitoneally  
 i.i. = intra-tumour lesion  
 PBS = phosphate buffer saline pH 7.4  
 + = รักษาด้วยสารสองชนิดคือ  
 Con-A ร่วมกับ Adriamycin

ตารางที่ 2. การทำลายเซลล์มะเร็งตับคนโดย Concanavalin-A จำนวน  $^{51}\text{Cr}$  ที่วัดได้ในน้ำเลี้ยงเซลล์ (supernatant)

ความเข้มข้นของ Con-A ไมโครกรัม/มล.	จำนวน $^{51}\text{Cr}$ ที่วัดได้ (cpm)											
	หลังทำปฏิกิริยา 1 ชม.				หลังทำปฏิกิริยา 24 ชม.				หลังทำปฏิกิริยา 72 ชม.			
	p-40	S-56	S-85		p-40	S-56	S-85		p-40	S-56	S-85	
กลุ่มควบคุม	ชนิดของเซลล์มะเร็ง											
	74110	69115	76301		69216	67456	71730		69421	67334	73814	
	(4.6)	(4.6)	(4.6)	(4.7)	(4.6)	(4.4)	(4.6)	(4.7)	(4.7)	(4.6)	(4.6)	(4.6)
	38821	71554	79225	72281	69410	73314	69221	69110	69221	69110	67501	
20	(5)	(5)	(5)	(6)	(7)	(7)	(5)	(5)	(5)	(4)		
	69801	69200	80104	68316	70021	69402	67903	70201	70201	70036		
	(3)	(5)	(5)	(6)	(7)	(7)	(5)	(5)	(5)	(4)		
	68105	70183	77438	70482	71937	70481	70114	69804	69804	69402		
60	(6)	(4)	(5)	(7)	(6)	(7)	(6)	(6)	(6)	(5)		
	75215	69942	75827	71438	68471	71461	73162	68702	68702	65991		
	(5)	(5)	(4)	(7)	(6)	(6)	(5)	(6)	(6)	(7)		
	69314	68841	69281	69940	70040	70327	70322	69703	69703	70218		
100	(6)	(5)	(6)	(6)	(5)	(6)	(5)	(5)	(6)	(7)		
	71305	69335	68941	70304	73182	69342	69381	67348	67348	69310		
	(6)	(6)	(6)	(6)	(7)	(7)	(5)	(5)	(5)	(7)		

( ) = จำนวนเปอร์เซ็นต์ Lysis

กลุ่มควบคุม : 1% PBS pH 7.4



แผนภูมิที่ 1. การเปรียบเทียบผลการรักษามะเร็งเต้านมที่เกิดในหนูที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง

- รักษาด้วยน้ำเกลืออนอร์มัล pH 7.4 (กลุ่มควบคุม)
- x-----x รักษาด้วยคอนควาเวอลิน-เอ (10 ไมโครกรัม/กรัม น้ำหนักหนู)

# IRON FORTIFICATION TRIAL : RESULTS OF A TWO YEAR TRIAL IN NORTHEAST THAILAND\*

การควบคุมโรคซีดจากการขาดธาตุเหล็ก : ผลการศึกษาติดตามเป็นเวลาสองปี ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

Malulee Tuntawiroon

มลูลี ตันทาวีรพห์

Romsai Suwanik

ร่มไทร สุวรรณิก

Chaveevan Pattanachak

ฉวีวรรณ พัฒนจักร

Nopamon Sritongkul

นภมณ ศรีตงกุล

Nucharee Putraseranee

นุชรี ปุตระเศรณี

Benjaporn Niranatkul

เบญจพร นีรนาทกุล

Rudee Pleehachinda

ฤดี ปลีหจินดา

Bumroong Punyaprateep

บำรุง ปัญประทีป

Supong Pattanachak

สุพงษ์ พัฒนจักร

Sunantha Sieng Jaew

สุนันทา เสียงแจ้ว

Siriporn Charoonpongsak

ศิริพร จรูญพงศ์ศักดิ์

Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University

คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

## ABSTRACT

*Iron fortification trial was undertaken for a duration of two years in Amphoe Uthumphon Phisai, Changwat Si Sa Ket. A total population of 4,242 in 6 villages was included in the study and a group of females age 15-45 years of which the subgroups were 124 placebo, 129 fortified salt and 165 combined fortified salt and fortified fish sauce, was selected for paired study. The salt was fortified at a concentration of 1 mg Fe/g with iron complex ( $FeSO_4$ :SHMP:  $NaHSO_4$  at 5:4:3) and 12 months later at 1 mg Fe/g with FeNaEDTA while the fish sauce at 0.25 mg Fe/ml with FeNaEDTA. After a continuous and regular administration and periodic*

\*Supported by National Research Council, Thailand and China Medical Board of New York, Inc.

observations throughout the two years the paired results were assessed by changes in haemoglobin levels, and group comparison by changes in serum ferritin values.

Analysis of co-variance and regression lines showed significant rise of mean changes of haemoglobin concentrations in the two treated groups. The effects of iron fortification as calculated at 25<sup>th</sup> percentile of the population from cumulative frequency distribution of haemoglobin at pre-and post-treatments of the two treated groups were 0.6 and 0.8 g/dl while those of the efficacies of fortified salt and fortified salt plus fortified fish sauce were 37.1 and 34.8% respectively. The slopes and intercepts of the regression lines fitted for each of the two treated groups were similar so that it could be concluded in this trial that iron fortification of salt or of both salt and fish sauce were effective and that the effects of fortification by salt alone or combined fortified salt and fortified fish sauce were not significantly different either expressed as slopes or as the elevation of haemoglobin concentrations. The findings were substantiated by the improvement of body iron stores in the two treated groups as assessed by serum ferritin determinations.

### บทคัดย่อ

การศึกษาเพื่อควบคุมโรคซีดจากขาดธาตุเหล็ก ใน 6 หมู่บ้านของอำเภออุทุมพรพิสัย จังหวัดศรีสะเกษ ซึ่งมีอุบัติการณ์ซีดจากขาดธาตุเหล็ก ประมาณร้อยละ 50 และ 40 ในเพศหญิงและชาย ตามลำดับ ภายหลังจากสำรวจภาวะทางเศรษฐกิจของประชากรกลุ่มนี้ซึ่งปรากฏว่ามีฐานะค่อนข้างยากจนแล้ว จึงศึกษาวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารในหมู่บ้าน พบว่า มีปริมาณของธาตุเหล็กต่ำ ชาวบ้านติดเชื่อพยาธิปากขอในระดับไม่รุนแรง และระดับปานกลางประมาณร้อยละ 50 และพบว่า การติดเชื่อพยาธิปากขอในระดับนี้ไม่มีอิทธิพลต่อภาวะขาดธาตุเหล็กของประชากรในหมู่บ้าน เพราะพวกมีพยาธิหรือไม่มีพยาธิก็ขาดธาตุเหล็กเช่นเดียวกัน

ได้แบ่งกลุ่มทดลองเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มได้รับเกลือเสริมธาตุเหล็กเพียงอย่างเดียว และกลุ่มได้รับเกลือเสริมธาตุเหล็กร่วมกับน้ำปลาเสริมธาตุเหล็ก ภายหลังจากแจกเกลือและน้ำปลาให้กับกลุ่มทดลองติดต่อกันเป็นเวลา 2 ปี การประเมินผลด้วยการวัดระดับความเข้มของเฮโมโกลบินและระดับเฟอร์ริติน พบว่า กลุ่มได้รับอาหารเสริมธาตุเหล็กทั้ง 2 กลุ่ม มีการตอบสนองต่อปริมาณธาตุเหล็กที่เพิ่มขึ้นในอาหาร ทำให้มีระดับเฮโมโกลบินและระดับเฟอร์ริตินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม การศึกษาผลของการเสริมธาตุเหล็กจากรูปภาพความถี่สะสมของเฮโมโกลบินพบว่า กลุ่มได้รับเกลือเสริมธาตุเหล็กเฮโมโกลบินเพิ่มขึ้น 0.6 กรัมเปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ได้รับเกลือและน้ำปลาเสริมธาตุเหล็กเพิ่มขึ้น 0.8 กรัมเปอร์เซ็นต์ เมื่อคิดประสิทธิภาพของการศึกษาครั้งนี้จะได้เป็นร้อยละ 37.1 และ 34.8 สำหรับกลุ่มเกลือเสริมธาตุเหล็กและกลุ่มเกลือ-น้ำปลาเสริมธาตุเหล็ก ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การทดสอบทางสถิติพบว่า กลุ่มได้รับการเสริมธาตุเหล็กทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน แต่โดยการวิเคราะห์ข้อมูลเฉพาะในกลุ่มผู้ที่มีค่าเฮโมโกลบินเพิ่มขึ้นที่สนองต่อการเสริมธาตุเหล็กเท่านั้น พบว่า มีค่าเฉลี่ยเฮโมโกลบินเพิ่มขึ้นถึง 1.16 กรัมเปอร์เซ็นต์ ในกลุ่มเกลือ-น้ำปลาเสริมธาตุเหล็กเมื่อเทียบกับกลุ่มเกลือเสริมธาตุเหล็กอย่างเดียวสูงขึ้นเพียง 0.71 กรัมเปอร์เซ็นต์ การประเมินผลของการเสริมธาตุเหล็กในเวลา 2 ปีนี้ได้ผลดี ทำให้ซีรัมเฟอร์ริตินในกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มนี้ทวีขึ้นถึงเท่าตัว

## INTRODUCTION

Iron deficiency with and without anaemia is widely prevalent in developing countries.<sup>7,24,25</sup> In Thailand the presence of anaemia varied from 30 to 60 % depending on localities, groups of target population and in particular economic status. The intervention programme of iron fortification preferably performed in the high risk population can be evaluated by studying the rise of haemoglobin concentration as well as replenishment of body iron stores as assessed by the measurement of serum ferritin in the target group and the results are to be compared to the placebo group.<sup>18</sup> This report presents preliminary findings on the effects and efficacies of a two year fortification trial after distributing iron fortified salt and combined iron fortified salt and iron fortified fish sauce in groups of females in villages of Changwat Si Sa Ket, with low income populations in the country. The present study involves the evaluation of changes in haemoglobin and serum ferritin concentrations prior to and two years after commencement of the field trial. The results of these studies showed that salt, combined salt and fish sauce fortified with iron were effective in increasing mean haemoglobin and serum ferritin levels of the population under study.

## MATERIALS AND METHODS

### Experimental design

Fortification trial was conducted for a duration of two years in subdistrict of Ban Kae, Amphoe Uthumphon Phisai, Changwat Si Sa Ket, northeastern Thailand. The subjects were 418 females, age 15 to 45 years, drawn from a total population of 4,242 from 6 villages of similar geographical, socio-cultural and economic status. The placebo and the treatment groups of population were selected from separate clusters of individuals after preliminary surveys to exclude subjects with haemoglobin concentration less than 8 g/dl, iron overload (serum ferritin more than 350 µg/l) as well as pregnant women and lactating mothers.<sup>18</sup> The initial sample size was more than 600 females or approximately 200 in each of the three study groups to allow for dropouts due to lack of co-operation, mobility to other places, being pregnant or lactating during the course of intervention.

By the end of the two year trial, the groups could be finally classified as 124 placebo, 129 and 165 treatment groups. The first treatment group had been given iron fortified salt in a concentration of 1 mg Fe/g of salt as iron complex (Fe (II) SO<sub>4</sub>:SHMP:NaHSO<sub>4</sub> at 5:4:3) and, the second treatment group, – iron fortified salt at the same level of iron concentration and iron fortified fish sauce at a concentration of  $\frac{1}{4}$  mg Fe/ml of fish sauce as ferric monosodium ethylene diamine tetra-acetic acid (Fe (III) NaEDTA). The iron fortified salt in the form of iron complex had to switch to FeNaEDTA at  $\frac{1}{4}$  mg Fe/g of salt after 6 months of distribution due to development of dark color of food during cooking process which was unacceptable. The distribution of iron fortified products was under constant supervision of local health personnel.

### Consumption and acceptability of the fortified products

The iron fortified products were distributed to villagers for few months for testing

the acceptability and estimating the amount consumed for each individual family of average size of 7 persons. The average consumption of salt and fish sauce was approximately 10 g/head/day and 10 ml/head/day respectively. Since the products were distributed on free of charge basis, the amounts distributed were then limited to these figures to prevent from taking more than needed. During the trial the amounts of the product consumed by each family were recorded on a consumption card for final calculation of the actual amounts of salt consumed.

### **Monitoring of iron fortified products**

Monitoring to control distribution of the fortified and unfortified products were carefully recorded at regular intervals throughout the whole study period. At the production centre in Bangkok, the products were periodically checked for total iron content after the method described by Hallberg and Rasmussen.<sup>3</sup>

### **Collection of specimens and laboratory analysis**

In each subject the haemoglobin concentration was measured initially and finally at two years after commencement of the trial. Venous blood samples were collected for haemoglobin determination, serum ferritin by radioimmunoassay<sup>2,8,10</sup> and abnormal haemoglobin by cellulose acetate elution technique.<sup>15</sup>

### **Statistical treatment**

The regressions between initial and final haemoglobin values of each group were compared and tested for differences in their slopes and intercepts.<sup>14, 16</sup> The response to iron fortification was determined by measurement of haemoglobin changes above their initial values of both treatment groups and placebo group. The analysis of co-variance was applied to obtain more precise comparison between groups by removing the effects of differences in their initial haemoglobin concentrations.

Finally the treatment effects and efficacies of the trial were estimated by plotting the cumulative frequency distribution of haemoglobin concentrations when admitted to and at the end of the trial in comparison to those of apparently healthy subjects. The numerical index was obtained from the cumulative curves at a 25<sup>th</sup> percentile of the population.

Comparison of mean initial and final serum ferritin of the placebo and treatment groups were calculated by Student's 't' test after logarithmic transformation for normal distribution (geometric means).

## **RESULTS**

### **Consumption of salt and fish sauce**

Data obtained from a monthly record on salt and fish sauce consumption over the

period of 24 months were tabulated in Table 1. The average consumption of unfortified and fortified salt was 10 g/head/day based on average family members of 7, and 6 to 8 ml/head/day of fish sauce either fortified or unfortified.

### Hookworm infestation

The prevalence of hookworm infection was mild to moderate. The faeces were positive for hookworm ova in 61% of 118 villagers randomly sampled for Stoll's egg count<sup>17</sup>; of this 50% had marginal infection having 1-1,000 eggs/g faeces and 11% moderate infection having 1,000-4,000 eggs/g faeces. There was no evidence of differences in haemoglobin concentrations between the normal cases with negative egg counts and the marginal or moderate hookworm infected groups (Table 2).

### Haematological characteristics

Complete blood profile of Si Sa Ket villagers as compared to apparently healthy subjects in Bangkok were shown in Table 3. These values were obtained from preliminary survey for haematological characteristics.<sup>4,5,6</sup> The overall incidence of anaemia in 6 villages were shown in Table 4.

In comparison with Bangkok subjects, the blood profile of Si Sa Ket subjects showed no definite decrease of the parameters in males. In women, there was a definitive decrease in haematocrit, haemoglobin and transferrin saturation levels, while the total iron binding capacity (TIBC), unsaturated iron binding capacity (UIBC) and free erythrocyte protoporphyrin (FEP) were elevated. The serum ferritin values in Si Sa Ket subjects were extremely low, – about one third of the Bangkok levels. However, all parameters except most of serum ferritin values were within normal limits.

### Evaluation of fortification trial

Table 5 showed mean initial and final haemoglobin concentrations of the three study groups. In testing for differences in mean initial values of haemoglobin concentration of the three groups, the results showed significant difference by one way analysis of variance ( $F > 1$ ). The results of the trial were then compared by analysis of co-variance to remove the effects of differences in the initial haemoglobin concentrations (Figure 1).

After fitting regression lines to the three groups, – placebo (Group 1), and the two treatment groups (Group 2: iron fortified salt and Group 3: iron fortified salt plus iron fortified fish sauce), a common slope of each regression line was calculated and tested for statistical differences among these three groups. From the results of analysis of co-variance, it could be seen that the slopes differed significantly from each other ( $F = 19.1443$ ,  $p < 0.001$ ). After adjusting means for the differences in initial haemoglobin concentrations for each individual, the intercepts of regression lines were then compared. The results showed that the intercepts of the two treatment groups differed significantly from the placebo ( $F = 12.0837$ ,  $p < 0.001$ ) but there was no difference between the two treatment groups ( $t = 0.163$ ) nor the intercepts ( $F < 1$ ). It could be con-

cluded that in this trial iron fortified salt and iron fortified salt plus iron fortified fish sauce were equally effective in increasing haemoglobin concentrations.

The analysis of co-variance for group 1, 2 and 3 was tabulated in Table 6 and , for group 1 and pooled data of group 2 and 3 in Table 7. The estimated regression equations were  $y = 3.159 + 0.736x$ ,  $y = 5.670 + 0.5608x$  and  $y = 5.726 + 0.5512x$  for groups 1, 2, and 3 respectively, and  $y = 5.704 + 0.552x$  for pooled data from group 2 and 3.

### Body iron stores of the placebo and treatment group

Body iron store of the placebo and the two treatment groups at pre-test and 2 years after the iron fortification were shown in Figure 2. Improved body iron status of paired subjects as determined by immunoradiometric assay of serum ferritin was evidenced by increase in mean serum ferritin values after 2 – year trial; 8.62, 71.5 and 89.1 % for groups of placebo, iron fortified salt and combined iron fortified salt and iron fortified fish sauce respectively. By Student's 't' test, the mean increase in serum ferritin levels was highly significantly different from the placebo ( $p < 0.001$ ).

### Effects and efficacies of the iron fortification trial

Figure 3a, 3b and 3c showed cumulative frequency distribution curves of treatment population as compared to the normal before and after the intervention programme. The effects (B-A g/dl) and efficacies  $(B-A)/(C-A) \times 100\%$  as determined at the 25<sup>th</sup> percentile of the population were shown in Table 8. The treatment effects in groups receiving iron fortified fish sauce were 0.65 and 0.8 g/dl and the efficacies were 37.1 and 34.8% respectively. The individuals who showed good response to the iron fortification or "responders" were 61.4 and 69.1% and the mean haemoglobin increase in responders were 0.71 and 1.16 g/dl for group 2 and 3 respectively.

## DISCUSSION

The actual consumption of salt and fish sauce both fortified and unfortified obtained from the family record cards during the whole study period were tabulated in Table 1. The figures were quite similar to those obtained from the short term test for their acceptability in adults; on the average of 10 g of salt/head/day. As for the fish sauce, the actual consumption as recorded in the family consumption cards was 7 to 9 ml/head/day vs 10 ml/head/day by the acceptability test.

The daily iron intake was 7 mg/head/day which is half of those found among subjects in central region.<sup>13</sup> The high prevalence of anaemia of 56.2% and depleted body iron stores evidenced by low serum ferritin of less than 15  $\mu\text{g/l}$  and high absorption of iron from standard reference dose in accompany with mild hookworm infection (Table 2) confirmed that these low economic population groups were at risk for iron deficiency with and without anaemia. The haematological characteristics of the population under study (Table 3) were also substantiated that the most prominent finding was serum ferritin values of about one third of the Bangkok levels and suggested that this population was suitable for the field trial. However, it should be

noted that the mean initial value of haemoglobin in females was less than the level for normal healthy females of 12 g/dl.<sup>21,22</sup>

The present study was designed to conform to human nature as much as possible in order to create no disturbances of usual daily life and environments by giving adequate education transfer with minimal incentive to enable re-applicability if feasible. However, we have found that during the first 9 to 12 months of distribution of the fortified products, villagers were enthusiastic and very co-operative and then become less so during the rest of the following years. The results as previously evaluated in the first 9 months in a limited number of subjects were encouraging, the mean increases in haemoglobin and serum ferritin concentrations were significantly higher than the initial values especially in females.<sup>22</sup>

The achievement of any field trial depends very much on the consumer acceptability. It was found from the surveys that in order to prevent unacceptable darkening of its color, the fortified dose for fish sauce had to be reduced to  $\frac{1}{4}$  mg Fe/ml of its original concentration of 1 mg Fe/ml at the 6<sup>th</sup> month of fortification. For salt we had to switch from iron complex to FeNaEDTA because of the resulting smell of sulphur and development of dark color when salt fortified with iron complex was used to preserve food and vegetables and again the fortifying dose had to be reduced to  $\frac{1}{4}$  mg Fe/g of salt.

Non-paired comparison showed only 12.8% reduction of overall prevalence of anaemia as assessed by haemoglobin concentration (Table 4). The lower the haemoglobin values at pre-test the better response were obtained as can be seen more obviously at the haemoglobin levels of less than 8 and between 8 to 10 g/dl. The assessment by serum ferritin concentration showed 40.8 % reduction of iron depleted cases having serum ferritin values less than lower limits for normal females (<13  $\mu$ g/l). However, at least the iron repletion accomplished in this fortification study for iron depleted individuals was significantly convincing.

Statistical treatment of the fortification trial by analysis of variance and by fitting a regression line of the final haemoglobin concentration on the initial haemoglobin concentration of the placebo and tested groups shown in Tables 6, 7 and Figure 1. The non-parallel regression lines of the tested groups to the placebo group indicated that the effect of treatment were different at different levels of initial haemoglobin concentration. Both iron fortified salt and combined iron fortified salt plus iron fortified fish sauce were equally effective in increasing haemoglobin concentration as shown by a definite elevation of the regression lines over that of the placebo (Figures 1a and 1b). The estimated effect of the trial (Table 8 and Figure 3) as shown by the shift of haemoglobin concentration toward the normals at 25<sup>th</sup> percentile of the population were 0.65 and 0.8 g/dl for groups received iron fortified salt and combined iron fortified salt and iron fortified fish sauce respectively. The numerical indices of efficacy were 37.1 and 34.8 % accordingly. Among the subjects who received iron fortified salt and/or fish sauce, the number of responding individuals were 61.4 and 69.1 % and, the mean haemoglobin increase was 0.71 and 1.16 g/dl respectively.

Serum ferritin values appeared to be a strong confirmatory parameter in showing the significant response to iron fortification. The evaluation of the trial confirmed improvement by 71.5 and 89.1 % of the originally existed body iron store in the two tested groups ( $p < 0.001$ ). However, after the trial, mean serum ferritin values in these groups of population were still in the

low normal range approximately half of those found in Bangkok females while the values at pre-test were only one third of the Bangkok level.

Nevertheless, it might be concluded that the trial produced moderately effective results for the selected target group.<sup>20</sup>

Although the mean increase in haemoglobin concentration was not impressive, the repletion of body iron stores or levels of serum ferritin were significantly convincing. The degree of response depends on many factors, the most important of which are in order: how high the initial haemoglobin and serum ferritin values, how regular the administration of the fortified products at consistently high enough fortifying dose of iron or the constant acceptance of the consumers, and how high the bioavailability of iron compounds mixed in a definite recipe of food ingredients.<sup>1,9,12,19</sup> Recent studies in India indicate that the fortification of common salt is technically feasible and field trial has shown a good haematological response.<sup>11,26</sup> Similarly, preliminary analysis of an extensive field trial by fortifying refined sugar with NaFeEDTA in Guatemala has shown significant improvement in iron status.<sup>23</sup> However, there are many factors that may contribute to fail to demonstrate a beneficial effect of fortification for a variety of reasons as previously mentioned.<sup>1</sup> Field trial is the more costly and a long term effective program. The trial may fail because the fortified product is not well accepted by the population as well as pitfalls related to the design itself. We realized from this intervention ourselves the facts that to obtain the results of the trial as evaluated in 2 years takes time, expenditure and much efforts until the time that the effects of the fortification would be demonstrable. In this particular case, many variables mostly unanticipated had repeatedly arisen.

## REFERENCES

1. Cook, J.D. and Reusser, M.E. Iron Fortification: An update. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1983, **38**, 648-659.
2. Cook, J.D. et al. Serum ferritin as a measure of iron stores in normal subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1974, **27**, 681.
3. Hallberg, L. and Rasmussen, E.B. Determination of iron absorption from the whole diet: A new two pool model using two radioiron isotopes given as heme and non-heme iron. *Scan. J. Haematol.*, 1972, **9**, 193.
4. Heller, S.R. et al. A simplified assay for porphyrins in whole blood. *Clin. Chem.*, 1971, **17**, 525.
5. International Committee for Standardization in Haematology. Iron Panel. Recommendations for measurement of serum iron in human blood. *Brit. J. Haematol.*, 1978, **38**, 291.
6. International Committee for Standardization in Haematology. Recommendations for Haemoglobinometry in Human Blood. *Brit. J. Haematol.*, 1967, **13** (Suppl.), 71-75.
7. International Nutritional Anaemia Consultative Group (INACG). Guidelines for the Eradication of Iron Deficiency Anaemia. The Nutrition Foundation, Washington D.C., 1977.
8. Jacobs, A. and Worwood, M. Ferritin in serum. Clinical and biochemical implications. *New Engl. J. Med.*, 1975, **292**, 951.
9. Layrisse, M. et al. Sugar as a vehicle for iron fortification. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1976, **29**, 8-18.
10. Miles, L.E.M. et al. Measurement of serum ferritin by 2 - site immunoradiometric assay. *Anal. Biochem.*, 1974, **61**, 209-224.
11. Nadiger, H.A. et al. The use of common salt (sodium chloride) fortified with iron to control anaemia: Results of a preliminary study. *Brit. J. Nutr.*, 1980, **43**, 45.
12. Narasinga Rao, B.S. and Vijayasathy, C. An alternative formula for the fortification of common salt with iron. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1978, **31**, 1112-1114.
13. Pattanachak, C. et al. Iron intake in Thais. *J. Med. Assoc. Thailand*, 1981, **64**, 49-50.

14. Remington, R.D. and Schork, M.A. *Statistics with Applications to the Biological and Health Sciences*. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1970, 27, 192-228.
15. Schmidt, R.N. et al. *Advanced Laboratory Methods of Haemoglobinometry Detection*. U.S. Department of Health Education and Welfare, Public Health Service, Atlanta, Georgia, 1974.
16. Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. *Statistical Methods: Analysis of Co-variance*. 6<sup>th</sup> ed., The Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1973, 419.
17. Stoll, N.R. and Hauscheer, W.C. Accuracy in the dilution egg counting method. *Am. J. Hyg.*, 1926, 6, 80.
18. Sawanik, R. Iron and Iodine Fortification in Thailand. *J. Med. Assoc. Thailand*, 1979, 62 (Suppl. 1), 1-48.
19. Suwanik, R. et. al. Fortification of common salt with iron. *Lancet*, 1978, 2, 1101-1102.
20. Suwanik, R. et al. Iron deficiency anaemia and endemic goitre: Selective fortification for their elimination from the Thai population. *J. Med. Assoc. Thailand*, 1980, 63, 611-615.
21. Suwanik, R. et. al. Iron status of Thai population in Bangkok and of villagers in Northeastern Thailand. *J. Med. Assoc. Thailand*, 1981, 64, 183-187.
22. Tuntawiroon, M. et al. Haemoglobin and serum ferritin in Thai population: Levels in rural villagers before and after receiving iron fortified foodstuffs. *J. Med. Assoc. Thailand*, 1980, 63, 332-339.
23. Viteri, F.E. et al. Iron fortification in developing countries. In Harper, A.E. and Davis, G.K., (eds.). *Nutrition in Health and Disease and International Development: Symposium from the XII International Congress of Nutrition. Progress in Clinical and Biological Research*. Alan R. Liss, New York, 1981, 77, 345-354.
24. Wasi, P. Prevalence of anaemia in Thailand. *J. Med. Assoc. Thailand*, 1972, 5, 685.
25. WHO. *Control of Nutritional Anaemia with Special Reference to Iron Deficiency*. Technical Report Series No. 580, Report of an IAEA/USAID/WHO, Joint Meeting, 1975.
26. Working Group on Fortification of Salt with Iron. Use of common salt fortified with iron in the control and prevention of anaemia: A collaborative study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1982, 35, 1442-1451.

**Table 1. Average consumption of salt and fish sauce both fortified and unfortified as obtained from a monthly record over the period of 21 to 24 months in the villages under studies.**

Village	Food vehicle	Number of families*	Consumption** mean $\pm$ SD	Range
6	Unfortified salt	98	10.7 $\pm$ 2.85	7.9 – 13.6
1,3,4,5	Iron fortified salt ( $\frac{1}{4}$ mg Fe/g)	181	10.1 $\pm$ 3.36	6.8 – 13.5
2	Iron fortified salt ( $\frac{1}{4}$ mg Fe/g)	76	10.2 $\pm$ 3.32	6.8 – 13.5
	Iron fortified fish sauce ( $\frac{1}{4}$ mg Fe/ml)	72	8.1 $\pm$ 3.04	5.1 – 11.1
2	Unfortified salt	76	8.6 $\pm$ 2.81	5.8 – 11.4
	Unfortified fish sauce	74	6.9 $\pm$ 2.35	4.5 – 9.2

\* Average family member of 7

\*\* g/head/day for salt and ml/head/day for fish sauce

**Table 2. Hookworm infection and haemoglobin concentration in 118 villagers.**

Group	Sex (M,F) (number)	Haemoglobin (g/dl) mean $\pm$ SD	P-value *
Negative egg counts	F(19)	11.71 $\pm$ 1.91	–
	M(24)	13.26 $\pm$ 1.64	–
Marginal infection	F(33)	11.90 $\pm$ 1.38	NS
	M(19)	13.36 $\pm$ 1.33	NS
Moderate infection	F(9)	12.16 $\pm$ 1.01	NS
	M(5)	13.92 $\pm$ 1.21	NS

\*P-values were obtained by comparison to group with negative egg counts using the unpaired Student's 't' test.

NS = not significant

**Table 3. Blood profile of 189 Bangkok subjects and 138 villagers in Changwat Si Sa Ket (Mean  $\pm$  SD).**

Parameter	Bangkok		Si Sa Ket	
	Male (n = 45)	Female (n = 144)	Male (n = 37)	Female (n = 101)
Age (years)	27.7 $\pm$ 6.36	23.3 $\pm$ 6.58	37.0 $\pm$ 6.8	35.2 $\pm$ 6.8
Haematocrit (%)	44.4 $\pm$ 2.20	41.0 $\pm$ 2.46	40.2 $\pm$ 3.5	35.4 $\pm$ 3.5
Haemoglobin (g/dl)	14.8 $\pm$ 0.87	13.8 $\pm$ 0.90	13.4 $\pm$ 1.35	11.9 $\pm$ 1.33
Serum iron ( $\mu$ g/dl)	107.0 $\pm$ 27.96	107.9 $\pm$ 21.97	125.5 $\pm$ 63.4	105.6 $\pm$ 59.9
UIBC ( $\mu$ g/dl)	251.3 $\pm$ 36.27	260.3 $\pm$ 34.57	265.5 $\pm$ 65.2	286.7 $\pm$ 87.7
TIBC ( $\mu$ g/dl)	365.0 $\pm$ 50.58	369.1 $\pm$ 46.47	391.3 $\pm$ 97.3	394.0 $\pm$ 99.0
Transferrin saturation (%)	29.7 $\pm$ 5.57	29.1 $\pm$ 6.20	29.6 $\pm$ 10.1	25.5 $\pm$ 11.0
Red Cell protoporphyrin ( $\mu$ g/ml)	—	22.8 $\pm$ 7.09	33.9 $\pm$ 15.1	37.6 $\pm$ 16.3
Serum ferritin* ( $\mu$ g/l)	81(21-314)	48 (13-173)	32 (5-192)	15 (3-80)

\*Geometric mean values ( $\pm$ 2SD given in parenthesis) from 209 male, 503 female villagers in Si Sa Ket and 45 male, 200 female Bangkok subjects

**Table 4. Haemoglobin concentrations, serum ferritin values and prevalence of anaemia in non-paired population from 6 villages at pre-test and 2 years after the trial.**

Haemoglobin (g/dl)	Pre-test		2 years	
	n	%	n	%
<b>Female</b>				
<8	26	5.27	9	1.80
8 - 10	87	17.65	49	9.88
10 - 12	164	33.30	185	37.30
>12	277	56.19	243	48.99
Total	493	100.0	496	100.0
Serum ferritin ( $\mu$ g/l)				
<13	503	41.9	496	24.8

Table 5. Mean initial and final haemoglobin concentrations of the three study groups.

Groups	Initial Hb (g/dl) mean $\pm$ SD	Final Hb (g/dl) mean $\pm$ SD
1. Placebo	12.32 $\pm$ 1.31	12.23 $\pm$ 1.11
2. Fortified salt	11.65 $\pm$ 1.60	12.20 $\pm$ 1.16
3. Fortified salt + Fortified fish sauce	11.50 $\pm$ 1.69	12.06 $\pm$ 1.16

Table 6. Analysis of covariance (group 1, 2 and 3), comparison of regression lines.

Source of Variation	df	$(x-\bar{x})^2$	$(x-\bar{x})(y-\bar{y})$	$(y-\bar{y})^2$	Regression coefficient	Deviation from regression		
						df	SS	MS
Group 1	124	212.2439	156.2939	152.6423	0.7364	124	37.5494	0.3053
Group 2	129	330.1986	185.1870	150.6970	0.5608	128	46.8441	0.3659
Group 3	165	472.5024	260.4555	223.2562	0.5512	164	79.6931	0.4859
Sum of deviation from regression						415	164.0866	0.3954
Pooled within group	418	1014.9449	601.9364	536.5955	0.5937	417	179.2259	0.4298
Comparison between the slopes $F = 7.5696/0.3954 = 19.1443$ , $P < 0.001$ Slopes are highly significantly different.								
Between group	2	51.3487	8.3313	2.2963				
Total	420	1066.2736	610.2677	538.8918		419	189.6131	0.4525
Difference between adjusted means $F = 5.1936/0.4298 = 12.0837$ , $P < 0.001$ The difference is highly significant.								

Table 7. Analysis of covariance, mean haemoglobin differences between group 2 and 3.

Source of variation	df	$(\bar{x}-\bar{x})^2$	$(\bar{x}-\bar{x})(\bar{y}-\bar{y})$	$(\bar{y}-\bar{y})^2$	Regression coefficient	Deviation from regression		
						df	SS	MS
Pooled group 2+3 only	294	802.7010	445.6425	373.9532	0.5552	293	126.5420	0.43188
Between 2 groups	1	1.5640	1.1489	1.3423				
Total	295	804.2649	446.7914	375.2955		294	126.7571	0.43115
Difference between adjusted means $F = 0.21511 / 0.43115$ , $F < 1$ No significant difference								

Note : By Student's 't' test, the slopes of group 2 and 3 are not significant different ( $t = 0.163$ ).

Table 8. The effects and efficacies of iron fortification trial.

Group of subjects	Effects (B - A) g/dl	Efficacies $\{(B - A) / (C - A)\} \times 100\%$	Responders (%)	Mean Hb increase (g/dl)
1. Placebo	0.15	12.5		
2. Iron fortified salt	0.65	37.1	61.4	0.71
3. Iron fortified salt + Iron fortified fish sauce	0.80	34.8	69.1	1.16

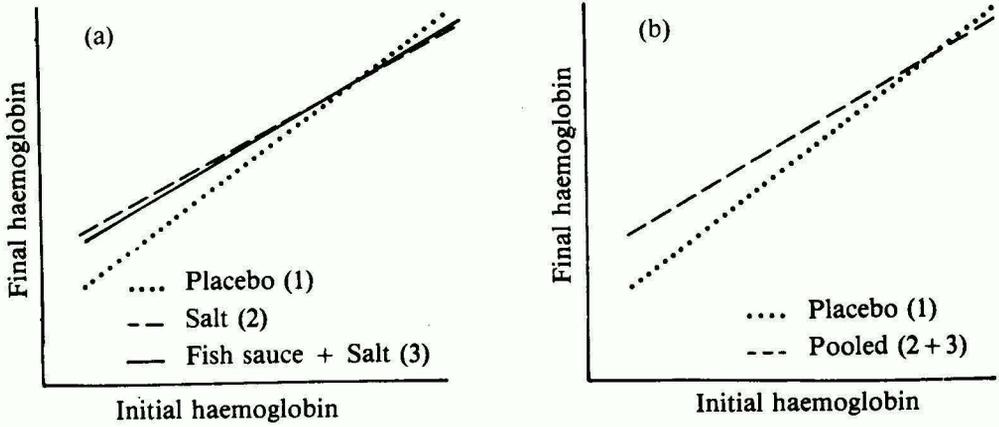


Fig. 1 Comparison of regression lines of the placebo and the two treatment groups (a) ...placebo, --- fortified salt, — combined fortified salt and fortified fish sauce, (b) ...placebo, --- pooled data (fortified salt + combined fortified salt and fortified fish sauce).

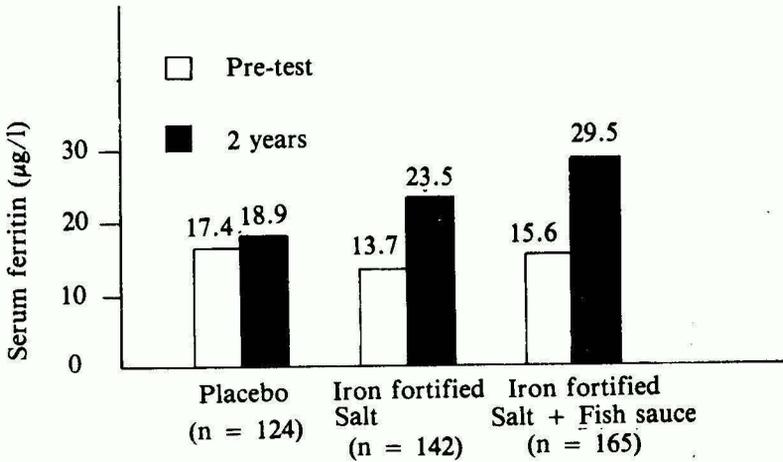
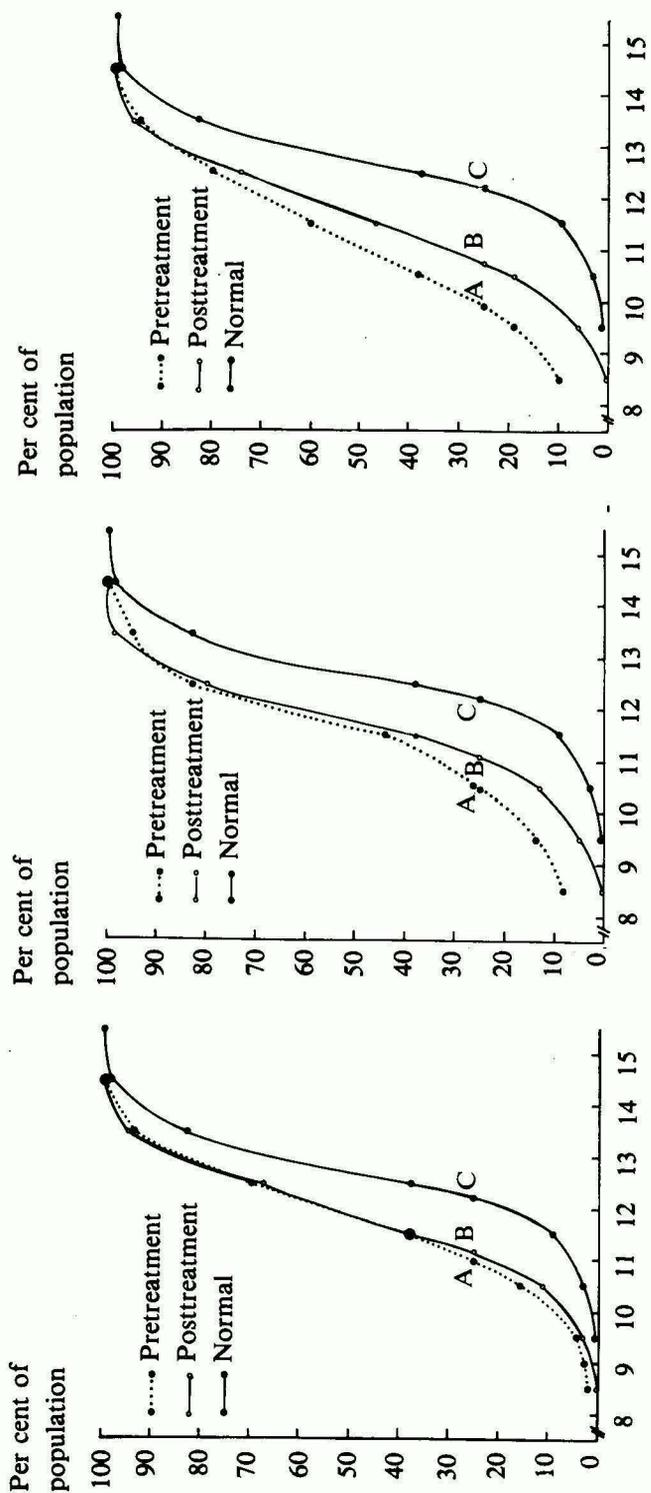


Fig. 2 Mean increase in serum ferritin levels in placebo and 2 treatment groups at 2 years after the trial (paired results).



Haemoglobin concentrations  
 Fig. 3a : Placebo  
 Haemoglobin concentrations  
 Fig. 3b : Iron fortified salt  
 Haemoglobin concentrations  
 Fig. 3c : Iron fortified salt +  
 Iron fortified fish sauce

Fig. 3 Cumulative frequency distribution curves of haemoglobin concentrations of the placebo and the two treatment groups before and after the intervention as compared to the normals (Curve C).

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

JOURNAL OF THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THAILAND

ภาค ๒  
สังคมศาสตร์

PART II  
SOCIAL SCIENCE

# ธรรมจริยาของครูไทยในภาคกลาง

## RELIGIOUS MORALITY OF THAI TEACHERS AND PUPILS IN THE CENTRAL PLAINS

บุญกอบ วิสมิตะนันทน

Boonkob Vismitanandana

ประภาพันท์ กรโกสิยกาจ

Prapapan Kornkosiyakaj

สถาบันวิจัยพฤติกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

Behavioral Science Research Institute,

Srinakarinwirote University, Prasarnmitre

### บทคัดย่อ

ธรรมจริยา คือการประพฤติตามธรรม ซึ่งเป็นเรื่องสำคัญมากสำหรับพลเมืองของทุกประเทศ ผู้ที่มีธรรมจริยาเปรียบเสมือนต้นไม้ที่มีทั้งรากแก้วและรากฝอยหยั่งลงในดินอย่างมั่นคง พร้อมทั้งจะเจริญเติบโต มีดอกออกผลแก่กิ่งก้านสาขาที่จะยังประโยชน์ให้แก่สิ่งมีชีวิตที่อยู่ใกล้เคียง ส่วนผู้ไร้ธรรมจริยานั้น มีผลตรงข้าม คือเปรียบประดุจดั่งต้นไม้ใหญ่ที่ปราศจากราก พร้อมทั้งจะล้มพาดลงทำลายทุกสิ่งที่อยู่ในรัศมีให้พังพินาศไป ธรรมจริยาเป็นเรื่องของการเรียนรู้ การเลียนแบบ และการสั่งสอนอบรม ซึ่งเป็นเรื่องของการค่อย ๆ สะสม ฉะนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า ผู้ที่มีธรรมจริยาเป็นผู้ที่ได้รับการสั่งสอน ฝึกฝน อบรม และปฏิบัติมาตั้งแต่ยังเยาว์ต่อเนื่องมาจนเติบโตใหญ่ จนฝังแน่นเป็นอุปนิสัย

การวิจัยเรื่อง ธรรมจริยาของครูไทยในภาคกลางแสดงให้เห็นว่าครูมีคุณสมบัติพร้อมทั้งสามประการ คือ มีธรรมจริยาสูง มีทัศนคติต่อศิษย์ และสั่งสอนอบรมศิษย์จนศิษย์มีธรรมจริยาสูง ครูจึงมิได้มีความสำคัญต่อศิษย์ เฉพาะทางด้านวิชาการเท่านั้น แต่มีความสำคัญต่อการฝึกฝน อบรมให้ศิษย์มีธรรมจริยา เพื่อให้เป็นพลเมืองดีของชาติในอนาคตด้วย

ธรรมเบื้องต้นที่พระพุทธเจ้าทรงจัดหมวดหมู่ไว้สำหรับผู้ครองเรือน ที่ผู้ครองเรือนปฏิบัติแล้วจะมีสันติสุข ปราศจากการเบียดเบียนกัน ได้แก่ สีลห้า คือข้อควรเว้น 5 ประการ หิริ - โอตตัปปะ คือละอายต่อการทำชั่ว เกรงกลัวต่อการทำชั่ว และสติสัมปชัญญะ คือ ระลึกชอบ ความรู้ตัว ธรรมเหล่านี้จึงควรปลูกฝังให้เด็กปฏิบัติตั้งแต่เยาว์วัย ครูมีหน้าที่สั่งสอนฝึกฝนและอบรมเยาวชนในวัยเรียนต่อจากพ่อแม่หรือผู้ปกครอง และเป็นผู้ที่มีอิทธิพลต่อศิษย์มาก การวิจัยนี้จึงมุ่งค้นหาความสัมพันธ์แห่งธรรมจริยาของครูกับศิษย์ โดยผ่านการสั่งสอนอบรมของครู เพื่อให้เห็นแนวโน้มของธรรมจริยาในโรงเรียน จะได้เป็นแนวทางจัดปัญหาสังคม เพราะปัญหาสังคมย่อมเกิดจากสมาชิกในสังคมเห็นห่างหลักธรรมทางศาสนา

## ABSTRACT

*Moral citizens are vital for the peace and prosperity of the country. Thailand is a Buddhist country. Buddha's teaching is mainly scientific, therefore consonant with modern psychological knowledge. Three important groups of virtuous belief and practices for Buddhist layman are :-*

- a. The Five Observances (Silha) which are refraining from killing, stealing, adultery, telling a lie, and consuming liquor and addictive drugs,*
- b. Consciousness and Awareness (Sati - Sumpachunya),*
- c. Being afraid of sin and guilt (Hiri-Ottappa). These beliefs and practices are usually transmitted by parents and teachers to their children. The aim of this study is to investigate the relationship between teachers' moral training techniques moral characteristics and attitudes towards pupils and pupils' moral characteristics, perceived teacher's techniques and attitudes towards teachers.*

*In this study there were 49 teachers who were responsible for moral-education classes. These teachers were compared with other types of teacher. It was found that morality teachers had higher scores on moral characteristics and proper training techniques but showed less favorable attitudes towards the pupils than other teachers.*

*Teachers from the near-temple schools were found to use more appropriate techniques of moral training than those in the far-temple schools, especially when the comparison was made among the least educated teachers. Furthermore, the teachers who reported using less appropriate moral training than others were the ones who were teaching many types of subject and the ones in the far-temple schools. In addition, teachers with less favorable attitudes towards their pupils besides the morality teachers, were teachers in the far-temple schools and the Bachelor's degree holders who were teaching moral education.*

*When pupils were classified according to their teacher's attitudes towards them and teacher's report of moral training, it was found that pupils in the high-high group and the low-low group had significantly higher moral scores than pupils of teachers with one high and one low characteristics. This was also found in most subgroups except pupils in the near-temple schools. It could be interpreted that both appropriate techniques and favorable attitudes towards pupils of teachers together were necessary for high morality of students. On the other hand, lacking one of the two characteristics among teachers would make the matter worst than lacking both.*

*As for the relationship between morality of teachers and students, it was found that teachers who were high on "consciousness and awareness" and on "being afraid of sin and guilt" also had pupils with higher moral scores than their counterparts. However, the opposite was true for "the Five Observances."*

*In another analysis, it was found that favorable attitudes of pupils towards their teachers together with high morality of teachers and appropriate moral training were also associated with high morality scores on the part of the students. In addition, the more the students perceived that their teachers used appropriate moral training with them, the higher were their morality scores.*

*When comparisons were made of the morality scores of different types of students, it was found that girls scored higher than boys on 3 variables namely: morality, perceived proper moral training and favorable attitudes towards their teachers. Furthermore, the pupils from the middle socioeconomic level were higher on morality scores than the students from both the upper and the lower levels.*

*It could be concluded that high morality teachers usually have students with high morality. If teachers reported using proper training techniques and teacher-student's attitudes were highly favorable, together with perceived proper moral training of teachers by the students, these students usually had higher morality scores.*

## คำนำ

ความเจริญทางด้านจิตใจจำเป็นต้องสะสมต่อเนื่อง การสอน ฝึก และอบรมเยาวชนตั้งแต่ยังเป็น “ไม้อ่อน” ให้เป็นคนดีมีศีลธรรมและมีธรรมจริยาเพื่อเป็นการตั้งจิตบุคคลให้ตรงกับร่องรอยของคุณธรรม ตั้งแต่ต้นชีวิตจึงเป็นเรื่องจำเป็นอย่างยิ่ง ดังนั้นการสั่งสอน ฝึก และอบรมเยาวชนให้เข้าถึงธรรมที่จำเป็นต่อชีวิตประจำวันย่อมเป็นการป้องกันอันตรายที่จะเกิดแก่เยาวชนเอง ทั้งยังจะเป็นผลดีต่อความมั่นคงและความอยู่รอดของชาติด้วย กล่าวคือทำให้ผู้บริหารประเทศหมดกังวลในเรื่องที่จะต้องปราบปรามเมืองร้าย และมีเวลามุ่งหน้า ปรับปรุง ดัดแปลง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องอื่น ๆ ที่เป็นตัวถ่วงความพัฒนาของบ้านเมือง ให้เป็นตัวเสริมความพัฒนาของบ้านเมืองได้เต็มที่

ความสงบภายในมีความสำคัญต่อความมั่นคงและความอยู่รอดของชาติเป็นอย่างยิ่ง และความสงบจะมีได้ก็ต่อเมื่อคนในบ้านเมืองมีศีลธรรม ยึดมั่นอยู่ในความถูกต้อง มีธรรมจริยา ประพฤติถูกต้องตามหลักธรรม ความเห็นแก่ตัวนอกจากจะทำให้ผู้ประพฤติเกิดทุกข์แล้ว ยังสร้างทุกข์ให้ผู้อื่นด้วย ด้วยเหตุที่มนุษย์มีลักษณะจิตใจและอารมณ์เหมือนกอไม้ ที่แม้เป็นไม้กอเดียวกันยังมีคดและมีตรง จึงควรกำหนดคุณค่าทางสังคมให้ยึดถือเป็นแนวปฏิบัติ ซึ่งมนุษย์จะรับรู้คุณค่าทางสังคมต่อเนื่องทุกรุ่นได้ด้วยการถ่ายทอดจากคนรุ่นก่อนไปยังคนรุ่นหลัง เช่นพ่อแม่ถ่ายทอดให้ลูก ครูถ่ายทอดให้ศิษย์ เป็นต้น

สถาบัน 3 สถาบันที่มีความสำคัญและทรงอิทธิพลต่อธรรมจริยาของมนุษย์ ได้แก่สถาบันครอบครัว เป็นสถาบันแรก บุคคลในครอบครัวโดยเฉพาะอย่างยิ่ง พ่อ แม่ และบุคคลที่รับผิดชอบเลี้ยงดูทารกแรกเกิดจนถึงวัยเข้าโรงเรียน ซึ่งย่อมเป็นแบบอย่างธรรมจริยาและแนวความคิดให้ลอกเลียน ถ้าตัวแบบมีธรรมจริยา เอาใจใส่อบรมให้ประพฤติแต่สิ่งที่ดีถูกต้องและแนะนำให้รู้จักเลือกปฏิบัติตามแบบอย่างที่ดีจากบุคคลหรือสื่อมวลชน เช่น วิทยุ โทรทัศน์ และหนังสือพิมพ์ เป็นต้น ตลอดจนนำไปสู่กับพระสงฆ์ที่เคร่งครัดพระธรรมวินัยและมีธรรมวัตร การปฏิบัติตามธรรมที่นำศรัทธาปสาทะเสียตั้งแต่เด็กก็จะเป็นการสร้างกำไรชีวิตให้อย่างยอดเยี่ยม สถาบันที่สองที่ทรงอิทธิพลต่อธรรมจริยาของบุคคลทุกวัยคือ สถาบันศาสนา คนไทยในสมัยก่อน ๆ มีธรรมจริยาเพราะมีความผูกพันใกล้ชิดพระสงฆ์พุทธสาวกที่มีความรู้แตกฉานทั้งทางโลกย์และทางธรรม โดยที่นอกจากจะนิยมการทำบุญทำทานและฟังธรรมที่วัดแล้ว ยังนิยมให้บุตรหลานบวชเรียนอีกด้วย วัดจึงเป็นที่พบปะสังสรรค์ของบุคคลทุกวัย และเป็นโรงเรียนสำหรับกุลบุตรกุลธิดาไปโดยปริยาย มีพระสงฆ์ผู้ศรัทธาในพระพุทธ-

ธรรมบวชอยู่นาน ๆ เป็นแบบอย่างพฤติกรรมและทำหน้าที่ครู ขนบธรรมเนียม ประเพณี และวัฒนธรรมไทยที่นำภาคภูมิใจได้จากพระพุทธธรรมนั่นเอง สถาบันที่สามที่มีความสำคัญและมีอิทธิพลต่อธรรมจริยาของบุคคลในวัยเรียน ได้แก่ สถาบันการศึกษา ซึ่งมีครูทำหน้าที่สั่งสอนทั้งวิชาการและธรรมจริยา เป็นตัวแบบพฤติกรรมตลอดจนฝึกและอบรมให้นักเรียนมีธรรมจริยาพอ ๆ กับพ่อแม่ ถ้าครูทำหน้าที่สมบูรณ์ บางทีอาจจะมากกว่าในกรณีที่พ่อแม่ต้องออกไปทำงานนอกบ้านทั้งคู่หรือมีฐานะทางเศรษฐกิจไม่ค้ำคั่ง มีเวลาเอาใจใส่บุตรหลานไม่เพียงพอ

## วิธีดำเนินการวิจัย

### กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้สำหรับการวิจัยครั้งนี้ ได้แก่

1. ครูที่สอนตั้งแต่ประถมศึกษาปีที่ 6 ลงมา จำนวน 593 คน
2. นักเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 4 ปีที่ 5 และปีที่ 6 ของโรงเรียนที่ตั้งอยู่ในเขตวัด จำนวน 1,388 คน และโรงเรียนที่ตั้งอยู่นอกเขตวัด จำนวน 1,268 คน รวมเป็นจำนวนทั้งสิ้น 2,654 คน ใน 15 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร เพชรบุรี กาญจนบุรี อ่างทอง สระบุรี ชลบุรี พระนครศรีอยุธยา สมุทร-สงคราม ราชบุรี นครปฐม สมุทรสาคร ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ นนทบุรีและปทุมธานี

ใช้วิธีสุ่มตัวอย่างธรรมดา โดยสุ่มอำเภอของแต่ละจังหวัด 1 อำเภอ ในแต่ละอำเภอที่สุ่มได้สุ่มโรงเรียนที่ตั้งอยู่ในเขตวัด 1 โรงเรียน และนอกเขตวัด 1 โรงเรียน จึงได้โรงเรียนในเขตวัด 15 โรงเรียน และโรงเรียนนอกเขตวัด 15 โรงเรียน โรงเรียนละ 3 ห้องเรียนคือ ประถมศึกษาปีที่ 4 ปีที่ 5 และปีที่ 6 รวมจำนวนโรงเรียนที่สุ่มได้ทั้งสองประเภท แบ่งตามอาณาเขตที่ตั้ง 30 โรงเรียน จำนวนห้องเรียน 90 ห้องเรียน

### เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เป็นแบบสอบวัดที่ผู้วิจัยแต่งขึ้นเพื่อใช้เก็บข้อมูลให้ได้ตรงตามจุดประสงค์ครั้งนี้ 8 แบบ ได้แก่

1. แบบสอบวัดศีลห้า
2. แบบสอบวัดสติ-สัมปชัญญะ
3. แบบสอบวัดหิริ-โอตตปปะ แบบที่ 1
4. แบบสอบวัดหิริ-โอตตปปะ แบบที่ 2
5. แบบสอบวัดทัศนคติของครูที่มีต่อเด็กนักเรียนที่ตนสอน
6. แบบสอบวัดทัศนคติของนักเรียนที่มีต่อครูที่สอนตน
7. แบบสอบวัดการอบรมสั่งสอนของครูโดยครูประเมินตัวเอง
8. แบบสอบวัดการรับรู้การสั่งสอนอบรมของครู

### การสร้างแบบสอบวัด

แบบสอบวัดแยกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ประเภทที่ใช้สอบวัดครูกับที่ใช้สอบวัดนักเรียน และเป็นแบบสอบวัดที่ใช้วัดเป็นรายบุคคล

## แบบสอบวัดที่นำไปสอบทดลองก่อนใช้จริง

### ก. แบบสอบวัดครู

แบบสอบวัดครูมี 2 ชุด ชุดที่ 1 มี 4 ตอน และชุดที่ 2 มี 2 ตอน มีรายการเขียนข้อปัญหาและสอบทดลองก่อนใช้จริงโดยสังเขป ดังนี้

ชุดที่ 1 ตอนที่ 1 สอบวัดการถือศีลห้า โดยเขียนภาพเกี่ยวกับการทำผิดศีลห้า 86 ภาพ แจกให้นิสิตที่มาใช้บริการห้องสมุดของสถาบันวิจัยพฤติกรรมศาสตร์กับนิสิตปริญญาตรีปีที่ 3 ที่เรียนวิชา “การศึกษาเด็ก” 1 ห้องเรียน คนละ 9 ภาพ ให้อธิบายภาพที่เห็นตามความพอใจ เลือกภาพที่นิสิตมองเห็นพ้องกับศีลละ 5 ภาพ ใช้คำอธิบายตามที่นิสิตเขียนให้เป็นคำตอบ ให้เลือกตอบภาพละ 5 คำเลือก บางประโยคที่มีข้อความไม่แจ่มชัด และฟุ่มเฟือย ได้ตัดแปลงให้ได้ความชัดเจนและกระชับรัด เหนือของตัวเลือกทั้ง 5 คือ ข้อความที่บ่งถึงความชื่นชมต่อการกระทำในภาพมากที่สุด ลดความชื่นชมลง ความเป็นกลาง ๆ ขัดแย้งกับภาพพอประมาณ และข้อความที่บ่งถึงการเป็นผู้ถือศีล ได้จัดลำดับศีลห้าทั้ง 5 ข้อ และคำตอบให้เลือกตอบบดกันในแต่ละข้อด้วยวิธีจับสลาก ศีลข้อที่ 1 ในแบบสอบวัด ได้แก่ ข้อ 4, 8, 13, 14, 22 ศีลข้อที่ 2 ได้แก่ ข้อ 1, 10, 12, 16, 17 ศีลข้อที่ 3 ได้แก่ ข้อ 3, 5, 9, 18, 20 ศีลข้อที่ 4 ได้แก่ ข้อ 2, 7, 11, 19, 24 ศีลข้อที่ 5 ได้แก่ ข้อ 6, 15, 21, 23, 25 รวมทั้งหมด 25 ข้อ

การที่ให้ผู้ตอบตอบสนองต่อภาพที่สร้างสถานการณ์การกระทำอย่างผิดศีลห้าโดยทั่ว ๆ ไป ก็เพื่อทราบความในใจของผู้ตอบว่ามีแนวโน้มจะมีพฤติกรรมเป็นอย่างไร และจิตใจดีเพียงไร เหตุที่สลับศีลและข้อเลือกตอบก็เพื่อมิให้ผู้ตอบจับแนวทางได้ว่าตนกำลังถูกวัดเกี่ยวกับศีลห้า

ชุดที่ 1 ตอนที่ 2 และตอนที่ 3 สอบวัด หิริและโอตตปปะ เนื่องจากหิริ และโอตตปปะมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากคือ เมื่อมีความละเอียดก็ต้องไม่กล้าทำชั่ว ไม่กล้าทำชั่วก็เพราะมีความละเอียด จึงออกข้อปัญหาธรรม ๆ กันไป แบบสอบวัด หิริ-โอตตปปะ มีสองแบบ แบบแรกคือ ชุดที่ 1 ตอนที่ 2 มีเนื้อหาเป็นสถานการณ์ที่แสดงให้เห็นความไม่ละเอียดที่จะทำชั่วจำนวน 12 ข้อ จะทราบว่าผู้ตอบมีหิริและโอตตปปะเพียงใดได้จากที่ผู้ตอบตอบบนมาตราส่วนประเมินค่า 6 หน่วย

ตัวอย่าง

ด้อมชอบหยิบของของเพื่อนไปใช้ก่อนได้รับอนุญาตเสมอ

ท่านเคยทำเช่นเดียวกับด้อมบ่อยหรือไม่

\_\_\_\_\_

บ่อยที่สุด      บ่อย ๆ      ก่อนข้างบ่อย      ไม่บ่อยนัก      ไม่ค่อยได้ทำ      ไม่เคยเลย

แบบที่ 2 คือชุดที่ 1 ตอนที่ 3 เป็นข้อความที่แสดงถึงการกระทำที่ถูกต้องในสถานการณ์ต่าง ๆ กัน จำนวน 12 ข้อ และเหตุผลประกอบการกระทำให้เลือกตอบ ข้อละ 2 เหตุผล

การสร้างเหตุผลยึดหลักธรรมคาของสามัญชนที่ทำทุกอย่างเพื่อตัวเองมากกว่าเพื่อคนอื่น ความเห็นแก่ตัวจะค่อยลดลงเมื่อได้รับการฝึกฝนอบรมจิต ถ้าจิตที่ได้รับการอบรมและฝึกฝนนั้นบรรลุถึงขั้นหนึ่ง จะบรรลุถึงการทำความดีเพื่อความดีโดยไม่หวังต่อการกล่าวหา หรือขัดขวางของผู้ใด

เหตุผลของการกระทำที่ดีมี 2 ประการ ตามคติพุทธ ได้แก่ ทำความดีเพื่อตนเอง กับทำความดีเพื่อความดีหรือความถูกต้อง

ตัวอย่าง

ดอกกรักจะพนมมือไหว้เมื่อผ่านพระพุทธรูป แม้ว่าพระพุทธรูปนั้นจะอยู่ในร้านค้า ท่านเคยทำเช่นเดียวกับดอกกรักบ่อยหรือไม่

\_\_\_\_\_ บ่อยที่สุด    \_\_\_\_\_ บ่อย ๆ    \_\_\_\_\_ ค่อนข้างบ่อย    \_\_\_\_\_ ไม่บ่อยนัก    \_\_\_\_\_ ไม่ค่อยได้ทำ    \_\_\_\_\_ ไม่เคยเลย

ท่านมีเหตุผลอย่างไรที่ทำเช่นนั้น

\_\_\_\_\_ เพื่อเตือนใจให้แน่วแน่ในคุณความดี

\_\_\_\_\_ เพื่อให้พุทธคุณคุ้มครอง

เหตุผลของการทำดีของแต่ละข้อจัดให้ละกันด้วยการจับสลาก

ชุดที่ 1 ตอนที่ 4 สอบวัดความมีสติและสัมปชัญญะ

เนื่องจากสติและสัมปชัญญะ มีการกระทำที่ใกล้เคียงกัน จึงออกข้อปัญหาพร้อมกลุ่มกัน มีเนื้อ-  
ความเกี่ยวกับการระลึกได้และรู้ตัวต่อการมีมารยาท คุณธรรม และข้อวัตรที่พึงปฏิบัติ จำนวน 21 ข้อ จะทราบ  
ความมีสติสัมปชัญญะ ได้จากคำตอบบนมาตราส่วนประเมินค่า 6 หน่วย

ตัวอย่าง

แพงสวดมนต์ก่อนนอน ท่านทำเหมือนแพงบ่อยหรือไม่

\_\_\_\_\_ บ่อยที่สุด    \_\_\_\_\_ บ่อย ๆ    \_\_\_\_\_ ค่อนข้างบ่อย    \_\_\_\_\_ ไม่บ่อยนัก    \_\_\_\_\_ ไม่ค่อยได้ทำ    \_\_\_\_\_ ไม่เคยเลย

ชุดที่ 2 ตอนที่ 1 สอบวัดทัศนคติที่ครูมีต่อศิษย์

ประกอบด้วยพฤติกรรมทางความคิด ทางวาจา ระเบียบ อุปนิสัยและการเรียนของนักเรียน ทั้ง  
ดีและไม่ดี เพื่อให้ผู้ตอบได้คิดใคร่ครวญและลงความเห็นบนมาตราส่วนประเมินค่า 6 หน่วย จำนวน 34 ข้อ

ตัวอย่าง

นักเรียนส่วนมากไม่ค่อยคิดอะไรเอง

\_\_\_\_\_ จริงที่สุด    \_\_\_\_\_ จริงทีเดียว    \_\_\_\_\_ ค่อนข้างจริง    \_\_\_\_\_ ค่อนข้างไม่จริง    \_\_\_\_\_ ไม่จริง    \_\_\_\_\_ ไม่จริงเลย

ชุดที่ 2 ตอนที่ 2 สอบวัดการอบรมสั่งสอนศิษย์ของครู

มีเนื้อหากเกี่ยวกับการใช้เหตุผล การประพฤติตนเป็นแบบอย่าง วิธีการอบรม การเป็นกันเองกับนัก-  
เรียนและอบรมให้มีคุณธรรม รวม 40 ข้อ และมีข้อสอบแบบปลายเปิด 1 ข้อ ให้แสดงวิธีอบรมเด็กให้มีคุณธรรม  
ได้ผล

ตัวอย่าง

ฉันไม่ยอมให้สิ่งผิดพลาดเล็ก ๆ น้อย ๆ ของนักเรียนผ่านไปโดยไม่ได้ดักเตือน

จริงที่สุด	จริงทีเดียว	ค่อนข้างจริง	ค่อนข้างไม่จริง	ไม่จริง	ไม่จริงเลย
------------	-------------	--------------	-----------------	---------	------------

### ข. แบบสอบวัดนักเรียน

ชุดที่ 1 ตอนที่ 1 ถึงตอนที่ 4

ใช้แบบเดียวกับที่สอบวัดครู ส่วนตอนที่ 1 ศิลห้เปลี่ยนแปลงตรงศีลข้อที่ 3 กามสุมิจนจารชที่ถ้าใช้แบบเดียวกับที่ใช้สอบวัดครูจะไม่เหมาะกันักเรียน จึงเปลี่ยนเป็นเนื้อหาที่เกี่ยวกับการทำนอกคอก ล่วงความรักความหวงเห่นของพ่อแม่ และครูบาอาจารย์แทน

ชุดที่ 2 ตอนที่ 1 สอบวัดทัศนคติของศิษย์ที่มีต่อครู

มีเนื้อหาเกี่ยวกับพฤติกรรมที่ครูปฏิบัติต่อศิษย์ ลักษณะการสอนของครู การทำคนเป็นแบบอย่าง ความเป็นมิตร ความรัก ความเมตตา จะทราบทัศนคติของนักเรียนที่มีต่อพฤติกรรมของครูจากคำตอบบนมาตรา ส่วนประเมินค่า 8 หน่วย จำนวน 34 ข้อ

ตัวอย่าง

ครูส่วนมากจู้จี้และบ่นเก่ง

จริงที่สุด	จริงทีเดียว	ค่อนข้างจริง	ค่อนข้างไม่จริง	ไม่จริง	ไม่จริงเลย
------------	-------------	--------------	-----------------	---------	------------

ชุดที่ 2 ตอนที่ 2 สอบวัดกรรรับรู้การสั่งสอนอบรมของครู

ในแบบสอบวัดมีเนื้อหาของการแสดงความรักและความห่างเหิน อันมีผลต่อบรรยากาศในห้องเรียน วิธีการอบรมสั่งสอน การเป็นแบบอย่าง และการใช้เหตุผลของครู จำนวน 26 ข้อ จะทราบการอบรมสั่งสอนของครูว่าเป็นอย่างไรจากการตอบของนักเรียนบนมาตราส่วนประเมินค่า 8 หน่วย

ตัวอย่าง

ครูส่วนมากหวังดีต่อฉันมาก

จริงที่สุด	จริงทีเดียว	ค่อนข้างจริง	ค่อนข้างไม่จริง	ไม่จริง	ไม่จริงเลย
------------	-------------	--------------	-----------------	---------	------------

### ค่าความเชื่อถือได้

ได้นำแบบสอบวัดไปสอบทดลองเพื่อปรับปรุงแก้ไขที่โรงเรียนสาขาน้ำทิพย์ ครูจำนวน 42 คน นักเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 3 จำนวน 192 คน สำหรับนักเรียนได้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกจำนวน 92 คน ให้ตอบแบบสอบวัดชุดที่ 1 กลุ่มที่ 2 จำนวน 100 คนตอบแบบสอบวัดชุดที่ 2 ได้นำแบบสอบวัดมาตรวจให้คะแนนและนำคะแนนไปหาค่าความเชื่อถือได้โดยใช้สูตรสัมประสิทธิ์แอลฟา (Alpha Coefficient) และหาค่าอำนาจจำแนกรายข้อโดยใช้ t-test ค่าความเชื่อถือได้มีดังนี้

## แบบสอบวัดของครู

ชื่อแบบสอบวัด	ค่าความเชื่อถือได้
ศีลห้า	0.78491
hiri-โอตตปปะ แบบ 1	0.95278
hiri-โอตตปปะ แบบ 2	0.81499
สติ-สัมปชัญญะ	0.96537
ทัศนคติของครูที่มีต่อศิษย์	0.98585
การสั่งสอนอบรมของครู	0.99043

## แบบสอบวัดของนักเรียน

ชื่อแบบสอบวัด	ค่าความเชื่อถือได้
ศีลห้า	0.78250
hiri-โอตตปปะ แบบ 1	0.86902
hiri-โอตตปปะ แบบ 2	0.63031
สติ-สัมปชัญญะ	0.86409
ทัศนคติของศิษย์ที่มีต่อครู	0.79974
การรับรู้เกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครู	0.73045

## การตรวจสอบความถูกต้องของธรรมะที่ประยุกต์มาใช้เป็นแบบสอบวัด

ได้นำแบบสอบวัดที่เกี่ยวกับธรรมะไปสอบทานกับท่านเจ้าคุณปริยัติสุธีร์ คณะ 24 วัดมหาธาตุ-ยุวราชรังสฤษฎิ์ ได้ความว่าเนื้อหาถูกต้อง แต่มีข้อความบางข้อความที่ต้องแก้ไขจึงได้แก้ไขตามคำแนะนำของท่านเจ้าคุณ

## การเลือกข้อสอบวัด

เนื่องจากความจำเป็นที่ต้องออกทดสอบจริงให้ทันเวลาก่อนนักเรียนสอบปลายปี จึงใช้วิธีจีตรอยคะแนนหาอำนาจจำแนกของแบบสอบวัดรายชื่อและเลือกข้อสอบโดยใช้การวินิจฉัยประกอบ ได้ดังนี้

## แบบสอบวัดของครู

ชื่อแบบสอบวัด	ข้อ	เป็นชุดที่	ตอนที่	คะแนนเต็ม	ข้อ
ศีลห้า	25 ข้อ	เป็นชุดที่ 1	ตอนที่ 1	คะแนนเต็ม	125
hiri-โอตตปปะ แบบ 1	10 ข้อ	”	” 2	”	60
hiri-โอตตปปะ แบบ 2	10 ข้อ	”	” 3	”	60
สติ-สัมปชัญญะ	10 ข้อ	”	” 4	”	60

ทัศนคติของครูที่มีต่อศิษย์	20 ข้อ	เป็นชุดที่ 2 ตอนที่ 1	คะแนนเต็ม	120
การสั่งสอนอบรมศิษย์	20 ข้อ	” ” 2	”	120
รวม	95 ข้อ		รวม	545

#### แบบสอบวัดนักเรียน

ชุดที่ 1 ตอนที่ 1 เหมือนของครู แตกต่างตรงสี่ข้อ 3 ส่วนอีก 3 ตอนเหมือนของครู	
ทัศนคติของศิษย์ที่มีต่อครู	20 ข้อ
การรับรู้การสั่งสอนอบรมของครู	20 ข้อ
รวม	95 ข้อ

#### การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้วิจัยออกเก็บรวบรวมข้อมูลด้วยตนเองโดยนำแบบสอบวัดไปให้นักเรียนทำ ตอนแรก ๆ ทำในห้องประชุม เพื่อเป็นตัวอย่างของการอธิบายตามคำสั่งชี้แจงและการปฏิบัติการให้แก่ผู้ช่วยเก็บข้อมูล เพื่อให้มีระเบียบในการปฏิบัติเป็นแบบเดียวกัน สำหรับครูให้ครูตอบแบบสอบวัดได้ตามสถานที่ที่ครูเห็นว่าสมควรและสะดวก รวมเวลาอธิบายการตอบแบบสอบวัด และการรวบรวมแบบสอบวัดเมื่อนักเรียนแต่ละชั้นทำเสร็จแล้ว ประมาณ 2 ชม.

#### การตรวจให้คะแนน

แบบสอบวัดสี่ห้า มีเกณฑ์การให้คะแนน ดังนี้

มีความชื่นชมตามภาพ	ได้คะแนน	1
ลดความชื่นชมลง	”	2
เป็นกลาง ๆ	”	3
ขัดแย้งกับภาพพอประมาณ	”	4
แสดงความมีศิลป์	”	5

แบบสอบวัดที่เป็นแบบมาตราส่วนประเมินค่า 6 หน่วย มีเกณฑ์การให้คะแนนเหมือนกัน คือถ้าตอบทางบวกได้คะแนนมาก แต่ถ้าตอบทางลบได้คะแนนน้อย ตัวอย่าง เช่น

ถ้าตอบ	ข้อ	ได้คะแนน	
	บ่อยที่สุด	1	
	บ่อย ๆ	2	
	ค่อนข้างบ่อย	3	
	ไม่บ่อยนัก	4	
	ไม่ค่อยได้ทำ	5	
	ไม่เคยเลย	6	

แบบสอบวัดหิริ-โอตตปปะ แบบ 2 มีเกณฑ์การให้คะแนนคือ ที่เป็นมาตราส่วนประเมินค่า 6 หน่วย เหมือนเกณฑ์เดิม แต่ส่วนที่เป็นเหตุผลนั้นถ้าตอบเหตุผลถูก ได้คะแนน 1 เหตุผลผิด ได้คะแนน 0 นำคะแนนที่ตอบถูกหรือผิดคูณคะแนนที่ได้จากการตอบบนมาตราส่วนประเมินค่า จึงจะเป็นคะแนนของแต่ละข้อ

### ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การเสนอผลการวิเคราะห์ข้อมูล แบ่งเป็น 5 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 วิเคราะห์ข้อมูลของครู ได้แก่ ธรรมจริยาในส่วนที่พระพุทธองค์ทรงบ่งว่าเป็นศีลธรรมที่ควรที่สุดพึงปฏิบัติเพื่อคุณแก่ตนและส่วนรวม 3 ประการ และพฤติกรรมที่เกี่ยวกับนักเรียน 2 ประการ จำแนกพิจารณาตามประเภทต่าง ๆ ของกลุ่มครู

ตอนที่ 2 วิเคราะห์ตามสมมติฐานที่ 1 ที่ 2 และที่ 3 ได้แก่ วิเคราะห์ธรรมจริยาของนักเรียนตามลักษณะธรรมจริยาของครู และการสั่งสอนอบรมของครูทั้งในด้านธรรมจริยา การสร้างความสัมพันธ์อย่างมีไมตรีจิตและทัศนคติที่ครูมีต่อศิษย์ จำแนกนักเรียนเป็นกลุ่มต่าง ๆ คือ กลุ่มรวม กลุ่มตามชั้นเรียน กลุ่มตามเพศ กลุ่มตามฐานะทางบ้าน และตามสถานที่ตั้งของโรงเรียน

ตอนที่ 3 วิเคราะห์ตามสมมติฐานที่ 4 ได้แก่ วิเคราะห์ธรรมจริยาของนักเรียนตามทัศนคติที่มีต่อครู การสั่งสอนอบรมศิษย์ และระดับธรรมจริยาของครู

ตอนที่ 4 วิเคราะห์ธรรมจริยาของนักเรียน จำแนกตามชั้นที่เรียน เพศ ฐานะทางบ้าน และประเภทโรงเรียน

ตอนที่ 5 วิเคราะห์วิธีที่ครูใช้ถ่ายทอดธรรมจริยาให้แก่ศิษย์

### การเสนอผลการวิเคราะห์ข้อมูล

#### ตอนที่ 1 วิเคราะห์ข้อมูลของครู

ธรรมจริยาระดับคฤหัสถ์ 3 ประการ ได้แก่ศีลห้า สติ-สัมปชัญญะ และหิริ-โอตตปปะ พฤติกรรมที่เกี่ยวกับนักเรียน 2 ประการ ได้แก่ ทัศนคติที่ครูมีต่อศิษย์และการสั่งสอนอบรมศิษย์ประเภทต่าง ๆ ของครู มี อายุ ระดับการศึกษา แบ่งเป็น 3 ประเภท คือ ปริญญา อนุปริญญา และต่ำกว่าอนุปริญญา วิชาที่สอน ได้แก่ สอนทุกวิชา สอนสังคมศึกษา สอนจริยศึกษา และสอนวิชาอื่น ๆ ประเภทของโรงเรียนจำแนกตามสถานที่ตั้งของโรงเรียน ได้แก่ โรงเรียนที่ตั้งอยู่นอกเขตวัด และโรงเรียนที่ตั้งอยู่ในเขตวัด

ผลการวิเคราะห์คะแนนศีลห้าของครู

คะแนนศีลห้าของครูแต่ละคนที่สอนชั้นประถมศึกษา จำนวน 593 คน ซึ่งเป็นครูโรงเรียนนอกเขตวัด 273 คน และโรงเรียนในเขตวัด 319 คน ได้จากการที่ครูตอบแบบสอบวัด ชุดที่ 1 ตอนที่ 1 ที่มี 25 ข้อ คะแนนเต็ม 125 คะแนน

ได้นำคะแนนศีลห้าของครู เฉพาะของครูที่สอนทุกวิชา และสอนสังคมศึกษา ซึ่งมีจำนวนเพียง 331 คน มาวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า มีความแปรปรวนตามตัวแปรอิสระทั้ง 3 พร้อมกัน คือ ระดับการศึกษา วิชาที่สอนและประเภทโรงเรียน มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

เมื่อตรวจสอบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยที่ระบุ ตามวิธีของนิวแมน คูสต์\* พบว่า ครูปริญญา สอนวิชาสังคมศึกษาในโรงเรียนในเขตวัดมีคะแนนเฉลี่ยมากที่สุด (106.11) รองลงมาเป็นคะแนนเฉลี่ยของครูอนุปริญญาสอนวิชาสังคมศึกษาในโรงเรียนในเขตวัด (104.58) ครูทั้งสองกลุ่มนี้มีคะแนนเฉลี่ยมากกว่า ครูปริญญาที่สอนทุกวิชาในโรงเรียนในเขตวัดที่มีคะแนนเฉลี่ยต่ำสุด (94.50) มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 ซึ่งหมายความว่าเชื่อได้ 95%

แยกกลุ่มครูออกเป็นกลุ่มอายุ 2 กลุ่ม เพื่อพิจารณาให้ละเอียดยิ่งขึ้น โดยใช้มัชฌิมที่ 50 เป็นเกณฑ์แบ่ง จึงได้เป็น กลุ่มอายุ 19-30 ปี และกลุ่มอายุ 31-60 ปี ปรากฏว่า คะแนนเฉลี่ยของครูทั้งสองกลุ่มอายุนี้ มิได้แปรปรวนตามระดับการศึกษา วิชาที่สอนและประเภทโรงเรียนแต่อย่างใด ซึ่งหมายความว่า มีคะแนนเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน

ผลการวิเคราะห์คะแนนสถิติ-สัมพัทธ์ของครู

ใช้แบบสอวัด ชุดที่ 1 ตอนที่ 4 สำหรับผู้ใหญ่เป็นเครื่องมือเก็บข้อมูล แบบสอวัด ชุดที่ 1 ตอนที่ 4 มี 10 ข้อ คะแนนเต็ม 60 จำแนกกลุ่มอายุออกเป็นสองกลุ่ม 19-30 ปี และ 31-60 ปี ปรากฏว่าในกลุ่มอายุหลัง คะแนนสถิติ-สัมพัทธ์ของครูแปรปรวนตามระดับการศึกษามีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 ซึ่งเมื่อตรวจสอบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ย พบว่า ครูกลุ่มอายุ 31-60 ปี นั้น ครูอนุปริญญา มีคะแนนสถิติ-สัมพัทธ์เฉลี่ย 45.12 มากกว่าครูปริญญาที่มีคะแนนเฉลี่ยเพียง 42.78 อย่างมีนัยสำคัญ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนน สถิติ-สัมพัทธ์ของครู โดยจำแนกวิชาที่สอนเป็นสอนทุกวิชา กับ สอนสังคมศึกษา ปรากฏว่า ครูมีคะแนนแปรปรวนตามระดับการศึกษา มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 และแปรปรวนตามระดับการศึกษากับประเภทโรงเรียนที่ .01 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3

จำแนกวิชาที่สอนออกเป็น สอนจริยศึกษา กับ สอนวิชาอื่น ๆ ปรากฏว่าคะแนน สถิติ-สัมพัทธ์ของครูแปรปรวนตามระดับการศึกษา มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4 ซึ่งเมื่อตรวจสอบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยในตารางที่ 3 และตารางที่ 4 ทั้งสองตารางแล้ว ปรากฏว่า ครูอนุปริญญา 317 คน เฉลี่ยคะแนนสถิติ-สัมพัทธ์แล้วได้ 44.47 ซึ่งมากกว่าคะแนนเฉลี่ยของครูระดับการศึกษาอื่น รองลงมาได้แก่คะแนนเฉลี่ยของครูต่ำกว่าอนุปริญญาจำนวน 145 คน (44.28) ทั้งสองกลุ่มนี้มี คะแนนเฉลี่ยสถิติ-สัมพัทธ์มากกว่าคะแนนเฉลี่ยของครูปริญญา (42.45) จำนวน 131 คนอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการวิเคราะห์คะแนนหิริ-โอดตบปะแบบ 1 ของครู

เครื่องมือที่ใช้เก็บข้อมูลเกี่ยวกับหิริ-โอดตบปะมี 2 แบบคือ แบบสอวัด ชุดที่ 1 ตอนที่ 1 เป็นการวัดหิริ-โอดตบปะแบบ 1 มีจำนวน 10 ข้อ เนื้อหาของแต่ละข้อเป็นไปในทางที่ตรงข้ามกับการเกลียดชังกลัวบาป คือ เป็นในทางลบ ถ้าตอบปฏิเสธทั้ง 10 ข้อ ก็จะได้คะแนนเต็ม 60 ซึ่งแสดงว่า มีหิริ-โอดตบปะมาก

ได้นำคะแนน หิริ-โอดตบปะ แบบ 1 ของครูมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ 3 ทาง จำแนกครูออกเป็น 2 กลุ่มอายุ พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอน และประเภทโรงเรียน ไม่พบความแปรปรวนของ

\* การตรวจสอบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยในรายงานวิจัยนี้ทั้งหมดใช้วิธีของนิวแมน คูสต์

คะแนน เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวโดยจำแนกอายุออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มอายุ 19-28, 29-35, และ 36-60 (กลุ่มละ 33%) พบว่ามีความแปรปรวนของคะแนนอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5 ซึ่งเมื่อตรวจสอบความแตกต่างแล้ว พบว่า ครูกลุ่มอายุ 36-60 ปี มีคะแนนทิริ-โอดตป์ปะ แบบ 1 เฉลี่ยมากที่สุด (54.05) และมากกว่าคะแนนเฉลี่ยน้อยที่สุด (52.65) ของครูกลุ่มอายุ 19-28 ปี อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

วิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนของครูกลุ่มรวม ปรากฏว่าคะแนนทิริ-โอดตป์ปะ แบบ 1 ของครูแปรปรวนตามระดับการศึกษากับประเภทโรงเรียน มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 แปรปรวนตามวิชาที่สอนกับประเภทโรงเรียนที่ระดับความเชื่อมั่น .10 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 6 ซึ่งเมื่อตรวจสอบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ย พบว่าครูดำกว่าอนุปริญญาที่สอนโรงเรียนในเขตวัดมีคะแนนทิริ-โอดตป์ปะ แบบ 1 เฉลี่ยมากที่สุด (54.32) มากกว่าคะแนนเฉลี่ยน้อยที่สุด (52.46) ของครูปริญญาที่สอนในโรงเรียนในเขตวัดเช่นเดียวกัน อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

ผลการวิเคราะห์คะแนน ทิริ-โอดตป์ปะ แบบ 2 ของครู

แบบสอบวัด ชุดที่ 1 ตอนที่ 3 เป็นเครื่องมือวัดทิริ-โอดตป์ปะ ที่มีเนื้อหาของแต่ละข้อในทางที่ปฏิบัติถูกต้อง และมีเหตุผลของการปฏิบัติให้เลือกตอบ 2 ตัวเลือกในแต่ละข้อด้วย แบบสอบวัดนี้ มีทั้งหมด 10 ข้อ ผู้ตอบรับตามเนื้อหาเหล่านี้ทุกข้อ พร้อมทั้งให้เหตุผลถูกต้องจะได้คะแนนเต็ม 60

ได้นำคะแนน ทิริ-โอดตป์ปะ แบบ 2 ของครูมาวิเคราะห์ความแปรปรวน แบบ 3 ทาง จำแนกกลุ่มอายุ 2 กลุ่ม ปรากฏว่ากลุ่มอายุ 19-30 ปี คะแนนแปรปรวนตามปฏิสัมพันธ์ของ 3 ตัวแปรอิสระ คือ ระดับการศึกษา วิชาที่สอน และประเภทโรงเรียน มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01 กลุ่มอายุ 31-60 ปี คะแนนแปรปรวนตามระดับการศึกษา และแปรปรวนตามปฏิสัมพันธ์ ของ 3 ตัวแปรอิสระ คือ ระดับการศึกษา ประเภทโรงเรียน วิชาที่สอนเช่นเดียวกัน มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 7 ซึ่งเมื่อตรวจสอบคะแนนเฉลี่ยปรากฏว่า ในกลุ่มอายุ 31-60 ปี นั้น ครูอนุปริญญามีคะแนนทิริ-โอดตป์ปะ แบบ 2 เฉลี่ยมากที่สุด (32.14) และมากกว่าคะแนนน้อยที่สุด (28.86) ของครูดำกว่าอนุปริญญา อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01 แต่ไม่พบความแปรปรวนของคะแนนที่แปรปรวนตามตัวแปรอิสระทั้ง 3 ในระดับความเชื่อมั่นที่ยอมรับได้ วิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนของครูกลุ่มเดิมตามแบบแผนเดิม ปรากฏว่าคะแนนทิริ-โอดตป์ปะ แบบ 2 ของครูแปรปรวนตามระดับการศึกษามีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01 ตามวิชาที่สอน และตามปฏิสัมพันธ์ของระดับการศึกษากับวิชาที่สอน มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 8 ซึ่งเมื่อตรวจสอบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยแล้วพบว่า ครูอนุปริญญามีคะแนนเฉลี่ยทิริ-โอดตป์ปะ แบบ 2 มากที่สุด และมากกว่าคะแนนต่ำสุดของครูดำกว่าอนุปริญญา ครูที่สอนสังคมศึกษามีคะแนนเฉลี่ยมากกว่าคะแนนเฉลี่ยของครูที่สอนทุกวิชาอยู่ในระดับที่เชื่อถือหรือยอมรับได้ แต่ไม่พบความแตกต่างของคะแนนที่แปรปรวนตามปฏิสัมพันธ์ของระดับการศึกษา กับประเภทโรงเรียน ณ ระดับความเชื่อมั่นที่ยอมรับได้

เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนของครูโดยจำแนกวิชาที่สอนเป็นจริยศึกษา และวิชาอื่น ๆ ปรากฏว่า คะแนนของครูกลุ่มรวม ครูสอนชั้น ป.4 และ ป.5 แปรปรวนตามระดับการศึกษาอย่างมีนัยสำคัญ

ครูกลุ่มรวมมีคะแนนแปรปรวนตามปฏิสัมพันธ์ของระดับการศึกษา วิชาที่สอน และประเภทโรงเรียน และครูที่สอนชั้น ป.5 มีคะแนนแปรปรวนตามปฏิสัมพันธ์ของวิชาที่สอนกับประเภทโรงเรียน อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01 และ .05 ตามลำดับ ส่วนครูที่สอนชั้น ป.6 คะแนนแปรปรวนตามประเภทโรงเรียนมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 9

หิริ-โอดตปปะแบบ 2 ของครู ตรวจสอบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยของกลุ่มต่าง ๆ ปรากฏว่า คะแนนที่แปรปรวนตามระดับการศึกษานั้น ครูปริญญามีคะแนนเฉลี่ยหิริ-โอดตปปะ แบบ 2 มากกว่าคะแนนเฉลี่ยน้อยที่สุดของครูต่ำกว่าอนุปริญญา อย่างมีนัยสำคัญ

ในกลุ่มครูที่สอนชั้น ป.4 และ ป.5 นั้น ครูอนุปริญญาและครูปริญญามีคะแนนเฉลี่ยมากกว่าครูต่ำกว่าอนุปริญญาอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนคะแนนที่แปรปรวนตามปฏิสัมพันธ์ของระดับการศึกษา วิชาที่สอน และประเภทโรงเรียน และคะแนนที่แปรปรวนตามปฏิสัมพันธ์ของวิชาที่สอนกับประเภทโรงเรียนในครูกลุ่มรวมและกลุ่มที่สอน ป.5 นั้น ไม่พบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ย ณ ระดับความเชื่อมั่นที่ยอมรับได้

ผลการวิเคราะห์ธรรมชาติของครูกลุ่มตัวอย่าง

ครูที่สอนในเขตวัด

ครูที่สอนในเขตวัด มีธรรมชาติแตกต่างกันโดยวุฒิและวิชาที่สอนดังนี้

ศีลห้า ครูปริญญาและครูอนุปริญญาที่สอนสังคมศึกษามีปฏิริยาต่อต้านการทำผิดศีลห้ามากกว่าครูปริญญาที่สอนทุกวิชา

หิริ-โอดตปปะ ครูต่ำกว่าอนุปริญญาละลายต่อการทำชั่ว-เกรงกลัวต่อการทำชั่วมากกว่าครูปริญญาครูโดยทั่วไป

ครูโดยทั่วไปมีธรรมชาติแตกต่างกันโดยวุฒิและอายุ ดังนี้

หิริ-โอดตปปะ ครูอนุปริญญาและครูปริญญามีเหตุผลประกอบการกระทำดีที่แสดงว่ามีหิริ-โอดตปปะ ถูกต้องมากกว่าครูต่ำกว่าอนุปริญญา และครูกลุ่มอายุ 36-80 ปี มีความละลายต่อการทำชั่ว-เกรงกลัวการทำชั่วมากกว่าครูกลุ่มอายุ 19-30 ปี

สติ-สัมปชัญญะ ครูอนุปริญญากับครูต่ำกว่าอนุปริญญาค่อนข้างจะมีคะแนนความระลึกรู้ตัวในการกระทำมากกว่าครูอนุปริญญา

ผลการวิเคราะห์คะแนนทัศนคติที่ครูมีต่อศิษย์

คะแนนทัศนคติที่ครูมีต่อศิษย์นั้น ได้จากคำตอบของครูในแบบสอบถามวัดชุดที่ 2 ตอนที่ 1 ซึ่งมีอยู่ 20 ข้อ คะแนนเต็ม 120 ที่ได้ใช้เป็นเครื่องมือเก็บข้อมูล นำคะแนนทัศนคติที่ครูมีต่อศิษย์ดังกล่าวมาวิเคราะห์ความแปรปรวนตามระดับการศึกษา วิชาที่สอน และประเภทโรงเรียน โดยจำแนกครูเป็นกลุ่มอายุ กลุ่มตามวิชาที่สอน ซึ่งในที่นี้มี 2 กลุ่มคือ กลุ่มครูที่สอนจริยศึกษาและกลุ่มครูที่สอนวิชาอื่น ๆ กับกลุ่มตามชั้นที่สอน (ป.4 ป.5 ป.6) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 10 ซึ่งสรุปได้ว่าครูในกลุ่มตัวอย่างนั้น ครูที่สอนวิชาอื่นมีทัศนคติที่ดีต่อศิษย์มากกว่าครูที่สอนจริยศึกษา และในบรรดาครูที่สอนจริยศึกษาด้วยกัน ครูอนุปริญญาและครูต่ำกว่าอนุปริญญามีทัศนคติที่ดีต่อศิษย์มากกว่าครูปริญญา ครูที่สอน ป.4 โรงเรียนนอกเขตวัดมีทัศนคติที่ดีต่อศิษย์มากกว่าครูที่สอนระดับชั้นเดียวกันในโรงเรียนในเขตวัด

### ผลการวิเคราะห์คะแนนการสั่งสอนอบรมศิษย์ของครู

ได้นำคะแนนการสั่งสอนอบรมศิษย์ของครูที่ได้จากคำตอบของครูในแบบสอบถามชุดที่ 2 ตอนที่ 2 ซึ่งมีจำนวน 20 ข้อ คะแนนเต็ม 120 คะแนน มาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้อายุเป็นเกณฑ์จำแนกครู ออกเป็น 2 กลุ่ม ดังแสดงไว้ในตารางที่ 11 ซึ่งสรุปได้ว่าการสั่งสอนอบรมศิษย์ของครูในกลุ่มตัวอย่างมีความแปรปรวนตามอายุ วิชาที่สอน และประเภทโรงเรียน ปรากฏว่าครูที่สอนวิชาอื่นกับครูที่สอนจริยศึกษาในโรงเรียนในเขตวัด สั่งสอนอบรมศิษย์ถูกวิธีมากกว่าครูที่สอนวิชาอื่นในโรงเรียนนอกเขตวัด ครูที่สอนนอกเขตวัดด้วยกัน ครูที่สอนจริยศึกษาที่สั่งสอนอบรมศิษย์ถูกวิธียิ่งกว่าครูที่สอนวิชาอื่น เช่นเดียวกับครูกลุ่มอายุ 19-31 ปี ส่วนทางด้านระดับการศึกษานั้น ครูอนุปริญญากับครูปริญญาที่สอนชั้น ป.5 สั่งสอนอบรมศิษย์ถูกวิธีที่ต่ำกว่าอนุปริญญาที่อยู่ในระดับชั้นเดียวกัน สำหรับครูที่สอน ป.6 ครูต่ำกว่าอนุปริญญาในเขตวัด สั่งสอนอบรมศิษย์ถูกวิธีที่ต่ำกว่าอนุปริญญาในโรงเรียนนอกเขตวัด

จึงพอจะเห็นได้ถึงความแตกต่างทางด้านธรรมจริยานั้น ครูต่ำกว่าอนุปริญญายึดกฎเกณฑ์ของศาสนา และมีความเกลียดความชั่ว กลัวการทำชั่วสูง โดยเฉพาะในโรงเรียนในเขตวัด ส่วนครูอนุปริญญาและครูปริญญามีเหตุผลในการทำดีเหมาะสมสูง และครูที่สอนวิชาเฉพาะอย่างมีปฏิริยาต่อต้านการทำผิดศีลห้ามากกว่าครูที่สอนคณะทุกวิชา ความแตกต่างทางด้านทัศนคติปรากฏว่า ครูที่สอนวิชาอื่นมีทัศนคติต่อศิษย์มากกว่าครูสอนจริยศึกษาซึ่งสั่งสอนอบรมศิษย์ถูกวิธีกว่าครูที่สอนวิชาอื่น และที่แตกต่างกันตามประเภทโรงเรียนก็คือครูที่สอนในโรงเรียนในเขตวัด สั่งสอนอบรมศิษย์ถูกวิธีที่ต่ำกว่าครูในโรงเรียนนอกเขตวัด

นอกจากนี้ครูที่สอนจริยศึกษาและครูที่สอนสังคมศึกษามีธรรมจริยาสูงกว่าและมีวิธีการสั่งสอนอบรมศิษย์ที่ถูกหลักยิ่งกว่า แต่มีทัศนคติต่อศิษย์ต่ำกว่าครูประเภทอื่น

### ตอนที่ 2 วิเคราะห์ข้อมูลตามสมมติฐานที่ 1 ที่ 2 และที่ 3

ธรรมจริยาของนักเรียนประถมปลาย ที่คาดว่าได้จากการสั่งสอนอบรมของครูเป็นธรรมจริยาที่จำเป็นสำหรับบุคคลทั่วไป 3 ประการ ได้ใช้แบบสอบถามที่มีเนื้อหาเหมือนแบบสอบถามที่ใช้วัดครู ซึ่งได้แก่แบบสอบถามชุดที่ 1 ที่มี 4 ตอน ตอนที่ 1 มี 25 ข้อ คะแนนเต็ม 125 วัดการถือศีลห้า ส่วนที่แตกต่างจากแบบสอบถามครูในตอนที่ 1 นี้ ได้แก่ศีลข้อ 3 โดยได้ดัดแปลงให้เหมาะกับวัยของเด็ก ตอนที่ 2 วัดหิริ-โอตตปละแบบ 1 คือ แบบที่สร้างสถานการณ์ให้เป็นการกระทำที่ไม่ถูกต้อง ส่อให้เห็นความไม่ละอายต่อการทำชั่วไม่เกรงกลัวต่อการทำชั่ว มี 10 ข้อ คะแนนเต็ม 60 ตอนที่ 3 วัดหิริ-โอตตปละแบบ 2 คือแบบที่สร้างสถานการณ์ให้เป็นการกระทำที่ถูกต้อง และมีเหตุผลประกอบการทำดี ให้เลือกตอบข้อละ 2 เหตุผล มีจำนวน 10 ข้อ คะแนนเต็ม 60 และตอนที่ 4 วัดการมีสติ-สัมปชัญญะ มี 10 ข้อ คะแนนเต็ม 60 ทั้ง 3 ตอนหลังใช้ข้อความจำนวนข้อ และสถานการณ์ รวมทั้งวิธีตอบ เหมือนแบบสอบถามครูทุกประการ สำหรับแบบสอบถามชุดที่ 2 ซึ่งมี 2 ตอนนั้น ตอนที่ 1 มีข้อความแสดงถึงทัศนคติที่นักเรียนมีต่อครูมี 20 ข้อ คะแนนเต็ม 120 คะแนน ตอนที่ 2 เป็นแบบสอบถาม การรับรู้เกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครู มี 20 ข้อ คะแนนเต็ม 120 คะแนนเช่นเดียวกัน ระดับธรรมจริยาทั้งของครูและนักเรียน ระดับทัศนคติที่ครูมีต่อศิษย์และระดับทัศนคติที่

ศิษย์มีต่อครู ระดับการสั่งสอนอบรมศิษย์ และระดับการรับรู้ในการสั่งสอนอบรมของครู แบ่งเป็น 2 ระดับ โดยถือคะแนนเฉลี่ยของจำนวนทั้งหมดของครูหรือนักเรียนเป็นเกณฑ์แบ่งระดับ จึงมีระดับเหนือคะแนนเฉลี่ย เป็นระดับสูง และระดับใต้คะแนนเฉลี่ยเป็นระดับต่ำ ฉะนั้นถ้ากล่าวว่าการมีทัศนคติต่อศิษย์ ก็หมายความว่า ต่ำกว่าคะแนนเฉลี่ย ซึ่งอาจหมายถึงทัศนคติที่ไม่สู้ดีต่อนักเรียน เมื่อเทียบกับครูอื่น ๆ ในกลุ่มตัวอย่าง เป็นต้น

1. วิเคราะห์ธรรมชาติของนักเรียนตามระดับทัศนคติของครูประจำชั้นที่มีต่อศิษย์ และระดับสั่งสอนอบรมศิษย์ เหตุที่ใช้วิเคราะห์ตามระดับทัศนคติของครูประจำชั้นก็เพราะครูประจำชั้นเป็นผู้ใกล้ชิดนักเรียน และมีหน้าที่ปกครองนักเรียนโดยเฉพาะ ซึ่งนับว่าเป็นบุคคลสำคัญต่อนักเรียนเหนือครูอื่น ๆ

2. ได้นำคะแนนเฉลี่ยของนักเรียนที่ได้จากการตอบแบบสอบถาม ชุดที่ 1 ตอนที่ 1 มาวิเคราะห์หาความแปรปรวนตาม 2 ตัวแปรอิสระซึ่งได้แก่ ระดับทัศนคติที่ครูประจำชั้นมีต่อศิษย์ และระดับสั่งสอนอบรมศิษย์ของครูประจำชั้น โดยจำแนกนักเรียนเป็นกลุ่มรวม กลุ่มตามชั้น (ป.4 ป.5 ป.6) กลุ่มตามเพศ (ชาย หญิง) กลุ่มตามฐานะทางบ้าน กลุ่มตามประเภทโรงเรียน (โรงเรียนนอกเขตวัด โรงเรียนในเขตวัด) ผลการวิเคราะห์ แสดงไว้ในตารางที่ 13

จากตารางที่ 13 คะแนนเฉลี่ยของนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัดแปรปรวนตามระดับสั่งสอนอบรมศิษย์ของครูประจำชั้น มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 เมื่อตรวจสอบคะแนนเฉลี่ยแล้ว ปรากฏว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับสั่งสอนอบรมต่ำ มีคะแนนเฉลี่ย 99.53 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 98.11 ของนักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับสั่งสอนอบรมสูงอย่างมีนัยสำคัญ

3. ได้นำคะแนนหิริ-โอตตปปะ แบบ 1 (ซึ่งเป็นแบบที่มีสถานการณ์ทางลบ) ของนักเรียนมาวิเคราะห์ความแปรปรวนตามระดับทัศนคติที่ครูประจำชั้นมีต่อศิษย์ และระดับสั่งสอนอบรมศิษย์ของครูประจำชั้น โดยจำแนกนักเรียนเป็นกลุ่มรวม กลุ่มตามชั้น กลุ่มตามเพศ กลุ่มตามฐานะทางบ้าน และกลุ่มตามประเภทโรงเรียน

สรุปผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของธรรมชาติของนักเรียนตามทัศนคติที่ครูประจำชั้นมีต่อศิษย์ และการสั่งสอนอบรมศิษย์ของครูประจำชั้นได้ดังนี้

#### ศีลห้า

นักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัดที่ครูประจำชั้นมีระดับสั่งสอนอบรมต่ำ มีปฏิกริยาต่อต้านการกระทำผิดศีลห้ามากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับสั่งสอนอบรมศิษย์สูง

#### หิริ - โอตตปปะ

เมื่อพิจารณาในด้านทัศนคติที่ครูมีต่อศิษย์ ผลการวิเคราะห์หิริ-โอตตปปะแบบ 1 พบว่านักเรียนที่มีมากได้แก่นักเรียนกลุ่มรวม นักเรียน ป.6 นักเรียนหญิง และนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัดที่ครูประจำชั้นมีระดับทัศนคติต่อศิษย์ต่ำ เมื่อพิจารณาในด้านสั่งสอนอบรมศิษย์ พบว่า นักเรียนที่มีหิริ-โอตตปปะมากได้แก่ นักเรียนกลุ่มรวม นักเรียนชาย นักเรียนฐานะทางบ้านต่ำที่ครูประจำชั้นสั่งสอนอบรมต่ำ เมื่อพิจารณาตามปฏิสัมพันธ์ของระดับทัศนคติและสั่งสอนอบรมของครูประจำชั้น นักเรียนที่มีหิริ-โอตตปปะมาก คือ นักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางที่ครูประจำชั้นมีระดับทัศนคติต่อศิษย์และสั่งสอนอบรมศิษย์ต่ำทั้งสองประการ

ส่วนการให้เหตุผลประกอบการทำผิดถูกต้อง (หิริ-โอตตปปะ แบบ 2) นั้น เมื่อพิจารณาในด้าน

ทัศนคติที่มีต่อศิษย์ของครูประจำชั้น นักเรียนที่ให้เหตุผลถูกต้องมาก ได้แก่ นักเรียนกลุ่มรวม นักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด นักเรียน ป.6 และนักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ เมื่อพิจารณาในด้านสิ่งสอนอบรมศิษย์ นักเรียนที่ให้เหตุผลถูกต้องมากคือ นักเรียน ป.4 ที่ครูสั่งสอนอบรมต่ำ และนักเรียน ป.6 ที่ครูสั่งสอนอบรมสูง นอกจากนี้ นักเรียนที่มีเหตุผลการทำดีถูกต้องได้มาก มีอีก 6 กลุ่มคือ นักเรียนกลุ่มรวม นักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด นักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ นักเรียนชายที่ครูประจำชั้นมีระดับทัศนคติต่อศิษย์กับสั่งสอนอบรมศิษย์ต่ำทั้งสองประการ นักเรียนในโรงเรียนในเขตวัดที่ครูประจำชั้นมีระดับทัศนคติกับสั่งสอนอบรมศิษย์สูงทั้งสองประการ และนักเรียน ป.4 ที่ครูมีลักษณะทั้งสองประการคือ ทั้งครูมีระดับทัศนคติต่อศิษย์กับสั่งสอนอบรมศิษย์ต่ำทั้งสองประการและสูงทั้งสองประการ

สถิติ - สัมพัทธ์

โดยทั่วไปนักเรียนที่มีสถิติ - สัมพัทธ์ มาก ได้แก่นักเรียนที่ครูประจำชั้นมีทัศนคติต่อศิษย์มีคะแนนสถิติ-สัมพัทธ์มากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับทัศนคติสูงต่อศิษย์ ส่วนนักเรียน ป.6 ที่ครูประจำชั้นสั่งสอนอบรมสูง มีคะแนนสถิติ-สัมพัทธ์มาก แต่นักเรียน ป.4 ที่ครูประจำชั้นมีระดับทัศนคติต่อศิษย์และสั่งสอนฝึกอบรมต่ำทั้งสองประการ มีสถิติ-สัมพัทธ์มาก

จึงพอจะสรุปได้ว่า นักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับทัศนคติต่อศิษย์ กับนักเรียนที่ครูประจำชั้นสั่งสอนอบรมต่ำ มีธรรมจริยาสูง และนักเรียนหลายกลุ่มที่ครูประจำชั้นมีระดับทัศนคติที่มีต่อศิษย์กับระดับการสั่งสอนอบรมศิษย์ไปในทำนองเดียวกันคือสูงทั้งสองประการและต่ำทั้งสองประการ มีธรรมจริยาสูง ยกเว้นนักเรียน ป.6 ที่ครูประจำชั้นสั่งสอนอบรมสูงมีเหตุผลประกอบการทำดีถูกต้องได้มากและมีสถิติ-สัมพัทธ์สูง ดังนั้นสมมติฐานที่ 1 ที่มีว่าครูที่มีทัศนคติต่อศิษย์ และได้สั่งสอนอบรมธรรมจริยาให้ศิษย์มาก ศิษย์จะมีธรรมจริยาสูงจึงไม่ตรงกับผลของการวิจัยในตอนี้

กลุ่มนักเรียนที่คะแนนสถิติ - สัมพัทธ์แปรปรวนตามระดับสถิติ - สัมพัทธ์ของครูประจำชั้น มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001 และ .05 ได้แก่นักเรียน ป.6 และ ป.5 เมื่อตรวจสอบคะแนนเฉลี่ยแล้วปรากฏว่านักเรียน ป.6 ที่ครูประจำชั้นมีระดับสถิติ - สัมพัทธ์สูงมีคะแนนสถิติ - สัมพัทธ์เฉลี่ย 42.01 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 39.49 ของนักเรียน ป.6 ที่ครูประจำชั้นมีระดับสถิติ - สัมพัทธ์ต่ำ ส่วนนักเรียน ป.5 มีผลตรงข้ามโดยที่นักเรียน ป.5 ที่ครูประจำชั้นมีระดับสถิติ - สัมพัทธ์ต่ำ มีคะแนนสถิติ - สัมพัทธ์เฉลี่ย 40.90 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 39.55 ของนักเรียน ป.5 ที่ครูประจำชั้นมีระดับสถิติ-สัมพัทธ์สูง ผลการวิเคราะห์ธรรมจริยาของครูประจำชั้นที่สัมพันธ์กับธรรมจริยาของนักเรียนแจกแจงตามกลุ่มต่าง ๆ ได้ดังนี้

กลุ่มรวม

ครูประจำชั้นมีระดับสถิติ - สัมพัทธ์สูง นักเรียนมีคะแนนเฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับสถิติ - สัมพัทธ์ต่ำ และครูประจำชั้นที่มีระดับสถิติ - โอดตปปะ แบบ 2 สูง นักเรียนมีคะแนนสถิติ - โอดตปปะ ทั้งแบบ 1 และแบบ 2 สูงกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับสถิติ - โอดตปปะแบบ 2 ต่ำ

นักเรียน ป.4

ครูประจำชั้นมีระดับสถิติ - โอดตปปะ แบบ 2 สูง นักเรียนมีคะแนนเฉลี่ยมากกว่านักเรียน

ที่ครูประจำชั้นมีระดับหิริ - โอตตปปะแบบ 2 ต่ำ และครูประจำชั้นที่มีระดับหิริ - โอตตปปะแบบ 1 กับระดับ  
 สิ่งสอนอบรมศิษย์ต่ำทั้งสองประการ นักเรียนมีคะแนนหิริ - โอตตปปะแบบ 1 ต่ำ แต่ระดับสิ่งสอนอบรม  
 ศิษย์สูง

นักเรียน ป.5

1. ครูประจำชั้นมีระดับศีลห้าต่ำ นักเรียนมีคะแนนศีลห้าเฉลี่ย หิริ-โอตตปปะแบบ 2 เฉลี่ย และสติ  
 - สัมพัชฌญะเฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับศีลห้าสูง

2. ครูประจำชั้นที่มีระดับศีลห้ากับระดับสิ่งสอนอบรมศิษย์ต่ำทั้งสองประการ กับครูประจำชั้นที่  
 มีสติ - สัมพัชฌญะต่ำ นักเรียนมีคะแนนสติ - สัมพัชฌญะเฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับศีลห้า  
 สูง แต่สิ่งสอนอบรมศิษย์ต่ำ และครูประจำชั้นที่มีสติ - สัมพัชฌญะสูง

3. ครูประจำชั้นที่มีระดับหิริ - โอตตปปะแบบ 1 สูง แต่ระดับสิ่งสอนอบรมศิษย์ต่ำ นักเรียน  
 มีคะแนนหิริ - โอตตปปะแบบ 1 เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับหิริ - โอตตปปะแบบ 1 กับ  
 ระดับสิ่งสอนอบรมศิษย์สูงทั้งสองประการ

นักเรียน ป.6

1. ครูประจำชั้นมีระดับศีลห้าสูง นักเรียนมีคะแนนหิริ - โอตตปปะแบบ 2 มากกว่านักเรียน  
 ที่ครูประจำชั้นมีระดับศีลห้าต่ำ

2. ครูประจำชั้นมีระดับศีลห้าต่ำ นักเรียนมีคะแนนศีลห้าเฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมี  
 ระดับศีลห้าสูง

3. ครูประจำชั้นมีหิริ - โอตตปปะแบบ 1 สูง นักเรียนมีคะแนนศีลห้าเฉลี่ยและหิริ - โอตตปปะ  
 แบบ 2 เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับหิริ - โอตตปปะแบบ 1 ต่ำ

4. ครูประจำชั้นมีระดับสติ - สัมพัชฌญะสูงนักเรียนมีคะแนนศีลห้าเฉลี่ย หิริ - โอตตปปะ  
 ทั้งแบบ 1 และแบบ 2 เฉลี่ย สติ - สัมพัชฌญะเฉลี่ย มากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีสติ - สัมพัชฌญะต่ำ  
 นักเรียนชาย

ครูประจำชั้นมีระดับหิริ - โอตตปปะแบบ 2 สูง นักเรียนมีคะแนนศีลห้าเฉลี่ยและหิริ - โอตตปปะ  
 แบบ 2 เฉลี่ย มากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับหิริ - โอตตปปะแบบ 2 ต่ำ และครูประจำชั้นที่มีระดับ  
 สติ - สัมพัชฌญะสูงหรือต่ำ กับระดับสิ่งสอนอบรมศิษย์ต่ำ นักเรียนมีคะแนนหิริ - โอตตปปะแบบ 1 มากกว่า  
 นักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับสติ - สัมพัชฌญะกับระดับสิ่งสอนอบรมสูงทั้งสองประการ

นักเรียนหญิง

ครูประจำชั้นมีระดับหิริ - โอตตปปะแบบ 2 สูง นักเรียนมีคะแนนหิริ - โอตตปปะแบบ 1  
 เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับหิริ - โอตตปปะแบบ 2 ต่ำ และครูประจำชั้น ที่มีระดับสติ  
 - สัมพัชฌญะสูง นักเรียนมีคะแนนศีลห้าเฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีสติ - สัมพัชฌญะต่ำ ส่วนครู  
 ประจำชั้นที่มีระดับสิ่งสอนอบรมและหิริ - โอตตปปะแบบ 2 สูงทั้งสองประการ นักเรียนมีหิริ - โอตตปปะ  
 แบบ 2 เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นสิ่งสอนอบรมต่ำ แต่ครูมีหิริ - โอตตปปะแบบ 2 สูง

นักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ

1. ครูประจำชั้นมีระดับสติ - สัมพัทธ์สูง นักเรียนมีคะแนนคิดทำเฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมี สติ - สัมพัทธ์ต่ำ
2. ครูประจำชั้นมีสติห้าต่ำ นักเรียนมีคะแนนสติ - สัมพัทธ์เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีสติห้าสูง
3. ครูประจำชั้นมีหิริ - โอดตปะแบบ 2 สูง นักเรียนมีคะแนนคิดทำเฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีหิริ - โอดตปะ แบบ 2 ต่ำ
4. ครูประจำชั้นมีระดับหิริ - โอดตปะแบบ 2 กับระดับสั่งสอนอบรมศิษย์สูงทั้งสองประการหรือต่ำทั้งสองประการ นักเรียนมีคะแนนหิริ - โอดตปะ แบบ 2 เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีระดับหิริ - โอดตปะ แบบ 2 ต่ำ แต่ครูสั่งสอนอบรมศิษย์สูง

นักเรียนฐานะทางบ้านปานกลาง

ครูประจำชั้นมีหิริ - โอดตปะ แบบ 2 สูง นักเรียนมีคะแนนคิดทำเฉลี่ย และหิริ - โอดตปะแบบ 1 เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีหิริ - โอดตปะ แบบ 2 ต่ำ

นักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด

1. ครูประจำชั้นมีสติห้าต่ำ นักเรียนมีคะแนนหิริ - โอดตปะทั้งแบบ 1 และแบบ 2 เฉลี่ย และสติ - สัมพัทธ์เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีสติห้าสูง
2. ครูประจำชั้นมีหิริ - โอดตปะ แบบ 1 สูง นักเรียนมีคะแนนคิดทำเฉลี่ยและหิริ - โอดตปะแบบ 2 เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีหิริ - โอดตปะ แบบ 1 ต่ำ
3. ครูประจำชั้นมีหิริ - โอดตปะแบบ 2 สูง นักเรียนมีคะแนนหิริ - โอดตปะทั้งแบบ 1 และแบบ 2 และสติ - สัมพัทธ์เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีหิริ - โอดตปะ แบบ 2 ต่ำ
4. ครูประจำชั้นมีสติ - สัมพัทธ์สูง นักเรียนมีคะแนนคิดทำเฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นมีสติ - สัมพัทธ์ต่ำ
5. ครูประจำชั้นมีระดับสั่งสอนอบรมศิษย์ต่ำ แต่ครูมีสติ - สัมพัทธ์สูง นักเรียนมีคะแนนหิริ - โอดตปะ แบบ 1 มากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นสั่งสอนอบรมศิษย์และ สติ - สัมพัทธ์สูงทั้งสองประการ และครูประจำชั้นที่สั่งสอนอบรมศิษย์ กับ สติ - สัมพัทธ์ต่ำทั้งสองประการนักเรียนมีคะแนนหิริ - โอดตปะ แบบ 2 เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นสั่งสอนอบรมสูงแต่ครูมีสติ - สัมพัทธ์ต่ำ
6. ครูประจำชั้นที่สั่งสอนอบรมศิษย์กับหิริ - โอดตปะแบบ 1 ต่ำทั้งสองประการหรือสูงทั้งสองประการ นักเรียนมีคะแนนสติ - สัมพัทธ์เฉลี่ยมากกว่านักเรียนที่ครูประจำชั้นสั่งสอนอบรมสูง แต่ครูมีหิริ - โอดตปะ แบบ 1 ต่ำ

นักเรียนในโรงเรียนในเขตวัด

ครูประจำชั้นมี หิริ - โอดตปะ แบบ 2 กับการสั่งสอนอบรมศิษย์ต่ำทั้งสองประการ ศิษย์มีคะแนนสติ - สัมพัทธ์เฉลี่ยมากกว่าศิษย์ของครูประจำชั้นที่มีหิริ - โอดตปะ แบบ 2 สูงแต่สั่งสอนอบรมศิษย์ต่ำ ส่วนครูประจำชั้นมีสติ - สัมพัทธ์ต่ำ แต่สั่งสอนอบรมศิษย์สูง ศิษย์มีคะแนนหิริ - โอดตปะ

แบบ 2 เฉลี่ยมากกว่าศิษย์ของครูประจำชั้นที่สถิติ - สัมพัทธ์อยู่ กับการสั่งสอนฝึกรวมศิษย์ สูงทั้งสองประการ

ผลการวิเคราะห์เกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมศิษย์ถูกวิธี

ผลการวิเคราะห์ที่เกี่ยวกับการที่ครูประจำชั้นสั่งสอนอบรมศิษย์ถูกวิธีและมีเหตุผลนั้น สามารถสรุปได้จากการพิจารณาผลของทุกกลุ่มที่ได้จำแนกเพื่อวิเคราะห์ได้ว่า ไม่ปรากฏความสัมพันธ์ของปริมาณที่ครูประจำชั้นสั่งสอนอบรมศิษย์กับธรรมชาติของศิษย์ ในกลุ่มศิษย์ที่มีฐานะทางบ้านปานกลางกับศิษย์ที่มีฐานะทางบ้านสูง ส่วนกลุ่มอื่น ๆ ที่เป็นศิษย์ของครูประจำชั้นผู้สั่งสอนอบรมต่ำ ปรากฏว่า ในกลุ่มรวมมีศีลห้าและหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 สูง ในกลุ่มนักเรียน ป.4 มีหิริ - โอตตปปะ ทั้งแบบ 1 และ แบบ 2 สูง ในกลุ่มนักเรียนป.5 มีหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 สูง ในกลุ่มนักเรียนชาย มีศีลห้า หิริ - โอตตปปะ แบบ 1 และสถิติ - สัมพัทธ์อยู่สูง ในกลุ่มนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัดมีศีลห้า หิริ - โอตตปปะ ทั้งแบบ 1 และแบบ 2 สูง ในกลุ่มนักเรียนในโรงเรียนในเขตวัด มีศีลห้าและหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 สูง แต่ในกลุ่มนักเรียนหญิงมีหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 สูงเพียงอย่างเดียว ส่วนศิษย์ที่ครูประจำชั้นสั่งสอนอบรมสูงนั้น ในกลุ่มนักเรียน ป.6 มีธรรมชาติสูงทุกด้าน ในกลุ่มนักเรียน ป.5 นักเรียนหญิงมีเฉพาะหิริ - โอตตปปะแบบ 2 และในกลุ่มนักเรียนในโรงเรียนในเขตวัดมีเฉพาะศีลห้าเท่านั้นที่มีปริมาณสูง

สรุปได้จากผลการวิเคราะห์ที่แจกแจงเป็นรายกลุ่มข้างบนนี้ได้ 5 ประการคือ

1. เมื่อพิจารณารวยอดจากผลในกลุ่มรวมจะเห็นได้ว่า ปริมาณของการมีเหตุผลของหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 ของครู สัมพันธ์ไปในทางบวก กับหิริ - โอตตปปะแบบ 1 ของศิษย์ ส่วนสถิติ - สัมพัทธ์อยู่ของครูก็สัมพันธ์ทางบวกกับศีลห้าของศิษย์

2. ความสัมพันธ์ของธรรมชาติของครูกับศิษย์ที่เป็นชนิดเดียวกันได้แก่ ศีลห้าของครูกับของศิษย์ ป.5 และ ป.6 สัมพันธ์กันในทางลบ หิริ - โอตตปปะ แบบ 2 ของครูสัมพันธ์ในทางบวกกับหิริ-โอตตปปะแบบ 2 ของนักเรียนชาย นักเรียนฐานะทางบ้านต่ำและนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัดในปริมาณที่มากพอ จึงเป็นผลให้ความสัมพันธ์ทางบวกกับของนักเรียนในโรงเรียนกลุ่มรวม สถิติ - สัมพัทธ์อยู่ของครูสัมพันธ์ในทางบวกกับสถิติ - สัมพัทธ์อยู่ของนักเรียน ป.6 แต่สัมพันธ์ทางลบกับสถิติ - สัมพัทธ์อยู่ของนักเรียน ป.5 ส่วน หิริ - โอตตปปะ แบบ 1 ของครูกับของนักเรียนไม่ปรากฏความสัมพันธ์

3. ความสัมพันธ์ของธรรมชาติของครูกับนักเรียนโดยทั่วไป ศีลห้าของครูสัมพันธ์ทางบวกกับหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 ของนักเรียน ป.6 แต่สัมพันธ์ทางลบกับธรรมชาติทุกชนิดของนักเรียน ป.5 เว้นหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 ธรรมชาติทุกชนิดของนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด เว้นศีลห้า ศีลห้าของนักเรียน ป.6 กับสถิติ - สัมพัทธ์อยู่ของนักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ หิริ - โอตตปปะ แบบ 1 หิริ - โอตตปปะ แบบ 2 และสถิติ - สัมพัทธ์อยู่ของครู สัมพันธ์ทางบวกกับธรรมชาติของนักเรียนโดยเฉพาะ หิริ - โอตตปปะแบบ 2 มีความสัมพันธ์ทางบวกกับธรรมชาติของนักเรียนแทบทุกกลุ่ม ดังนั้น หิริ - โอตตปปะ แบบ 1 ของครูมีความสัมพันธ์กับศีลห้าและ หิริ - โอตตปปะ แบบ 2 ของนักเรียน ป.6 และนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด และมีความสัมพันธ์กับ หิริ - โอตตปปะ แบบ 2 ของนักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ หิริ - โอตตปปะ แบบ 2

ของครูมีความสัมพันธ์ทางบวกกับ (ก) ศีลห้าของนักเรียน ป.4 และนักเรียนฐานะทางบ้านปานกลาง (ข) หิริ - โอตตัปปะ แบบ 1 ของนักเรียนหญิง นักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางและนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด (ค) หิริ - โอตตัปปะ แบบ 2 ของนักเรียนชาย นักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ และนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด (ง) สติ - สัมปชัญญะของนักเรียนในโรงเรียนทั้งนอกและในเขตวัด สติ - สัมปชัญญะของครูมีความสัมพันธ์ทางบวกกับธรรมจริยาทุกชนิดของนักเรียน ป.6 ศีลห้าของนักเรียนหญิง นักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ และนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด

4. ธรรมจริยาของครูกับธรรมจริยาของศิษย์มีความสัมพันธ์เด่นชัดในโรงเรียนนอกเขตวัดในชั้น ป.5 และ ป.6 ไม่ปรากฏความสัมพันธ์เลยในกลุ่มนักเรียนฐานะทางบ้านสูงและกลุ่มนักเรียนในโรงเรียนในเขตวัด

5. ทางด้านการสั่งสอนอบรมศิษย์ของครูนั้น ถ้าครูสั่งสอนอบรมศิษย์สูง ธรรมจริยาของศิษย์ต่ำ เกือบทุกกลุ่มมีเฉพาะนักเรียน ป.6 ที่ครูสั่งสอนอบรมสูงแล้วมีธรรมจริยาสูง ส่วนนักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางและฐานะทางบ้านสูง ไม่ปรากฏความสัมพันธ์ของการสั่งสอนอบรมศิษย์ของครูกับธรรมจริยาเลย

ผลการวิจัยนี้จึงมีแต่นักเรียน ป.6 เท่านั้นที่สนับสนุนสมมติฐานที่ 2 ที่ว่าครูปฏิบัติต่อศิษย์ด้วยความเมตตา มีเหตุผล รวมทั้งครูมีธรรมจริยาสูง ศิษย์จะมีธรรมจริยาสูงด้วย

### ตอนที่ 3 วิเคราะห์ข้อมูลตามสมมติฐานที่ 4

ตามธรรมดาเด็กย่อมเลียนแบบธรรมจริยาจากผู้ใหญ่ หรือจากผู้ที่ตนคุ้นเคยใกล้ชิด นักเรียนถึงแม้จะอยู่ในวัยเรียนก็มีโอกาสพบเห็นบุคคลประเภทต่าง ๆ นอกบ้านในขณะที่เดินทางไปหรือกลับจากโรงเรียน หรือที่ตนต้องเกี่ยวข้องตามหน้าที่ ดังนั้นนักเรียนจึงได้แบบอย่างพฤติกรรมจากบุคคลเหล่านี้ รวมทั้งจากเพื่อนเล่น และเพื่อนร่วมชั้น แต่อย่างไรก็ดีภายในบริเวณโรงเรียน ครูเป็นผู้ที่นักเรียนยอมรับนับถือโดยธรรมชาติ และหน้าที่ของครูเป็นจุดรวมความสนใจและความตั้งใจในการศึกษาเล่าเรียน โดยเฉพาะครูประจำชั้นที่สามารถให้คุณเมื่อนักเรียนทำดี และให้โทษเมื่อนักเรียนมีพฤติกรรมนอกสู้นอกทาง ธรรมจริยาของครูประจำชั้นจึงย่อมมีอิทธิพลต่อธรรมจริยาของนักเรียนเหนือผู้อื่นอย่างยิ่ง พฤติกรรมของครูก็จะเป็นตัวอย่างให้นักเรียนลอกเลียนและปฏิบัติตามโดยปริยาย แต่การที่นักเรียนจะยอมรับพฤติกรรมธรรมจริยา หรือนุคลิกภาพใดของครูมาเป็นของตน ย่อมเกิดจาก ความศรัทธา เลื่อมใส และสนทน่หิในความแปลกใหม่ของพฤติกรรมที่สะกดตา และความรู้สึกจนเกิดความประทับใจ ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นที่จะต้องหาความสัมพันธ์ของตัวแปรต่าง ๆ ที่คาดว่าจะเป็นตัวกระตุ้นหรือจูงใจให้นักเรียนยอมรับการถ่ายทอดธรรมจริยาจากครู จนปรากฏเป็นลักษณะทางจิตใจของนักเรียน ตัวแปรเหล่านี้ได้แก่ ทักษณคติที่ศิษย์มีต่อครู ธรรมจริยาของครูและปริมาณที่ครูสั่งสอนอบรมศิษย์

#### 3.1 ลักษณะบางประการของครูและของนักเรียนที่อาจส่งผลถึงธรรมจริยาของนักเรียน

ตามที่คาดหวังไว้ว่า ระดับทัศนคติที่ศิษย์มีต่อครูประจำชั้น ระดับธรรมจริยา และระดับสั่งสอน

อบรมศิษย์ของครูประจำชั้นอาจมีผลต่อธรรมจริยาของนักเรียน จึงได้วิเคราะห์ธรรมจริยาของนักเรียนตามลักษณะเหล่านี้ซึ่งสรุปได้ว่า นักเรียนที่มีคะแนนสติ - สัมปชัญญะสูงเป็นผู้ที่มีทัศนคติที่ดีมากต่อครู และครูรายงานว่าสั่งสอนอบรมศิษย์มาก โดยที่ครูก็มีธรรมจริยาสูงโดยเฉพาะ หิริ - โอตตปปะทั้งแบบ 1 และแบบ 2 ที่ปรากฏชัดในนักเรียนที่มาจากครอบครัวฐานะปานกลาง ส่วนนักเรียนที่มาจากครอบครัวฐานะสูง 2 ใน 3 ด้านของตัวแปรอิสระนี้แสดงว่าเป็นผู้ที่มีธรรมจริยาสูงด้วยนั้น เป็นนักเรียนจากโรงเรียนในเขตวัด และเป็นนักเรียนหญิง จึงพอจะมองภาพรวม ๆ ของผลการวิเคราะห์ในตอนนี้ได้ว่า นักเรียนที่มีธรรมจริยาสูง เป็นนักเรียนที่มีทัศนคติที่ดีมากต่อครูประจำชั้น และเป็นนักเรียนที่ครูสั่งสอนอบรมมากทั้งตัวครูเองก็มีธรรมจริยาดี โดยเฉพาะในด้านหิริ - โอตตปปะ ที่ปรากฏว่าเมื่อครูมีมากนักเรียนก็มีมาก จึงเห็นได้ว่าในบรรยากาศของการเล่าเรียนในโรงเรียน ทัศนคติของศิษย์ที่มีต่อครูมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อธรรมจริยาของนักเรียน การสั่งสอนอบรมของครูเป็นเรื่องรองลงมา ธรรมจริยาของครูเป็นส่วนประกอบที่จะช่วยเสริมส่งให้การสั่งสอนอบรมธรรมจริยาให้ศิษย์ได้ผลดี

ธรรมจริยาของนักเรียนกลุ่มรวมแปรปรวนตาม 3 ตัวแปรอิสระ คือ ทัศนคติของศิษย์ที่มีต่อครูประจำชั้น การสั่งสอนอบรมศิษย์ และธรรมจริยาของครู ไม่ว่าจะแยกประเภทพิจารณาตามชั้นเรียน เพศ ฐานะทางบ้านและที่ตั้งของโรงเรียน ได้แก่ หิริ - โอตตปปะ รองลงมาเป็นสติ - สัมปชัญญะ ส่วนศีลห้ามีความแปรปรวนน้อยที่สุด แต่อย่างไรก็ดีผลการวิเคราะห์ในตอนนี้ มีเป็นบางกลุ่มที่สนับสนุนสมมติฐานที่ว่า “ศิษย์ที่มีทัศนคติดีต่อครู และครูได้อบรมสั่งสอนศิษย์มาก และครูเองก็มีธรรมจริยาสูง ศิษย์เหล่านี้จะมีธรรมจริยาสูงด้วย” ที่เห็นเด่นชัดมาก ได้แก่ นักเรียนในโรงเรียนในเขตวัด รองลงมาเป็นนักเรียนฐานะปานกลาง นักเรียนชายและนักเรียนหญิง นอกจากนี้ก็มีเพียงประปราย

### 3.2 ความสัมพันธ์แห่งธรรมจริยาของนักเรียนกับลักษณะอื่น ๆ ของนักเรียน

ใช้รายงานของนักเรียนเกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครู เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการรับรู้ของนักเรียนในเรื่องนี้กับธรรมจริยาต่าง ๆ ของนักเรียน หลังจากนั้น จะนำทัศนคติของนักเรียนที่มีต่อครูมาศึกษาความสัมพันธ์กับตัวแปรทั้งหมดที่กล่าวไปแล้วด้วย

3.2.1 ได้นำคะแนนของนักเรียนที่แสดงว่านักเรียนรับรู้เกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครูกับคะแนนธรรมจริยาของนักเรียนมาหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ โดยจำแนกนักเรียนเป็นกลุ่ม ผลการวิเคราะห์ที่แสดงไว้ในตารางที่ 14

จากตารางจะเห็นได้ว่า ไม่ว่าจะจำแนกนักเรียนเป็นกลุ่มใด การรับรู้ของนักเรียนเกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครู กับสติ - สัมปชัญญะของนักเรียนมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001 นอกจากนี้การรับรู้ของนักเรียนเกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครู กับหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 ของนักเรียนฐานะทางบ้านสูง และการรับรู้ของนักเรียนเกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครูกับหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 ของนักเรียนในโรงเรียนในเขตวัดก็มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ

สรุปได้ว่า การที่ศิษย์รับรู้ว่าการสั่งสอนอบรมถูกหลัก เช่น ปฏิบัติตนเป็นแบบอย่างที่ดีเป็นต้น มีความสัมพันธ์กับธรรมจริยาของนักเรียนทุกกลุ่มโดยเฉพาะสติ - สัมปชัญญะ ของนักเรียนอย่างเด่นชัด มีเฉพาะนักเรียนฐานะสูงที่การรับรู้ว่าการสั่งสอนอบรมถูกหลักสัมพันธ์กับหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 และมีเฉพาะ

นักเรียนในโรงเรียนในเขตวัดที่สัมพันธ์กับหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 ของนักเรียนด้วย

3.2.2 ได้นำคะแนนทัศนคติของนักเรียนที่มีต่อครูประจำชั้นจากแบบสอบถามวัดชุดที่ 2 ตอนที่ 2 ของนักเรียน กับธรรมชาติของนักเรียนมาหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แสดงผลการวิเคราะห์ไว้ในตารางที่ 15

จากตารางจะเห็นว่า ทัศนคติของนักเรียนที่มีต่อครูประจำชั้นมีความสัมพันธ์สูง กับหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 ของนักเรียนทุกกลุ่ม (ยกเว้นนักเรียน ป.6) กับนักเรียนฐานะปานกลางและมีความสัมพันธ์สูงกับ สติ - สัมปชัญญะของกลุ่มรวม นักเรียน ป.6 นักเรียนหญิง นักเรียนฐานะทางบ้านสูง นักเรียนทั้งในและนอกเขตวัด ส่วนที่สัมพันธ์กับหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 ของนักเรียนมีสูงในนักเรียน 2 กลุ่มเท่านั้น คือ นักเรียน ป.6 กับนักเรียนฐานะทางบ้านสูง แต่ไม่สัมพันธ์กันเลยกับศีลห้าของนักเรียน

นอกจากนี้ยังพบว่า ทัศนคติของนักเรียนที่มีต่อครูประจำชั้นมีความสัมพันธ์สูง กับการรับรู้ของนักเรียนทุกกลุ่มเกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครู

#### ตอนที่ 4 วิเคราะห์ธรรมชาติของนักเรียน

ธรรมชาติของนักเรียนได้แก่ธรรมชาติของคฤหัสถ์ 3 ประการ คือ การถือศีลห้า การมีสติ - สัมปชัญญะ และการมีหิริ - โอตตปปะ นั่นเอง ในตอนนี้จะได้ศึกษาความสัมพันธ์ของธรรมชาติด้านต่าง ๆ ของนักเรียนกับธรรมชาติของนักเรียนที่แปรปรวนตามลักษณะภาวะในสังคมของนักเรียน

4.1 ได้นำธรรมชาติของนักเรียนทั้ง 3 ด้าน จากแบบสอบถาม 4 ตอน มาหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของแต่ละด้าน โดยจำแนกนักเรียนเป็นกลุ่ม ดังตารางที่ 16 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า หิริ - โอตตปปะ แบบ 2 อันเป็นด้านการให้เหตุประกอบการทำดีถูกต้องกับ สติ - สัมปชัญญะของนักเรียนมีความสัมพันธ์กันสูงมาก หิริ - โอตตปปะ แบบ 1 กับสติ - สัมปชัญญะของนักเรียนสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะในกลุ่มนักเรียน ป.5 และหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 กับศีลห้า มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มนักเรียนชาย นักเรียนฐานะปานกลางและนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด เท่านั้น

สรุปได้ว่า หิริ - โอตตปปะ แบบ 2 กับสติ - สัมปชัญญะของนักเรียนทุกประเภทที่ใช้เป็นกลุ่มตัวอย่าง มีความสัมพันธ์กันสูง รองลงมาเป็นหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 สัมพันธ์กับศีลห้า ของนักเรียนเพียง 3 กลุ่มเท่านั้น

4.2 ได้นำคะแนนศีลห้าของนักเรียนมาวิเคราะห์ความแปรปรวนตามเพศ ตามฐานะทางบ้าน และประเภทโรงเรียนโดยจำแนกนักเรียนเป็นกลุ่มดังตารางที่ 17 ซึ่งแสดงกลุ่มนักเรียนที่คะแนนศีลห้าแปรปรวนตามปฏิสัมพันธ์ของ 3 ตัวแปรอิสระซึ่งได้แก่เพศ ฐานะทางบ้านและประเภทโรงเรียน มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 ได้แก่นักเรียนชาย ป.4 และนักเรียน ป.6 เมื่อตรวจสอบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยแล้วปรากฏว่า นักเรียนหญิง ป.4 ที่ฐานะทางบ้านสูง และเรียนอยู่ในโรงเรียนในเขตวัดมีคะแนนศีลห้าเฉลี่ย 101.61 สูงที่สุด และมากกว่าคะแนนเฉลี่ย 93.20 ของนักเรียนชายที่ฐานะทางบ้านปานกลางและเรียนอยู่ในโรงเรียนในเขตวัดเช่นเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนนักเรียน ป.6 ไม่พบความแตกต่างของคะแนนศีลห้าเฉลี่ยระดับ

ความเชื่อมั่นที่ยอมรับได้ กลุ่มนักเรียนที่คะแนนสืลห้าแปรปรวนตามเพศ มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01 ได้แก่นักเรียนกลุ่มรวมกับนักเรียน ป.5 นักเรียนหญิงในกลุ่มรวมมีคะแนนสืลห้าเฉลี่ย 99.69 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 97.98 ของนักเรียนชายในกลุ่มรวม นักเรียนหญิง ป.5 ก็เช่นเดียวกันมีคะแนนสืลห้าเฉลี่ย 100.01 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 98.14 ของนักเรียนชาย ป.5

กลุ่มนักเรียนที่คะแนนสืลห้าแปรปรวนตามฐานะทางบ้าน มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001, .01. และ .05 ได้แก่นักเรียนกลุ่มรวม นักเรียน ป.6 และนักเรียน ป.5 นักเรียนกลุ่มรวมที่ฐานะทางบ้านปานกลางมีคะแนนสืลห้าเฉลี่ย 116.56 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 99.27 ของนักเรียนฐานะทางบ้านสูงและมากกว่าคะแนนเฉลี่ย 98.07 ของนักเรียนฐานะทางบ้านต่ำอย่างมีนัยสำคัญ นักเรียน ป.6 ที่ฐานะปานกลาง มีคะแนนสืลห้าเฉลี่ย 101.81 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 99.24 ของนักเรียนฐานะต่ำอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนนักเรียน ป.5 ไม่พบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ย ณ ระดับความเชื่อมั่นที่ยอมรับได้

4.3 ได้นำคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 ของนักเรียนมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยจำแนกนักเรียนเป็นกลุ่มรวมดังตารางที่ 18 ซึ่งแสดงว่ากลุ่มนักเรียนที่คะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 แปรปรวนตามเพศมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001 นักเรียนหญิงในกลุ่มรวมมีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 เฉลี่ย 49.42 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 46.01 ของนักเรียนชายในกลุ่มรวม นักเรียนหญิง ป.4 มีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 เฉลี่ย 47.75 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 44.04 ของนักเรียนชาย ป.4 นักเรียนหญิง ป.5 มีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 เฉลี่ย 49.63 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 46.44 ของนักเรียนชาย ป.5 และนักเรียน ป.6 นักเรียนหญิงมีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 เฉลี่ย 50.93 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 47.20 ของนักเรียนชาย

กลุ่มนักเรียนที่คะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 แปรปรวนตามฐานะทางบ้านมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001 ได้แก่นักเรียนกลุ่มรวม นักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางมีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 1 เฉลี่ย 56.66 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 47.96 ของนักเรียนฐานะทางบ้านสูง และคะแนนเฉลี่ย 47.20 ของนักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ

4.4 ได้นำคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 ของนักเรียนมาวิเคราะห์ความแปรปรวนตามตารางที่ 19

จากตารางที่ 19 กลุ่มนักเรียนที่คะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 แปรปรวนตามปฏิสัมพันธ์ของเพศกับประเภทโรงเรียนมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 ได้แก่นักเรียนกลุ่มรวม และนักเรียน ป.6 นักเรียนในกลุ่มรวมที่เรียนในโรงเรียนนอกเขตวัดและในเขตวัดมีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 เฉลี่ย (25.64 และ 25.17) มากกว่าคะแนนเฉลี่ย (23.32 และ 22.48) ของนักเรียนชายในกลุ่มรวมในโรงเรียนในเขตวัดและนอกเขตวัดอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนนักเรียน ป.6 ในโรงเรียนนอกเขตวัด นักเรียนหญิงมีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 เฉลี่ย 28.04 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 23.59 ของนักเรียนชายอย่างมีนัยสำคัญ

กลุ่มนักเรียนที่คะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 แปรปรวนตามปฏิสัมพันธ์ของเพศกับฐานะทางบ้านอย่างมีนัยสำคัญ ได้แก่นักเรียน ป.6 ที่ระดับความเชื่อมั่น .01 นักเรียนกลุ่มรวมที่ระดับความเชื่อมั่น .05 นักเรียนหญิง ป.6 ที่ฐานะทางบ้านสูง มีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 เฉลี่ย 29.64 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 23.54 ของนักเรียนชายที่ฐานะทางบ้านต่ำและคะแนนเฉลี่ย 22.26 ของนักเรียนที่ฐานะทางบ้านสูง

ส่วนนักเรียนหญิงในกลุ่มรวมที่ฐานะทางบ้านสูง มีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 เฉลี่ย 28.02 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 22.85 ของนักเรียนชายในกลุ่มรวมที่ฐานะทางบ้านสูงและคะแนนเฉลี่ย 22.59 ของนักเรียนชายในกลุ่มรวมที่ฐานะทางบ้านต่ำ

กลุ่มนักเรียนที่คะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 แปรปรวนตามเพศ มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001 ได้แก่ นักเรียนกลุ่มรวม นักเรียน ป.4 นักเรียน ป.5 และนักเรียน ป.6 นักเรียนหญิงในกลุ่มรวมมีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 เฉลี่ย 25.40 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 22.91 ของนักเรียนชายในกลุ่มรวม นักเรียนหญิง ป.4 มีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 เฉลี่ย 24.00 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 20.45 ของนักเรียนชาย ป.4 นักเรียนหญิง ป.5 มีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 เฉลี่ย 25.98 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 23.17 ของนักเรียนชาย ป.5 และนักเรียน ป.6 ก็เช่นเดียวกันที่นักเรียนหญิงมีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 เฉลี่ย 26.25 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 24.16 ของนักเรียนชาย

กลุ่มนักเรียนที่คะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 แปรปรวนตามฐานะทางบ้านมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001 และ .05 ได้แก่นักเรียนกลุ่มรวมและนักเรียน ป.5 นักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางในกลุ่มรวมมีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 เฉลี่ย 29.19 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 23.52 ของนักเรียนฐานะทางบ้านต่ำในกลุ่มรวม ส่วนนักเรียน ป.5 นั้น นักเรียนฐานะทางบ้านสูงมีคะแนนหิริ - โอตตปปะ แบบ 2 เฉลี่ย 26.10 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 23.86 ของนักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ

4.5 ได้นำคะแนนสติ - สัมปชัญญะของนักเรียนมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยจำแนกนักเรียนเป็นกลุ่มรวมและกลุ่มตามชั้นดังตารางที่ 20 ซึ่งแสดงคะแนนสติ - สัมปชัญญะของนักเรียนกลุ่มรวม นักเรียน ป.4 นักเรียน ป.5 และนักเรียน ป.6 แปรปรวนตามเพศอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001 นักเรียนหญิงในกลุ่มรวมมีคะแนนสติ - สัมปชัญญะเฉลี่ย 41.05 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 38.71 ของนักเรียนชายในกลุ่มรวม นักเรียนหญิง ป.4 มีคะแนนสติ - สัมปชัญญะเฉลี่ย 39.73 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 37.71 ของนักเรียนชาย ป.4 นักเรียนหญิง ป.5 มีคะแนนสติ - สัมปชัญญะเฉลี่ย 41.73 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 39.02 ของนักเรียนชาย ป.5 นักเรียน ป.6 ก็เช่นเดียวกันที่นักเรียนหญิงมีคะแนนสติ - สัมปชัญญะเฉลี่ย 41.76 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 39.47 ของนักเรียนชาย กลุ่มนักเรียนที่คะแนนสติ - สัมปชัญญะแปรปรวนตามฐานะทางบ้านมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001 และ .01 ได้แก่ นักเรียนกลุ่มรวมและนักเรียน ป.5 คะแนนสติ - สัมปชัญญะเฉลี่ย 41.36 ของนักเรียนฐานะทางบ้านสูง และ 40.74 ของนักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางในกลุ่มรวมมากกว่าคะแนนเฉลี่ย 39.33 ของนักเรียนฐานะทางบ้านต่ำในกลุ่มรวม ส่วนนักเรียน ป.5 นั้น คะแนนสติ - สัมปชัญญะเฉลี่ย 41.48 ของนักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางมากกว่าคะแนนเฉลี่ย 39.59 ของนักเรียนฐานะทางบ้านต่ำอย่างมีนัยสำคัญ

กลุ่มนักเรียนที่คะแนนสติ - สัมปชัญญะ แปรปรวนตามประเภทโรงเรียนมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 ได้แก่นักเรียน ป.5 และนักเรียน ป.6 นักเรียน ป.5 ในโรงเรียนในเขตวัดมีคะแนนสติ - สัมปชัญญะเฉลี่ย 40.82 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 39.64 ของนักเรียนนอกเขตวัด นักเรียน ป.6 ก็เช่นเดียวกันที่นักเรียนในโรงเรียนในเขตวัดมีคะแนนสติ - สัมปชัญญะเฉลี่ย 40.06 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 30.26 ของนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัดอย่างมีนัยสำคัญ

4.6 ได้นำคะแนนการรับรู้เกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครู จากแบบสอบถามชุดที่ 2 ตอนที่ 1 ของนักเรียนมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยจำแนกนักเรียนเป็นกลุ่มรวมและกลุ่มตามชั้นดังตารางที่ 21 ซึ่งแสดงว่า กลุ่มนักเรียนที่คะแนนรับรู้การสั่งสอนอบรมของครูแปรปรวนตามปฏิสัมพันธ์ของฐานะทางบ้าน กับประเภทโรงเรียนมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05 ได้แก่ นักเรียน ป.6 ไม่พบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ย ณ ระดับความเชื่อมั่นที่ยอมรับได้ กลุ่มนักเรียนที่คะแนนรับรู้การสั่งสอนอบรมของครูแปรปรวนตามเพศ มีนัยสำคัญได้แก่ นักเรียนกลุ่มรวมและนักเรียน ป.4 ที่ระดับความเชื่อมั่น .001 นักเรียน ป.5 ที่ระดับความเชื่อมั่น .05 นักเรียนหญิงในกลุ่มรวม มีคะแนนรับรู้การสั่งสอนอบรมของครูเฉลี่ย 89.58 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 86.86 ของนักเรียนชายในกลุ่มรวม นักเรียนหญิง ป.4 มีคะแนนรับรู้การสั่งสอนอบรมของครูเฉลี่ย 87.58 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 84.73 ของนักเรียนชาย ป.4 นักเรียน ป.5 ก็เช่นเดียวกันที่นักเรียนหญิงมีคะแนนรับรู้การสั่งสอนอบรมของครูเฉลี่ย 90.30 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 88.48 ของนักเรียนชายอย่างมีนัยสำคัญ

กลุ่มนักเรียนที่คะแนนรับรู้การสั่งสอนอบรมของครูแปรปรวนตามประเภทโรงเรียนมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001 และ .05 ได้แก่นักเรียน ป.5 และนักเรียนกลุ่มรวม นักเรียนในโรงเรียนในเขตวัด ในกลุ่มรวม ได้คะแนนรับรู้เกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครูเฉลี่ย 89.03 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 88.08 ของนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัดในกลุ่มรวม นักเรียน ป.5 ก็เช่นเดียวกันที่นักเรียนในโรงเรียนในเขตวัดได้คะแนนรับรู้การสั่งสอนอบรมของครูเฉลี่ย 90.87 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 87.91 ของนักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัดอย่างมีนัยสำคัญ

4.7 ได้นำคะแนนทัศนคติของนักเรียนที่มีต่อครูในแบบสอบถามชุดที่ 2 ตอนที่ 2 ของนักเรียนมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยจำแนกนักเรียนเป็นกลุ่มรวมและกลุ่มตามชั้นดังตารางที่ 22 ซึ่งแสดงว่ากลุ่มนักเรียนที่คะแนนทัศนคติที่มีต่อครู แปรปรวนตามเพศอย่างมีนัยสำคัญ ได้แก่ นักเรียนกลุ่มรวม นักเรียน ป.4 และ ป.5 ที่ระดับความเชื่อมั่น .001 นักเรียน ป.6 ที่ระดับความเชื่อมั่น .05 นักเรียนหญิงในกลุ่มรวมได้คะแนนทัศนคติที่มีต่อครูเฉลี่ย 90.93 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 87.83 ของนักเรียนชายในกลุ่มรวม นักเรียนหญิง ป.4 ได้คะแนนทัศนคติที่มีต่อครูเฉลี่ย 89.52 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 85.79 ของนักเรียนชาย ป.4 นักเรียนหญิง ป.5 ได้คะแนนทัศนคติที่มีต่อครู 91.50 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 88.25 ของนักเรียนชาย ป.5 นักเรียน ป.6 ก็เป็นไปในทำนองเดียวกันที่นักเรียนหญิงได้คะแนนทัศนคติที่มีต่อครูเฉลี่ย 91.82 มากกว่าคะแนนเฉลี่ย 89.50 ของนักเรียนชาย ความแตกต่างทั้งหมดมีนัยสำคัญ

สรุปกลุ่มต่าง ๆ ที่จำแนกวิเคราะห์ได้ดังนี้

กลุ่มรวม เมื่อพิจารณาตามเพศ จะเห็นได้ว่านักเรียนหญิงมีธรรมจริยาทั้งสี่ด้านมากกว่านักเรียนชาย รับรู้การสั่งสอนอบรมที่ถูกหลักซึ่งรวมทั้งรับรู้การเป็นแบบอย่างของครูและมีทัศนคติที่ดีต่อครูมากกว่าด้วย เมื่อพิจารณาตามฐานะทางบ้านและเพศพร้อมกันพบว่านักเรียนหญิงฐานะทางบ้านสูง มีการทำดีและมีเหตุผลประกอบการทำดีเหมาะสมมากกว่าทั้งนักเรียนชายฐานะทางบ้านสูง และนักเรียนชายฐานะทางบ้านต่ำ ส่วนนักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางมีธรรมจริยามากกว่านักเรียนฐานะทางบ้านสูงและนักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ เว้นแต่สติ - สัมปชัญญะที่นักเรียนฐานะทางบ้านปานกลาง และนักเรียนฐานะทางบ้านสูงไม่แตกต่างกันซ้ำยังมีมากกว่านักเรียนฐานะทางบ้านต่ำร่วมกันอีกด้วย

นักเรียน ป.4 นักเรียนหญิงมีความละเอียดลออต่อการทำข้าว – เกรงกลัวต่อการทำข้าว และเป็นผู้ทำดี และมีเหตุผลประกอบการทำดีเหมาะสมมากกว่านักเรียนชาย รับรู้การสั่งสอนอบรมที่ถูกหลักซึ่งรวมทั้งรับรู้การเป็นแบบอย่างของครู และมีทัศนคติที่ดีต่อครูมากกว่าด้วย เมื่อพิจารณาตามฐานะทางบ้านจะเห็นได้ว่ามีปรากฏเฉพาะประเภทโรงเรียนในเขตวัดที่นักเรียนหญิงฐานะทางบ้านสูงมีปฏิภริยาต่อต้านการทำผิดศีลห้ามากกว่านักเรียนหญิงฐานะทางบ้านปานกลาง

นักเรียน ป.5 นักเรียนหญิงมีธรรมจริยามากกว่านักเรียนชาย รับรู้การสั่งสอนอบรมที่ถูกหลักซึ่งรวมทั้งรับรู้การเป็นแบบอย่างของครูและมีทัศนคติที่ดีต่อครูมากกว่าด้วย เมื่อพิจารณาตามฐานะทางบ้านจะเห็นได้ว่านักเรียนฐานะทางบ้านสูงมีการทำดีและมีเหตุผลประกอบการทำดีเหมาะสมมากกว่านักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ เมื่อพิจารณาตามประเภทโรงเรียนเห็นได้ว่านักเรียนในโรงเรียนในเขตวัดมีสติ – สัมปชัญญะและรับรู้การสั่งสอนอบรมที่ถูกหลักซึ่งรวมทั้งรับรู้การเป็นแบบอย่างของครู มากกว่านักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด

นักเรียน ป.6 นักเรียนหญิงมีธรรมจริยามากกว่านักเรียนชาย และมีทัศนคติที่ดีต่อครูมากกว่านักเรียนชายด้วย นักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางมีปฏิภริยาต่อต้านการทำผิดศีลห้ามากกว่านักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ กับนักเรียนหญิงฐานะทางบ้านสูงมีการทำดีและมีเหตุผลประกอบการทำดีมากกว่านักเรียนชายฐานะทางบ้านต่ำ นักเรียนในโรงเรียนในเขตวัดมีสติ – สัมปชัญญะมากกว่านักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด เฉพาะในโรงเรียนนอกเขตวัด นักเรียนหญิงมีการทำดีและมีเหตุผลประกอบการทำดีเหมาะสมกว่านักเรียนชาย

สรุปได้ว่า เมื่อพิจารณาตามเพศ ปรากฏว่านักเรียนหญิงมีธรรมจริยาสูงกว่านักเรียนชาย เว้นนักเรียนหญิง ป.4 ที่ปรากฏเฉพาะหิริ – โอตตปปะ และทำความดีเพื่อความดีเท่านั้นที่นักเรียนหญิงมีมากกว่านักเรียนชาย ทั้งนักเรียนหญิงยังรับรู้การสั่งสอนอบรมของครู และมีทัศนคติที่ดีต่อครูมากกว่าด้วย ยกเว้นนักเรียน ป.6 ที่ไม่ปรากฏว่านักเรียนหญิงและนักเรียนชายแตกต่างกันทางการรับรู้ที่เกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครู เมื่อพิจารณาตามฐานะทางบ้าน ปรากฏว่า นักเรียนฐานะทางบ้านสูงใช้เหตุผลประกอบการทำดีถูกต้องมากกว่านักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ นักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางมีธรรมจริยามากกว่านักเรียนอีก 2 ฐานะ เมื่อพิจารณาตามประเภทโรงเรียน ปรากฏว่าคะแนนสติ – สัมปชัญญะของนักเรียนในโรงเรียนในเขตวัดมากกว่านักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด และรับรู้การสั่งสอนอบรมอย่างถูกหลักของครูมากกว่าด้วย

## สรุป และข้อเสนอแนะ

### ธรรมจริยาของครูที่แตกต่างกันโดยสิ่งแวดล้อมของโรงเรียน

ธรรมจริยาของครูที่สอนในโรงเรียนนอกเขตวัด กับธรรมจริยาของครูที่สอนในโรงเรียนในเขตวัด ไม่แตกต่างกัน ปรากฏความแตกต่างเฉพาะครูที่สอนในโรงเรียนในเขตวัดด้วยกันในด้านศีลห้า กับหิริ – โอตตปปะ ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่ครูในโรงเรียนในเขตวัดอาจมีความสนใจที่จะสนทนาธรรมกับพระภิกษุที่เป็นพระอรหันตสัมมาสัมพุทธเจ้า หรือสนใจในการทำบุญการกุศลแตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างของอายุและประสบการณ์ในชีวิต

### ธรรมเนียมของครูที่มีระดับการศึกษาต่างกัน

ธรรมเนียมของครูที่แตกต่างกันด้วยระดับการศึกษาได้จากครูที่สอนในโรงเรียนในเขตวัดกับครูกลุ่มตัวอย่างไม่จำกัดสิ่งแวดล้อมของโรงเรียน สำหรับครูที่สอนในโรงเรียนในเขตวัด ปรากฏว่า ครูระดับต่ำกว่าอนุปริญาไม่มีหิริ - โอตตปปะ สูงกว่าครูปริญา ครูอนุปริญยากับครูต่ำกว่าอนุปริญาไม่มีสติ - สัมปชัญญะสูงกว่าครูปริญา ครูอนุปริญาและครูปริญญาามีเหตุผลประกอบการทำดีถูกต้องมากกว่าครูต่ำกว่าอนุปริญา ครูต่ำกว่าอนุปริญาไม่มีหิริ - โอตตปปะ สูง และมีสติ - สัมปชัญญะกำกับอยู่ด้วย ส่วนครูอนุปริญาและครูปริญญาามีเหตุผลสูง ซึ่งเป็นเรื่องธรรมดา เพราะการมีเหตุผลเป็นเรื่องของการเรียนรู้ ครูอนุปริญาและครูปริญญาข่มได้เรียนรู้การใช้เหตุผลในเชิงวิชาการจากสถานศึกษามานานกว่าครูต่ำกว่าอนุปริญา

### ธรรมเนียมของครูที่แตกต่างกันด้วยวิชาที่สอน

โรงเรียนในเขตวัด ครูปริญาและครูอนุปริญาที่สอนสังคมศึกษา มีศัลห่าสูงกว่าครูปริญาที่สอนทุกวิชา และครูในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่จำกัดระดับการศึกษาก็ปรากฏว่า ครูที่สอนสังคมศึกษามีเหตุผลประกอบการทำดีสูงกว่าครูที่สอนทุกวิชา แสดงให้เห็นว่าครูที่สอนวิชาเฉพาะอย่างมีธรรมเนียมสูงกว่าครูที่สอนทุกวิชาละกัน

### ลักษณะของครูที่มีธรรมจริยาสูง

ครูที่มีธรรมจริยาสูงข่มเป็นผู้ที่รัก ห่วงใย และมุ่งหวังให้การศึกษาแก่นักเรียนทั้งวิชาการและทางศีลธรรมจริยา และจะมีพฤติกรรมเป็นแบบอย่างแก่ศิษย์ ครูระดับต่ำกว่าอนุปริญาในโรงเรียนในเขตวัดเป็นผู้ที่มีธรรมจริยาสูง ด้วยเหตุที่มีธรรมชั้นสูง คือ หิริ - โอตตปปะและยังมีสติ - สัมปชัญญะควบคู่ไปด้วย คนที่มีสติ - สัมปชัญญะ นับได้ว่าเป็นผู้มีเครื่องกันไม่ให้ทำชั่ว ครูต่ำกว่าอนุปริญาจึงมีทั้งเครื่องยับยั้งและเครื่องกันมิให้ทำชั่ว สำหรับครูในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดที่จำแนกอายุเป็น 3 กลุ่ม ปรากฏว่าครูระดับอายุ 36 - 60 ปี ซึ่งเป็นครูในโรงเรียนนอกเขตวัด 87 คน และครูในโรงเรียนในเขตวัด 132 คน มีหิริ - โอตตปปะสูงกว่าครูระดับอายุ 19 - 28 ปี ซึ่งเป็นครูในโรงเรียนนอกเขตวัดและในโรงเรียนในเขตวัดจำนวนเท่ากันคือแห่งละ 97 คน

### ลักษณะของครูที่สั่งสอน ฝึกฝนอบรมธรรมจริยาที่เหมาะสม

เมื่อพิจารณาตามวิชาที่สอน ประเภทโรงเรียน และอายุแล้ว ปรากฏว่าครูสอนจริยศึกษาอายุ 19 - 31 ปี ในโรงเรียนนอกเขตวัด สั่งสอน ฝึกฝนอบรมให้ศิษย์มีธรรมจริยาได้ถูกหลักสูงกว่าครูที่สอนวิชาอื่น ครูในกลุ่มตัวอย่างที่สอนจริยศึกษาในโรงเรียนนอกเขตวัดกับครูที่สอนไม่ว่าจะเป็นจริยศึกษาหรือวิชาอื่นในโรงเรียนในเขตวัด สั่งสอน ฝึกฝนอบรมให้ศิษย์มีธรรมจริยาถูกหลักกว่าครูที่สอนวิชาอื่นในโรงเรียนนอกเขตวัด เมื่อจำแนกตามชั้นที่สอนปรากฏว่า ชั้น ป.4 ครูปริญาที่สอนวิชาอื่นสั่งสอน ฝึกฝนอบรมศิษย์ได้ถูกหลักกว่าครูอนุปริญาที่สอนวิชาอื่น ชั้น ป.5 ครูอนุปริญาและครูปริญาสั่งสอน ฝึกฝนอบรมให้ศิษย์มีธรรมจริยาได้ถูกหลักกว่าครูต่ำกว่าอนุปริญา และในชั้น ป.6 ครูต่ำกว่าอนุปริญาที่สอนในโรงเรียนในเขต

วัดสั่งสอน ฝึกฝนอบรมศิษย์ได้ถูกหลักกว่าครูต่ำกว่าอนุปริญาในโรงเรียนนอกเขตวัด และไม่ว่าครูวุฒิใด จะสั่งสอน ฝึกฝนอบรมธรรมจริยาได้เหมาะสมก็ตาม ควรเป็นผู้ที่สามารถปฏิบัติตนให้เป็นตัวอย่างแก่ศิษย์ได้ การสั่งสอน ฝึกฝนอบรมถูกวิธีอย่างเดียวยังไม่เป็นเรื่องสำคัญนัก เพราะมีผลการวิเคราะห์ปรากฏในบางกลุ่ม ว่าครูที่สั่งสอน ฝึกฝนอบรมศิษย์สูง ธรรมจริยาของศิษย์ต่ำแต่มีผลการวิจัยปรากฏด้วยว่าครูที่มีธรรมจริยาทางด้านhiri - โอตตปะสูง นักเรียนมีhiri - โอตตปะสูง ส่วนศีลห้า และสติ - สัมปชัญญะของครูสูงก็สัมพันธ์กับศีลห้าและ สติ - สัมปชัญญะของนักเรียนบางกลุ่มในทางบวก

### ลักษณะของนักเรียนที่มีธรรมจริยาสูง

1. นักเรียนที่มีธรรมจริยาดีเป็นนักเรียนที่มีทัศนคติที่ดีมากต่อครู เป็นนักเรียนที่ครูสั่งสอนอบรมมาก และรับรู้การสั่งสอน ฝึกฝนอบรมของครูตลอดจนยอมรับว่าครูเป็นตัวอย่างที่ดี ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความนิยม รัก พอใจและศรัทธาในตัวครู เป็นพลังส่งให้นักเรียนสนใจที่จะทำตามครูและอยู่ในโอวาทของครู ตรงกับหลักการที่ว่า สิ่งสำคัญในการศึกษาเล่าเรียนอยู่ที่ครูและศิษย์จะต้องมีความรัก ความพอใจต่อกันเป็นพื้นฐานเสียก่อน สภาพการณ์ในห้องเรียนจึงจะแจ่มใสน่าเรียนและดำเนินไปตามครรลองที่ดี

2. โรงเรียนในเขตวัด การสั่งสอน ฝึกฝนอบรมสูงของครูที่มีศีลห้าสูง และการที่รับรู้การสั่งสอน ฝึกฝนอบรมของครูสัมพันธ์กับสติ - สัมปชัญญะ และhiri - โอตตปะของนักเรียน ส่วนนักเรียนนอกเขตวัด การรับรู้การสั่งสอน ฝึกฝนอบรมของครู สัมพันธ์กับศีลห้าของนักเรียน

3. นักเรียนหญิงมีธรรมจริยาสูงกว่านักเรียนชายยกเว้นนักเรียนหญิง ป.4 ที่ปรากฏเฉพาะhiri - โอตตปะ และการทำดีเพื่อความดีเท่านั้นที่สูงกว่านักเรียนชาย โดยทั่วไปนักเรียนหญิงรับรู้เกี่ยวกับการสั่งสอน ฝึกฝนอบรมของครูและมีทัศนคติต่อครูสูงกว่านักเรียนชาย ยกเว้น นักเรียน ป.6 ที่นักเรียนหญิงมีทัศนคติต่อครูสูงกว่านักเรียนชายเท่านั้น ส่วนการรับรู้เกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครูไม่แตกต่างกัน การที่ไม่แตกต่างกันอาจเป็นเพราะนักเรียนทั้งสองเพศ คู่กับการสั่งสอนอบรมของครูในโรงเรียนมากพอ และอายุจนเข้าเขตวัยรุ่น มีแนวโน้มที่จะเข้าใจการรับรู้ประสบการณ์ต่าง ๆ ไปตามกลุ่ม

4. นักเรียนฐานะทางบ้านสูงใช้เหตุผลประกอบการทำดีถูกต้องมากกว่านักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ ซึ่งเป็นหลักธรรมค่านักเรียนฐานะสูงมีโอกาสได้รับความรอบรู้และเหตุผลต่าง ๆ จากสื่อมวลชน ตลอดจนมีการสนทนาโต้ตอบกันในครอบครัวมากกว่านักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ ปรากฏด้วยว่านักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางมีธรรมจริยาสูงกว่านักเรียนอีก 2 ฐานะ คือฐานะสูงกับฐานะต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากนักเรียนฐานะทางบ้านปานกลางได้รับการอบรมเลี้ยงดูทางบ้านโดยใกล้ชิดมากกว่านักเรียนฐานะทางบ้านสูงที่พ่อแม่อาจมีธุรกิจเกี่ยวกับการงานในสังคม ปล่อยให้บุตรอยู่กับคนรับใช้หรือบุคคลอื่นที่ไม่เป็นตัวแทนที่ดี หรือให้อยู่กับสื่อมวลชน เช่น วิทยุ โทรทัศน์ ฯลฯ ที่ไม่ได้เล็งการส่งเสริมธรรมจริยาให้ ส่วนนักเรียนฐานะทางบ้านต่ำ ความจำเป็นในการหาเลี้ยงชีพทำให้พ่อแม่ห่างเหินบุตร ปล่อยให้บุตรอยู่กันตามลำพัง ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้บุตรคบหาเพื่อนฝูงที่ไม่ดีนัก ทั้งพ่อแม่บางคนก็ลงโทษบุตรเกินกว่าเหตุด้วยอารมณ์อันเนื่องมาจากความเหน็ดเหนื่อยจากการทำมาหากิน การที่นักเรียนฐานะต่ำมีธรรมจริยาดีออกว่านักเรียนฐานะปานกลางมาแต่เดิม การมารับการสั่งสอนอบรมเพียงในชั้นประถมเท่านั้น คงยังยกระดับธรรมจริยาได้ไม่มากนัก ส่วนนักเรียนในโรงเรียนในเขต

วัดมีแนวโน้มว่าจะมีธรรมจริยาดีกว่านักเรียนในโรงเรียนนอกเขตวัด เป็นต้นว่า มีสติ - สัมปชัญญะดีกว่าและ  
รับรู้เกี่ยวกับการสั่งสอนอบรมของครูมากกว่า

### ลักษณะของครูที่ศิษย์มีธรรมจริยาสูง

ครูที่มีธรรมจริยาและสั่งสอนอบรมศิษย์ต่ำทั้งสองประการ กับครูที่มีธรรมจริยาและสั่งสอนอบรม  
ศิษย์สูงทั้งสองประการ ซึ่งศิษย์ของครูทั้งสองลักษณะนี้มีธรรมจริยาสูงกว่าศิษย์ของครูที่มีปริมาณของธรรม-  
จริยากับการสั่งสอนอบรมไม่เท่ากัน เช่นมีธรรมจริยาสูง แต่สั่งสอนอบรมต่ำ หรือมีธรรมจริยาต่ำแต่สั่งสอน  
อบรมสูง อันเป็นสิ่งแน่นอนที่ครูมีธรรมจริยาสูงก็จะดีแต่ตัวครูเองไม่ได้ถ่ายทอดให้ศิษย์ ศิษย์ก็คงไม่ได้รับ  
ประโยชน์จากธรรมจริยาของครูเต็มเม็ดเต็มหน่วย ส่วนครูที่มีธรรมจริยาต่ำ แต่สั่งสอนอบรมศิษย์สูง ซึ่งมีผล  
ให้ศิษย์มีสุขภาพจิตเสื่อม มีแต่ความขัดแย้งสับสนในใจเพราะเคยรับรู้จากที่อื่นอย่างหนึ่ง แล้วกลับมาได้รับ  
การชี้แนะอีกอย่างหนึ่ง ศิษย์ของครูลักษณะนี้จึงอาจมีพฤติกรรมเบี่ยงเบน นักเรียนฐานะสูงมีธรรมจริยาสูงได้  
เมื่อครูมีปริมาณของการสั่งสอนอบรมศิษย์และธรรมจริยาไม่เท่ากัน โดยที่อย่างหนึ่งต่ำในขณะที่อย่างหนึ่งสูง  
ศิษย์ที่มีทัศนคติต่อครูมีธรรมจริยาสูง อาจกล่าวได้อีกแง่หนึ่งว่า ลักษณะของครูที่สามารถจะฝึกฝนอบรมให้  
ศิษย์มีธรรมจริยาสูงได้ผล เป็นครูที่สามารถทำให้ศิษย์รัก วางใจและศรัทธา

ควรมีการปรับปรุงวิธีการให้การศึกษาศึกษาและฝึกฝนอบรมธรรมจริยาในโรงเรียนให้นักเรียนปฏิบัติ  
จริง ๆ และปฏิบัติได้โดยมีครูเป็นแบบอย่างของการปฏิบัติตามธรรมเบื้องต้นของฆราวาสตามแนวทางพุทธ-  
โอวาท ให้มีความบกพร่องน้อยที่สุดให้สมกับความเป็นปุถุชนบุคคลของศิษย์ เพราะโดยหลักการแล้วครูควรรู้จัก  
มารยาทของการเป็นพุทธศาสนิกชน การยำให้ครูระลึกถึงคุณสมบัติเหล่านี้จึงควรเป็นหน้าที่ของผู้มีส่วนเกี่ยว-  
ข้องในการบริหารครูประจำการ เช่น จัดการอบรมหรืออื่น ๆ ที่ได้ผล นอกจากนั้นการคัดเลือกบุคคลเข้าทำหน้าที่  
ครูควรจะได้คำนึงถึงธรรมจริยาของครูก่อนเป็นอย่างแรก มิใช่ว่าใครจะเข้ามาเป็นครูก็ได้ ในแง่ นักเรียนก็มีได้  
สักแต่เรียนหรือปฏิบัติตามครูอย่างเครื่องจักร แต่เป็นบุคคลที่มีชีวิตจิตใจ รู้จักนึกคิด รู้จักรับรู้ และมีความรู้สึก  
ต่อการกระทำของครู ซึ่งในตำราจิตวิทยา ปงไว้ว่าเด็กมีพัฒนาการทางอารมณ์ สังคมและสติปัญญามาตั้งแต่ยังเป็นทารก ซึ่งหมายความว่า การสั่งสอนฝึกฝนและอบรมธรรมจริยาให้ศิษย์ ครูควรคำนึงถึงความรู้สึกตอบ-  
สนองของศิษย์ด้วย อาจกล่าวตามหลักวิชาว่าคำนึงถึงว่าศิษย์มีทัศนคติดีต่อตัวครูหรือไม่ เมื่อศิษย์เกิดความ  
ประมาทพลาดพลั้ง ครูควรจะทราบบว่าควรแก้ไขและรักษาศิษย์ให้เป็นผู้คงอยู่ในธรรมจริยาที่ศิษย์มีมาแต่เดิม  
จากการขัดเกลาที่บ้าน หรือควรเสริมให้มีขึ้นถ้าหากศิษย์ขาดจากทางบ้านคือหาสาเหตุของความผิดพลาดนั้น ๆ  
ให้รู้ด้วยว่า เนื่องจากความเจ็บไข้ อันเป็นการบกพร่องทางกาย หรือเพราะเนื่องมาจากสำนึกผิด ๆ มาแต่เดิม  
หรือว่าศิษย์มีความเป็นอยู่แร้นแค้นขาดแคลนอาหารอันเป็นเครื่องเสริมกำลังความคิดและพลังใจ ทำบรรยากาศ  
ในห้องเรียนให้รู้สึกอบอุ่นเป็นกันเองคล้ายครูเป็นสมาชิกอาวุโสในครอบครัว

ผลการวิจัยที่ว่าครูจริยศึกษามีทัศนคติต่อศิษย์ด้อยกว่าครูที่สอนวิชาอื่น ก็คงจะเป็นแนวทางให้  
การพัฒนาทัศนคติที่ครูจริยศึกษามีต่อศิษย์ที่สูงขึ้น จะโดยวิธีอบรมหรือวิธีใดก็ได้ให้ครูจริยศึกษามีพรหมวิหาร  
4 คือมีเมตตา กรุณา ไม่เห็นว่าพฤติกรรมผิดพลาดของศิษย์เป็นเรื่องร้ายแรง มีมุทิตาจิตยกย่องศิษย์ที่ทำความดี  
และมีอุเบกขา วางเฉยเมื่อยังแก้ไขไม่ได้แต่ก็ไม่ละความพยายามที่จะแก้ไขศิษย์ให้เป็นคนดี

ตารางที่ 1. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนคิดห้าของครู พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอน (สอนทุกวิชาและสอนสังคมศึกษา) และประเภทโรงเรียน

แหล่งความแปรปรวน	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	239.36	1.94
วิชาที่สอน (ข)	1	281.94	2.28
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	3.74	< 1
ก + ข	2	33.69	< 1
ก + ค	2	94.95	< 1
ข + ค	1	242.40	1.96
ก + ข + ค	2	377.18	3.05*
ภายในกลุ่ม	331	123.50	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

ตารางที่ 2. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนสติ-สัมปชัญญะของครูจำแนกกลุ่มอายุ พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอนและประเภทโรงเรียน

แหล่งความแปรปรวน	19-30 ปี			31-60 ปี		
	df	MS	F	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	80.52	1.81	2	120.52	2.97*
วิชาที่สอน (ข)	1	19.28	< 1	1	17.87	< 1
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	2.48	< 1	1	24.08	< 1
ก + ข	2	32.18	< 1	2	9.20	< 1
ก + ค	2	42.20	< 1	2	28.40	< 1
ข + ค	1	88.77	1.99	1	28.24	< 1
ก + ข + ค	2	26.25	< 1	2	84.94	2.09
ภายในกลุ่ม	278	44.49		291	40.57	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

ตารางที่ 3. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนสถิติ-สัมปัญญะของครู พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอน (จำแนกเป็นสอนทุกวิชา กับ สอนสังคมศึกษา) และประเภทโรงเรียน

แหล่งความแปรปรวน	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	130.85	3.13**
วิชาที่สอน (ข)	1	40.25	<1
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	14.27	<1
ก + ข	2	17.84	<1
ก + ค	2	98.50	2.35*
ข + ค	1	42.50	1.02
ก + ข + ค	2	18.46	<1
ภายในกลุ่ม	331	41.84	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

ตารางที่ 4. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนสถิติ-สัมปัญญะของครู พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอน (สอนจริยศึกษา กับ สอนวิชาอื่นๆ) และประเภทโรงเรียน

แหล่งความแปรปรวน	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	200.58	4.73*
วิชาที่สอน (ข)	1	4.56	<1
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	6.79	<1
ก + ข	2	9.40	<1
ก + ค	2	41.46	<1
ข + ค	1	106.93	2.52
ก + ข + ค	2	64.07	1.51
ภายในกลุ่ม	581	42.34	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01

ตารางที่ 5. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนทริ - โอตต์ปะ แบบ 1 ของครู พิจารณาตามกลุ่มอายุ

แหล่งความแปรปรวน	df	MS	F
ระหว่างกลุ่ม	2	109.37	4.05 *
ภายในกลุ่ม	590	26.99	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

ตารางที่ 6. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนทริ-โอตต์ปะ แบบ 1 ของครู พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอน (ทุกวิชาทั้งสังคมศึกษา) และประเภทโรงเรียน

แหล่งความแปรปรวน	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	15.04	< 1
วิชาที่สอน (ข)	1	20.39	< 1
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	74.35	2.60
ก + ข	2	3.24	< 1
ก + ค	2	112.92	3.95 ***
ข + ค	1	106.37	3.72 *
ก + ข + ค	2	22.99	< 1
ภายในกลุ่ม	331	28.57	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

ตารางที่ 7. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนน ทิริ - โอตต์ปะ แบบ 2 ของครู จำแนกกลุ่มอายุ พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอนและประเภทโรงเรียน

แหล่งความแปรปรวน	19-30 ปี			31-60 ปี		
	df	MS	F	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	139.86	1.60	2	274.79	2.99
วิชาที่สอน (ข)	1	38.30	< 1	1	.05	< 1
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	0.00	< 1	1	168.38	1.72
ก + ข	2	58.23	< 1	2	136.25	1.58
ก + ค	2	22.48	< 1	2	15.48	< 1
ข + ค	1	201.18	2.31	1	136.32	1.48
ก + ข + ค	2	246.68	2.83*	2	274.35	2.99**
ภายในกลุ่ม	278	87.17		291	91.82	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01

ตารางที่ 8. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนน ทิริ - โอตต์ปะ แบบ 2 ของครู พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอน (สอนทุกวิชาทั้งสอนสังคมศึกษา) และประเภทโรงเรียน

แหล่งความแปรปรวน	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	473.43	5.01**
วิชาที่สอน (ข)	1	474.17	5.02*
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	51.85	< 1
ก + ข	2	109.75	1.16
ก + ค	2	296.78	3.14
ข + ค	1	4.38	< 1
ก + ข + ค	2	99.44	1.05
ภายในกลุ่ม	331	94.42	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01

ตารางที่ ๑. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนทิวรี - โอดตัปประเภท 2 ของครู เป็นกลุ่มรวมและจำแนกตามชั้นที่สอน พิจารณาตามระดับการศึกษา  
วิชาที่สอน (จรรยาศึกษา กับ วิชาอื่น ๆ) และประเภทโรงเรียน

กลุ่มต่าง ๆ	กลุ่มรวม			ป.๔			ป.๕			ป.๖		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	357.97	4.0**	2	389.28	4.77***	2	270.04	3.54*	2	146.10	1.81
วิชาที่สอน (ข)	1	0.29	<1	1	3.68	<1	1	7.97	<1	1	49.78	<1
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	96.72	1.08	1	117.39	1.44	1	122.08	1.60	1	219.96	2.73*
ก + ข	2	166.86	1.86	2	41.45	<1	2	7.54	<1	2	74.28	<1
ก + ค	2	63.46	<1	2	43.19	<1	2	3.57	<1	2	44.54	<1
ข + ค	1	11.34	<1	1	5.40	<1	1	358.27	4.7**	1	0.43	<1
ก + ข + ค	2	442.38	4.94***	2	25.64	<1	2	21.02	<1	2	8.65	<1
ภายในกลุ่ม	581	89.59		95	81.53		157	76.22		152	80.60	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01

ตารางที่ 10. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนทัศนคติที่ครูมีต่อศิษย์ เป็นกลุ่มรวมและจำแนกกลุ่มตามชั้นที่ทำการสอน ที่จําแนกตามระดับการศึกษา วิชาที่สอน (สอนวิชาที่ศึกษากับสอนวิชาอื่น ๆ) และประเภทโรงเรียน

กลุ่มต่าง ๆ	กลุ่มรวม			ป.4			ป.5			ป.6		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	106.19	<1	2	199.14	<1	2	4.45	<1	2	12.75	<1
วิชาที่สอน (ข)	1	76.67	<1	1	365.07	1.60	1	1076.41	5.97**	1	519.44	.70*
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	46.48	<1	1	628.13	2.75 <sup>1</sup>	1	0.07	<1	1	5.64	<1
ก + ข	2	332.94	<1	2	70.58	<1	2	645.07	3.57**	2	1128.07	5.86***
ก + ค	2	117.69	<1	2	35.57	<1	2	13.96	<1	2	2.71	<1
ข + ค	1	41.34	<1	1	344.49	1.51	1	5.31	<1	1	8.65	<1
ก + ข + ค	2	590.57	1.73	2	237.13	1.04	2	238.62	1.32	2	248.09	1.29
ภายในกลุ่ม	581	340.95		95	228.18		157	180.41		152	192.51	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01

ตารางที่ 11. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการตั้งสมมติฐานของครู จำนวนครูเป็นกลุ่มอายุที่พิจารณาคณะระดับการศึกษา วิชาที่สอน และประเภทโรงเรียน

กลุ่มอายุ	19-31 ปี			32-60 ปี		
	df	MS	F	df	MS	F
แหล่งความแปรปรวน						
ระดับการศึกษา (ก)	2	182.74	1.60	2	128.12	<1
วิชาที่สอน (ข)	1	236.66	2.07	1	390.67	.98*
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	30.54	<1	1	255.76	1.93
ก + ข	2	35.95	<1	2	201.58	1.52
ก + ค	2	208.34	1.82***	2	31.76	<1
ข + ค	1	899.10	7.86	1	73.21	<1
ก + ข + ค	2	233.10	2.04	2	429.59	3.24**
ภายในกลุ่ม	278	114.33		291	132.67	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01

ตารางที่ 12. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการสั่งสอนอบรมศิษย์ของครู เป็นกลุ่มรวมและจำแนกกลุ่มตามชั้น พิจารณาตามระดับการศึกษา วิชาที่สอน และประเภทโรงเรียน

กลุ่มต่าง ๆ	กลุ่มรวม			ป.4			ป.5			ป.6		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
ระดับการศึกษา (ก)	2	276.92	2.22	2	190.75	2.0	2	271.10	2.29*	2	91.57	<1
วิชาที่สอน (ข)	1	455.72	3.65**	1	27.76	<1	1	47.16	<1	1	0.23	<1
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	68.87	<1	1	142.67	1.49	1	178.37	1.51	1	0.35	<1
ก + ข	2	212.97	1.71	2	290.44	3.04**	2	67.91	<1	2	102.56	<1
ก + ค	2	234.42	1.88	2	87.75	<1	2	229.86	1.94	2	322.73	2.91*
ข + ค	1	869.57	6.97***	1	17.47	<1	1	68.42	<1	1	12.48	<1
ก + ข + ค	2	103.41	<1	2	31.29	<1	2	15.91	<1	2	36.03	<1
ภายในกลุ่ม	681	124.70		95	95.50		157	118.18		162	110.91	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01

ตารางที่ 13. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนคิดทำของนักเรียน จำแนกประเภทโรงเรียนพิจารณาตามระดับทัศนคติที่มีต่อศิษย์ และระดับการสั่งสอนอบรมศิษย์ของครูประจำชั้น

กลุ่มต่าง ๆ	นอกวัด			ในวัด		
	df	MS	F	df	MS	F
ระดับทัศนคติ (ก)	1	361.22	3.12*	1	82.00	< 1
ระดับการสั่งสอนอบรม (ข)	1	437.89	3.78**	1	271.07	< 1
ก + ข	1	174.69	1.51	1	80.35	< 1
ภายในกลุ่ม	1250	115.73		1296	124.10	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

ตารางที่ 14. แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แห่งการรับรู้ การสั่งสอนอบรมของครูประจำชั้นกับบรรณจริยาของนักเรียน เป็นกลุ่มรวม กลุ่มตามชั้นที่เรียน เพศ ฐานะทางบ้าน และประเภทโรงเรียน

กลุ่มต่าง ๆ	คู่ความสัมพันธ์	การรับรู้การสั่งสอนอบรมของครูกับ			
		คิดทำ	หิริ 1	หิริ 2	ศติ
กลุ่มรวม		.14	.27	.27	.36*
ป.4		.14	.28	.23	.37*
ป.5		.17	.25	.26	.35*
ป.6		.11	.23	.28	.33*
ชาย		.19	.26	.24	.34*
หญิง		.11	.27	.28	.36*
ฐานะต่ำ		.12	.29	.27	.35*
ฐานะปานกลาง		.20	.23	.23	.35*
ฐานะสูง		.23	.25	.32*	.42*
นอกวัด		.20	.24	.26	.37*
ในวัด		.17	.31*	.28	.35*

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001

ตารางที่ 15. แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แห่งทัศนคติของนักเรียนที่มีต่อครูประจำชั้นกับธรรมจริยา  
ของนักเรียน และการรับรู้ของนักเรียนเกี่ยวกับการอบรมสั่งสอนของครู

กลุ่มต่าง ๆ	คู่ความสัมพันธ์	ทัศนคติของนักเรียนที่มีต่อครูกับ				การรับรู้ การสั่งสอนอบรม ของครู
		ศีลห้า	หิริ 1.	หิริ 2	สติ	
กลุ่มรวม		.15	.34 *	.25	.30 *	.65 *
ป.4		.16	.37 *	.21	.30	.66 *
ป.5		.17	.34 *	.23	.25	.60 *
ป.6		.14	.28	.30 *	.32 *	.70 *
ชาย		.21	.35 *	.22	.28	.65 *
หญิง		.11	.31 *	.26	.30 *	.65 *
ฐานะต่ำ		.15	.35 *	.24	.29	.65 *
ฐานะปานกลาง		.18	.33	.26	.29	.69 *
ฐานะสูง		.17	.31 *	.31 *	.34 *	.60 *
นอกวัด		.21	.33 *	.25	.30 *	.67 *
ในวัด		.17	.36 *	.26	.30 *	.64 *

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001

ตารางที่ 16. แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แห่งธรรมจริยาของนักเรียน

กลุ่มต่าง ๆ	คู่ความสัมพันธ์	หิริ 1 กับศีลห้า	หิริ 1 กับสติ	หิริ 2 กับสติ
กลุ่มรวม		.22	.22	.47 *
ป.4		.19	.08	.44 *
ป.5		.22	.30 *	.50 *
ป.6		.26	.28	.46 *
ชาย		.32 *	.16	.46 *
หญิง		.15	.25	.46 *
ฐานะต่ำ		.19	.20	.48 *
ฐานะปานกลาง		.34 *	.25	.47 *
ฐานะสูง		.22	.26	.47 *
นอกวัด		.31 *	.20	.48 *
ในวัด		.24	.25	.47 *

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001

ตารางที่ 17. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนสถิติของนักเรียน พิจารณาตาม เพศ ฐานะทางบ้านและประเภทโรงเรียน

กลุ่มต่าง ๆ	กลุ่มรวม			ป.4			ป.5			ป.6		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
เพศ	1	977.33	8.30 <sup>***</sup>	1	462.77	3.50 <sup>*</sup>	1	746.19	6.67 <sup>***</sup>	1	40.46	<1
ฐานะเศรษฐกิจ	2	1373.83	11.67 <sup>****</sup>	2	194.84	1.47	2	344.97	3.04 <sup>**</sup>	2	603.91	6.00 <sup>***</sup>
ประเภทโรงเรียน	1	1.28	<1	1	77.29	<1	1	4.86	<1	1	61.49	<1
ก + ข	2	52.53	<1	2	14.62	<1	2	17.62	<1	2	14.30	<1
ก + ค	1	199.36	1.69	1	90.71	<1	1	232.70	2.06	1	2.07	<1
ข + ค	2	184.03	1.56	2	407.39	3.08 <sup>**</sup>	2	192.21	1.69	2	61.62	<1
ก + ข + ค	2	9.89	<1	2	441.72	3.34 <sup>**</sup>	2	33.63	<1	2	303.41	3.02 <sup>**</sup>
ภายในกลุ่ม	2610	117.68		870	132.11		855	113.59		861	100.60	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10    \*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01    \*\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001

ตารางที่ 18. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนทรี - โอตป์ปะ แบบ 1 ของนักเรียน

กลุ่มต่าง ๆ	กลุ่มรวม			ป.4			ป.6			ป.6		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
เพศ (ก)	1	7400.34	118.82 <sup>**</sup>	1	3155.50	41.19 <sup>**</sup>	1	2159.49	35.06 <sup>**</sup>	1	2272.68	49.16 <sup>**</sup>
ฐานะเศรษฐกิจ (ข)	2	533.68	8.49 <sup>**</sup>	2	210.38	2.75 <sup>*</sup>	2	90.58	1.50	2	74.00	1.60
ประเภทโรงเรียน (ค)	1	2.94	< 1	1	9.36	< 1	1	0.72	< 1	1	4.51	< 1
ก + ข	2	34.58	< 1	2	86.27	1.13	2	29.68	< 1	2	14.90	< 1
ก + ค	1	17.62	< 1	1	92.30	1.20	1	27.99	< 1	1	136.02	2.94 <sup>*</sup>
ข + ค	2	116.33	1.86	2	220.21	2.87	2	43.31	< 1	2	0.70	< 1
ก + ข + ค	2	25.87	< 1	2	146.31	1.91	2	0.27	< 1	2	18.36	< 1
ภายในกลุ่ม	2610	62.84		870	76.61		855	60.56		861	46.22	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001

ตารางที่ 19. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนทรี - โอดตีปะ แบบ 2 ของนักเรียน

กลุ่มต่าง ๆ	กลุ่มรวม			ป.4			ป.5			ป.6		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
เพศ	1	4071.74	51.40	1	1687.48	24.11	1	1599.30	19.70	1	853.30	10.23
ฐานะเศรษฐกิจ	2	761.99	9.26	2	168.38	2.41	2	269.14	3.33	2	243.53	2.92
ประเภทโรงเรียน	1	41.17	< 1	1	10.62	< 1	1	149.11	1.85	1	5.62	< 1
ก + ข	2	353.59	4.46	2	130.05	1.86	2	66.15	< 1	2	491.36	5.89
ก + ค	1	296.18	3.74	1	6.22	< 1	1	113.36	1.40	1	387.79	4.54
ข + ค	2	67.16	< 1	2	105.53	1.51	2	44.77	< 1	2	210.92	2.53
ก + ข + ค	2	22.52	< 1	2	59.37	< 1	2	90.48	1.12	2	81.44	< 1
ภายในกลุ่ม	2610	79.21		870	69.97		855	80.74		861	83.43	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10      \*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01      \*\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001

ตารางที่ 20. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนสติ - สัมภาษณ์ของนักเรียน

กลุ่มต่าง ๆ	กลุ่มรวม			ป.4			ป.5			ป.6		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
เพศ	1	3420.98	63.68	1	1039.41	19.42	1	1546.82	28.14	1	909.10	18.03
ฐานะเศรษฐกิจ	2	527.04	9.81	2	131.09	2.45	2	304.60	5.54	2	78.35	1.55
ประเภทโรงเรียน	1	0.07	<1	1	20.86	<1	1	291.63	5.30	1	245.30	4.86
ก + ข	2	132.62	2.47	2	7.86	<1	2	69.86	1.27	2	89.52	1.77
ก + ค	1	6.35	<1	1	83.92	1.57	1	38.93	<1	1	15.33	<1
ข + ค	2	80.26	1.49	2	111.91	2.09	2	0.60	<1	2	110.47	2.19
ก + ข + ค	2	29.64	<1	2	53.10	<1	2	52.65	<1	2	127.45	2.53
ภายในกลุ่ม	2610	53.72		870	53.51		855	54.97		861	50.43	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10      \*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .01      \*\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001

ตารางที่ 21. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการรับรู้การสั่งสอนอบรมของครู เป็นกลุ่มรวมและจำแนกตามชั้น

กลุ่มต่าง ๆ	กลุ่มรวม			ป.4			ป.5			ป.6		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
เพศ	1	2663.28	18.11 <sup>***</sup>	1	1989.75	12.59 <sup>***</sup>	1	753.72	5.21 <sup>**</sup>	1	324.48	2.52
ฐานะเศรษฐกิจ	2	339.60	2.31 <sup>*</sup>	2	279.19	1.77	2	74.78	<1	2	67.45	<1
ประเภทโรงเรียน	1	733.28	4.99 <sup>**</sup>	1	105.11	<1	1	1608.82	11.13 <sup>***</sup>	1	103.52	<1
ก + ข	2	106.19	<1	2	136.08	<1	2	90.86	<1	2	10.69	<1
ก + ค	1	219.52	1.49 <sup>*</sup>	1	80.92	<1	1	491.31	3.40 <sup>*</sup>	1	128.65	<1
ข + ค	2	372.75	2.53 <sup>*</sup>	2	75.71	<1	2	226.60	1.57	2	542.65	4.21 <sup>**</sup>
ก + ข + ค	2	248.37	1.69	2	408.34	2.58 <sup>*</sup>	2	5.45	<1	2	22.65	<1
ภายในกลุ่ม	2610	147.02		870	158.09		855	144.57		861	129.44	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10      \*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001

ตารางที่ 22. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนทัศนคติที่นักเรียนมีต่อครู เป็นกลุ่มรวมและจำแนกตามชั้นที่เรียน

กลุ่มต่าง ๆ	กลุ่มรวม			ป.4			ป.5			ป.6		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
เพศ	1	6221.71	30.17	1	3266.69	15.86	1	2325.53	11.25	1	987.75	4.89
ฐานะเศรษฐกิจ	2	180.77	<1	2	441.47	2.14	2	32.45	<1	2	320.12	1.58
ประเภทโรงเรียน	1	443.80	2.15	1	132.07	<1	1	232.18	1.12	1	9.79	<1
ก + ข	2	2.56	<1	2	6.86	<1	2	40.93	<1	2	41.91	<1
ก + ค	1	116.76	<1	1	59.57	<1	1	572.57	2.77*	1	2.94	<1
ข + ค	2	316.51	1.53	2	588.95	2.86*	2	119.23	<1	2	293.09	1.45
ก + ข + ค	2	204.49	<1	2	551.69	2.68*	2	75.70	<1	2	24.22	<1
ภายในกลุ่ม	2610	206.25		870	206.91		855	206.62		861	202.12	

\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .10

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .05

\*\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น .001

# วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

## วัตถุประสงค์

เพื่อส่งเสริมวิชาการ เผยแพร่ผลงานวิจัยและงานสำรวจต่าง ๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ที่จัดทำขึ้นในประเทศไทย ในขณะเดียวกันก็เพื่อให้เป็นสื่อการแลกเปลี่ยนความรู้ทางด้านวิจัยกับต่างประเทศ

## หลักเกณฑ์การส่งรายงานวิจัยลงวารสาร

1. รายงานวิจัยจะต้องทำในประเทศไทยและไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารใดวารสารหนึ่งมาก่อน
2. ต้นฉบับเป็นตัวพิมพ์ดีดหรือลายมือที่อ่านง่าย ภาษาอังกฤษหรือภาษาไทย หรือภาษาไทยปนคำศัพท์ภาษาอังกฤษ (ในกรณีที่คำศัพท์ภาษาอังกฤษเป็นคำเฉพาะที่แปลไม่ได้หรือแปลแล้วได้ความหมายไม่ชัดเจน)
3. การวางรูปต้นฉบับ ประกอบด้วย
  - 3.1 ชื่อเรื่อง ชื่อและนามสกุลผู้เขียน สถาบันที่สังกัด และที่อยู่สำหรับการติดต่อ ทั้งภาษาไทยและอังกฤษ
  - 3.2 บทคัดย่อ (Abstract) (สรุปเนื้อหา และรายละเอียดที่จำเป็นของเรื่อง) ทั้งภาษาไทยและอังกฤษ
  - 3.3 คำนำ (Introduction)
  - 3.4 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and methods)
  - 3.5 ผล (Results)
  - 3.6 อภิปรายและวิจารณ์ (Discussion)
  - 3.7 สรุป (Conclusion)
  - 3.8 คำขอบคุณ (Acknowledgements)
  - 3.9 เอกสารอ้างอิง (References) เรียงตามลำดับอักษรชื่อสกุลขึ้นก่อนตามด้วยชื่อบทความ ชื่อหนังสือหรือวารสาร ปีพิมพ์ เล่มที่ หน้า (ถ้าเป็นหนังสือต้องมีสำนักพิมพ์ และเมืองพิมพ์ด้วย)
  - 3.10 ตาราง (Table)
  - 3.11 ภาพ (Figure) ภาพหลายเส้นควรเขียนด้วยหมึกสีดำนกระดาดอาร์ต ถ้าเป็นภาพถ่ายขาว-ดำควรใช้ขนาดโปสการ์ด และควรเลือกภาพที่ชัดเจนที่สุด
4. ความยาวของรายงานวิจัยประมาณ 15-30 หน้า

## ระยะเวลาการส่งต้นฉบับ

- ภายในเดือนกันยายน สำหรับวารสารเล่มที่ 1
- ภายในเดือนมีนาคม สำหรับวารสารเล่มที่ 2

## การส่งต้นฉบับ

ส่งมาที่ :ผู้อำนวยการกองแปลและวิเทศสัมพันธ์  
กองแปลและวิเทศสัมพันธ์  
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ  
บางเขน กรุงเทพฯ 10900  
โทรศัพท์ 5792285

## หมายเหตุ

1. รายงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์จะต้องผ่านการพิจารณาให้ความเห็นชอบและตรวจแก้ไขจากผู้แทนสาขา ประจำกองบรรณาธิการวารสารทุกครั้ง
2. ผู้เขียนจะได้รับวารสาร 1 เล่ม และ reprint 76 เล่ม

ต้นฉบับเป็นหน้าว่าง

BLANK PAGE IN ORIGINAL

# สารบัญ

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปีที่ 18 เล่มที่ 1 ม.ค. - มิ.ย. 2529

## วิทยาศาสตร์

เซลล์ดัดบิอิสระ .....	1
..... พรเพ็ญ เปรมโยธิน	
การผลิตหัวย้อยของแกลดีโอลัส โดยการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อน.....	11
..... สอาด วัฒนสุขารมย์	
การตรวจหาแฮปโตโกลบินในคราบเลือด.....	43
..... อัมพร แจ่มสุวรรณ	
ผลของเลคตินในการรักษามะเร็งตับ : ผลต่อก้อนมะเร็ง ฤทธิ์ข้างเคียงและอัตราการรอด.....	51
..... กิ่งกาญจน์ เลาทัย	
การควบคุมโรคซีดจากการขาดเหล็ก : ผลการศึกษาติดตามเป็นเวลาสองปีในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ของประเทศไทย.....	61
..... มลลณี ศันตวิรุพห์ และคณะ	

## สังคมศาสตร์

ธรรมเนียมจรรยาของครูไทยในภาคกลาง .....	1
..... บุญกอบ วิสมิตะนันท์ และประภาพันธุ์ กรโกสียกาจ	

เรื่องต่าง ๆ ที่ปรากฏในวารสารนี้จะนำไปตีพิมพ์ ณ ที่อื่นได้ต่อเมื่ออ้างอิงถึงสำนักงานคณะกรรมการวิจัย-  
แห่งชาติไว้เป็นหลักฐาน ข้อคิดเห็นในบทความของผู้เขียนโดยเฉพาะ ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการวิจัย-  
แห่งชาติไม่จำเป็นต้องเห็นพ้องด้วยเสมอไป



## CONTENTS

Journal of the National Research Council Vol. 18, No. 1, Jan.-Jun. 1986

### Natural Science

Isolated Liver Cell Preparations.....	1
..... <i>Pornpen Pramyothin</i>	
Gladiolus Cormel Production by Young Flower Stalk Culture.....	11
..... <i>Sa-ard Romroensukarom</i>	
Haptoglobin Typing in Bloodstains.....	43
..... <i>Amporn Chamsuwan</i>	
Effect of Lectin in Treating Human Hepatocellular Carcinoma : Effect on Tumor Tissue, Side Effect and Survival Rate.....	51
..... <i>Kingkarnch Laohathai</i>	
Iron Fortification Trial : Results of a Two Year Trial in Northeast Thailand.....	61
..... <i>Malulee Tuntawiroon et al.</i>	

### Social Science

Religious Morality of Thai Teachers and Pupils in the Central Plains.....	1
..... <i>Boonkob Vismitanandana and Prapapan Kornkosiyakaj</i>	

Articles and other material published in this Journal may be reproduced, provided due acknowledgement is made. Signed articles express the views of the author and not necessarily those of the National Research Council.