

บทที่ 3

ผล

ศึกษาวิธีการและความเข้มข้นในการทรีตเม้นนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรด้วยสารโคลชิซิน

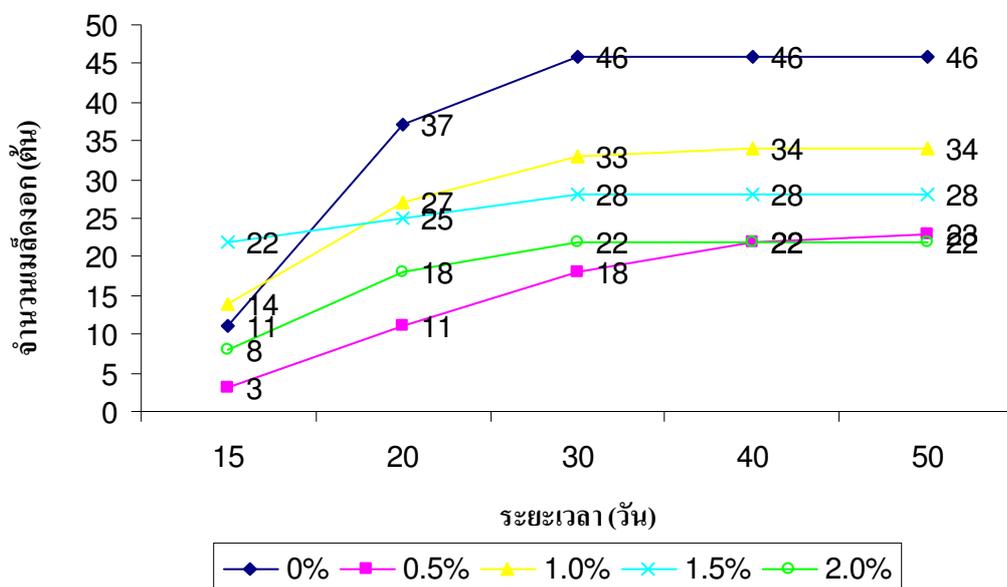
1. การทรีตสารโคลชิซินกับเมล็ดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พร

1.1 วิธีการและความเข้มข้นในการทรีตเมล็ดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรด้วยสารโคลชิซิน

พบว่า วิธีการที่เหมาะสมในการทรีตมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พร คือการแกะเปลือกหุ้มเมล็ดมะนาวออกแล้วทรีตด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0% เป็นระยะเวลา 36 ชั่วโมง เนื่องจากเมล็ดที่ได้รับสารโคลชิซินทุกทรีตเมนต์สามารถงอกได้ ส่วนวิธีไม่แกะเปลือกหุ้มเมล็ดมะนาวออกแล้ว ทรีตด้วยสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ เมล็ดไม่สามารถงอกได้รวมทั้งชุดควบคุม

1.2 ผลของสารโคลชิซินต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้า

วิธีการแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกและแช่สารโคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างกันคือ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0% เป็นระยะเวลา 36 ชั่วโมง พบว่า หลังเพาะเมล็ด 2 สัปดาห์ เมล็ดจะค่อยๆ ทะยอยงอกในระยะเวลาต่างๆ กัน (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 จำนวนแมลงดงอกทั้งหมดหลังจากทำการแช่เมล็ดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรหลังแกะเปลือกในสารละลายโคลิซิงินที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน โดยทำการนับที่ 15 20 30 40 และ 50 วันหลังเพาะเมล็ด

จากภาพที่ 7 จะเห็นได้ว่าในช่วง 15 วันแรกหลังทำการเพาะเมล็ด เมล็ดที่ถูกทรีตด้วยสารโคลิซิงินความเข้มข้น 1.5% งอกได้เร็วกว่าทรีตเมนต์อื่นคือ 22 เมล็ด รองลงมาคือ เมล็ดที่ถูกทรีตโคลิซิงินความเข้มข้น 1.0% ชุดควบคุม และที่ความเข้มข้น 2.0% ซึ่งมีจำนวนแมลงดงอก 14 11 และ 8 เมล็ด ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 0.5% สามารถงอกได้เพียง 3 เมล็ดเท่านั้น หลังจากนั้นทำการตรวจนับความงอกในวันที่ 20 หลังทำการเพาะเมล็ด พบว่า เมล็ดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรมีความงอกเพิ่มขึ้นคือ ชุดควบคุมสามารถงอก 37 เมล็ด ส่วนที่โคลิซิงินความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0% มีจำนวนแมลงดงอก 11 27 25 และ 18 เมล็ด ตามลำดับ

เมื่อทำการนับความงอกของเมล็ดมะนาวฝรั่ง 30 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า ชุดควบคุมมีแมลงดงอกเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือจำนวน 46 เมล็ด ส่วนที่สาร โคลิซิงินความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0% มีจำนวนแมลงดงอกทั้งสิ้น 18 33 28 และ 22 เมล็ด ตามลำดับ ทำการนับอีกครั้งเมื่ออายุครบ 40 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า ชุดควบคุมไม่มีแมลงดงอกเพิ่มขึ้นจากเดิมเช่นเดียวกับที่โคลิซิงินความเข้มข้น 1.5 และ 2.0% มีแมลงดงอก 28 และ 22 เมล็ด ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายโคลิซิงิน 0.5 และ 1.0% มีจำนวนแมลงดงอก 22 และ 34 เมล็ด ตามลำดับ และทำการนับเมื่ออายุ 90 วัน หลังเพาะเมล็ด พบว่าชุดควบคุมไม่มีแมลงดงอกเพิ่มขึ้นจากเดิม เช่นเดียวกับที่สาร

โคลชิซินความเข้มข้น 1.0 1.5 และ 2.0% ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน 0.5 มีจำนวนเมล็ดงอก 23 เมล็ด จากผลการงอกของเมล็ดที่กล่าวมานี้ นำมาศึกษาดัชนีความเร็วในการงอก ซึ่งผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 1 ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่แกะเปลือกหุ้มเมล็ดก่อน
แช่สาร โคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (%)	ดัชนีความเร็วในการงอก
0	5.36
0.5	2.18
1.0	4.10
1.5	4.26
2.0	2.62

จากตารางที่ 1 พบว่า ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ดในชุดควบคุมมีค่าดัชนีความเร็วในการงอกสูงสุดคือ 5.36 ตามด้วยเมล็ดที่ทรีดด้วยสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 1.5 1.0 2.0 และ 0.5% ซึ่งมีค่าดัชนีความเร็วในการงอก 4.26 4.10 2.62 และ 2.18 ตามลำดับ แสดงว่าเมล็ดของชุดควบคุมมีความแข็งแรงของต้นกล้ามากที่สุด รองลงมาคือ เมล็ดที่ทรีดสารโคลชิซินความเข้มข้น 1.5 1.0 และ 2.0% ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 0.5% มีความแข็งแรงของต้นกล้าน้อยที่สุด และเมื่อครบ 50 วัน ทำการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่แกะเปลือกหุ้มเมล็ดก่อนแช่สารโคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันที่ 50 วันหลังเพาะเมล็ด

ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (%)	เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด (%)
0	92
0.5	46
1.0	68
1.5	56
2.0	44

จากตารางที่ 2 พบว่า ที่อายุ 50 วันหลังเพาะเมล็ด สรุปได้ว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกของชุดควบคุมมีค่าสูงสุดคือ 92% รองลงมาคือ เมล็ดที่แช่ในสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 1.0% มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 68% ตามด้วยความเข้มข้น 1.5 0.5 และ 2.0% ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 56 46 และ 44% ตามลำดับ

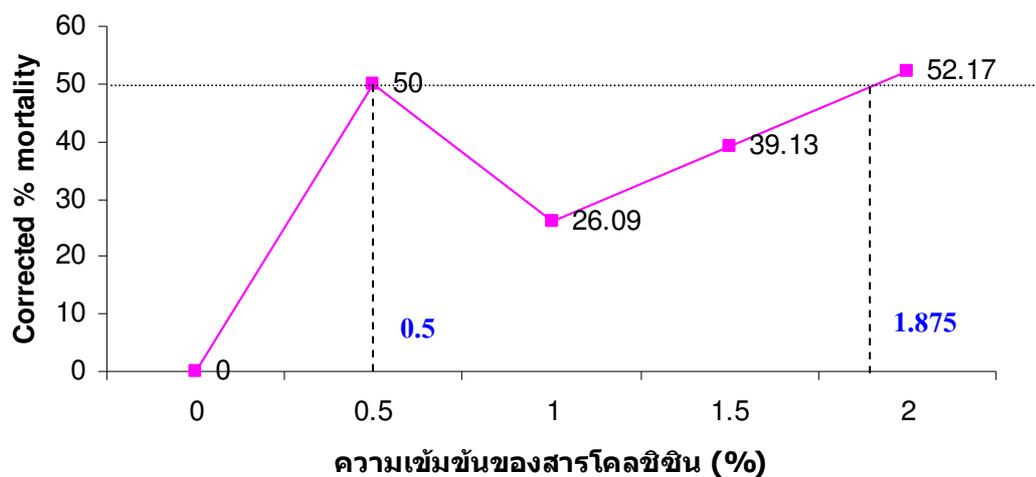
1.3 การหา LD₅₀ ของสารโคลชิซินในการทรีตเมนต์

1. วิธี Typical sigmoid mortality ทำโดยหาค่า corrected % mortality จากเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรเมื่ออายุ 50 วัน (ตารางที่ 2) ซึ่งอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินกับ corrected % mortality (ตารางที่ 3) และเมื่อเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ความงอกกับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินแสดงในภาพที่ 8

ตารางที่ 3 แสดงค่า corrected % mortality ของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรภายหลังทรีดสาร โคลชิซิน 50 วัน

ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (%)	ความอยู่รอด* (%)	ความอยู่รอด (% ของ Control)	Corrected % mortality
0	92.00	100.00	0.00
0.5	46.00	50.00	50.00
1.0	68.00	73.91	26.09
1.5	56.00	60.87	39.13
2.0	44.00	47.83	52.17

*เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดนับจากจำนวนต้นที่รอดตายเมื่ออายุ 50 วัน หลังจากทำการเพาะ



ภาพที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของต้นมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรกับความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน

จากภาพที่ 8 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ 2.0% มีค่า Corrected % mortality สูงที่สุดคือ 52.17 ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่น รองลงมาคือ ที่ระดับความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ 0.5 และ 1.5 ตามลำดับ มีค่า Corrected % mortality อยู่ที่ 50 และ 39.13 ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 1.0 % มีค่า Corrected % mortality ต่ำที่สุดคือ 26.09

ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่น และจากความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสาร โคลชิซินกับเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดมาเขียนกราฟเพื่อหา LD_{50} (ภาพที่ 8) พบว่าระดับความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ทำให้มะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรอดตาย 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออายุ 50 วัน (LD_{50}^{50}) คือ ที่ระดับความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน 0.5 และ 1.875%

2. คำนวณหาค่า LD_{50} จากสูตร Regression

พบว่า ระดับความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ทำให้มะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรอดตาย 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออายุ 50 วัน จากสูตร Regression คือ ระดับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินที่ 1.88% (ภาคผนวก)

ดังนั้นค่า LD_{50} ของความเข้มข้นสาร โคลชิซินสำหรับการทรีดเมล็ดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรมีค่าอยู่ระหว่าง 0.5-1.88%

1.4 การเจริญเติบโตของต้นกล้า

1. ความสูงของต้น

ความสูงเฉลี่ยของต้นมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรวัดเมื่ออายุครบ 60 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า ต้นในชุดควบคุมมีความสูงของต้นเฉลี่ย 8.87 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับทรีดเมนต์อื่น ส่วนต้นกล้าที่ได้จากการนำเมล็ดแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 2.0 1.0 0.5 และ 1.5% มีความสูงเฉลี่ย 7.95 7.36 7.11 และ 6.77 เซนติเมตรตามลำดับ ความสูงของต้นกล้าที่อายุ 120 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า ต้นในชุดควบคุมมีความสูงเฉลี่ยแตกต่างจากทรีดเมนต์อื่นๆ เช่นกัน คือ มีความสูงเฉลี่ย 12.75 เซนติเมตร รองลงมาคือ ต้นที่ได้จากการนำเมล็ดแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 2.0 0.5 1.0 และ 1.5% ซึ่งมีความสูงเฉลี่ยอยู่ที่ 10.84 9.65 9.60 และ 9.37 เซนติเมตร และความสูงที่อายุครบ 150 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า ชุดควบคุมยังคงมีความสูงเฉลี่ยมากกว่าต้นกล้าที่เมล็ดผ่านการแช่สาร โคลชิซินทุกความเข้มข้นโดยต้นในชุดควบคุมมีความสูงเฉลี่ย 23.45 เซนติเมตร ส่วนทรีดเมนต์อื่นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ความสูงเฉลี่ยของต้นมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ทำการทรีตสารโคลชิซินวัดเมื่ออายุ 60 120 และ 150 วันหลังเพาะเมล็ด

ความเข้มข้นของ สารโคลชิซิน (%)	ความสูงต้นกล้า (เซนติเมตร)		
	60 วัน	120 วัน	150 วัน
0	8.87a	12.75a	23.45a
0.5	7.11b	9.65bc	17.06b
1.0	7.36b	9.60bc	15.94b
1.5	6.77b	9.37c	15.43b
2.0	7.95ab	10.84b	16.30b
F-test	**	**	**
C.V. (%)	26.59	22.41	19.19

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P = 0.01)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

2. ความกว้างและความยาวของใบ

ทำการวัดความกว้างใบมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรเมื่ออายุครบ 150 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า ความกว้างของใบจากต้นในแต่ละทรีตเมนต์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติคือ ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.5 2.0 1.0 และ 1.5% มีความกว้างใบเฉลี่ยอยู่ที่ 2.15 1.80 1.79 1.78 และ 1.75 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ความยาวใบมะนาวพันธุ์ฝรั่งพิมพ์พรเมื่อมีอายุครบ 150 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าใบของต้นกล้าในชุดควบคุมมีความยาวมากที่สุดคือ 5.20 เซนติเมตร ในขณะที่ต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 1.0 2.0 1.5 และ 0.5% มีความยาวใบเฉลี่ยอยู่ที่ 4.53 4.50 4.37 และ 4.28 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 ความกว้างใบของต้นกล้ามะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ทรีตสาร โคลชิซินวัดเมื่ออายุ 150 วัน
หลังเพาะเมล็ด

ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน (%)	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)
0	2.15
0.5	1.75
1.0	1.78
1.5	1.75
2.0	1.79
F-test	ns
C.V. (%)	21.29

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 6 ความยาวใบของต้นกล้ามะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ทรีตสาร โคลชิซินวัดเมื่ออายุ 150 วัน
หลังเพาะเมล็ด

ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน (%)	ความยาวใบ (เซนติเมตร)
0	5.20
0.5	4.28
1.0	4.53
1.5	4.37
2.0	4.50
F-test	ns
C.V. (%)	22.07

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3. จำนวนใบ

ทำการนับจำนวนใบของต้นกล้ามะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรเมื่ออายุครบ 60 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า ชุดควบคุมจะมีจำนวนใบเฉลี่ยแตกต่างจากจำนวนใบของต้นที่ได้รับความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 1.5% ส่วนในทริตเมนต์อื่นๆ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อต้นกล้าอายุ 120 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า ชุดควบคุมมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุดคือ 9.45 ใบ/ต้น ส่วนทริตเมนต์อื่นๆ มีจำนวนใบใกล้เคียงกัน ผลที่ได้เป็นไปได้เป็นไปในทำนองเดียวกับเมื่อทำการนับจำนวนใบของต้นกล้าที่อายุ 150 วันหลังเพาะเมล็ด โดยจำนวนใบของต้นชุดควบคุมมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 16.0 ใบ/ต้น ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับทริตเมนต์อื่น ๆ ที่มีค่าใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 จำนวนใบต้นกล้ามะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรเฉลี่ยต่อต้นที่ทริตสารโคลชิซินที่อายุ 60 120 และ 150 วันหลังเพาะเมล็ด

ความเข้มข้นของ สารโคลชิซิน (%)	จำนวนใบมะนาว (ใบ/ต้น)		
	60 วัน	120 วัน	150 วัน
0	5.93a	9.45a	16.00a
0.5	5.47ab	8.35b	13.87b
1.0	5.36ab	7.79b	13.33b
1.5	4.89b	7.64b	12.75b
2.0	6.14a	8.54ab	14.59ab
F-test	*	**	*
C.V. (%)	25.67	21.57	20.85

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P = 0.05$)

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P = 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

1.5 ลักษณะผิดปกติของต้นกล้าเนื่องจากผลของสารโคลชิซิน

ต้นกล้าที่งอกจากการแช่เมล็ดในสารละลายโคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ บางส่วนจะมีลักษณะที่ผิดปกติจากต้นที่ไม่ได้รับผลจากสารโคลชิซินเช่น ลำต้นอวบอ้วน ลำต้นโค้งงอ ใบเล็ก ต้นเตี้ย ใบรูปร่างผิดปกติไปจากเดิม การเจริญเติบโตช้า (ภาพที่ 9) ซึ่งพบต้นที่มีลักษณะผิดปกติดังกล่าวในแต่ละทริตเมนต์มีจำนวนแตกต่างกันเช่น ลักษณะลำต้นอวบอ้วน พบในต้นกล้ากลุ่มที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1.5% มากที่สุดคือ ประมาณ 28.6% และพบลักษณะดังกล่าวน้อยที่สุดในกลุ่มที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.5% คือ พบเพียง 8.7% ตามด้วยที่ระดับเข้มข้น 2.0 และ 1.0% โดยพบลักษณะนี้ 27.3 และ 14.7% ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมไม่พบลักษณะผิดปกติดังกล่าวเลย ส่วนลักษณะลำต้นอวบอ้วนที่พบซึ่งมีผลทำให้ต้นกล้าเจริญเติบโตช้ากว่าปกติพบมากที่สุดในกลุ่มที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1.5% (28.6%) และกลุ่มชุดควบคุมไม่พบลักษณะผิดปกติดังกล่าว ส่วนลักษณะลำต้นที่โค้งงอพบในกลุ่มที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1.5% มากที่สุดคือ ประมาณ 21.4% และพบลักษณะดังกล่าวในกลุ่มชุดควบคุมด้วย แต่พบเพียง 2.2% ส่วนที่ความเข้มข้นอื่นไม่ปรากฏลักษณะนี้ ลักษณะใบหนาหยิกผิดรูปพบในกลุ่มที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1.5% มากที่สุด (35.7%) และพบน้อยที่สุดในกลุ่มที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.5% (21.7%) ในขณะที่ชุดควบคุมไม่พบลักษณะผิดปกติดังกล่าวเลย และลักษณะแผ่นใบม้วนงอ ก้านใบยาวและเล็กซึ่งพบเฉพาะในกลุ่มต้นกล้าที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 1.5% (3.6%) ส่วนที่ความเข้มข้นอื่นไม่ปรากฏ (ตารางที่ 8)

และเมื่อทำการเปรียบเทียบต้นกล้าที่ได้ผลจากสารโคลชิซินกับชุดควบคุมหลังเพาะเมล็ด 5 เดือน จากภาพที่ 10 พบว่า ต้นกล้าที่ได้รับผลจากสารโคลชิซิน (ข) จะมีการเจริญเติบโตของระบบรากช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับผลจากสารโคลชิซิน (ก) อย่างเห็นได้ชัด ทำให้มีการเจริญเติบโตทางลำต้นช้ากว่า จำนวนใบน้อยกว่า ใบมีขนาดเล็กกว่า

ตารางที่ 8 จำนวนต้นของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่เกิดลักษณะผิดปกติหลังทรีตด้วยสารโคลชิซิน ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ความเข้มข้น ของสาร โคลชิซิน(%)	จำนวนต้นที่ งอก (ต้น)	ลำต้นอวบอ้วน (ต้น)	การเจริญเติบโตช้า(ต้น)	ลำต้นโค้งงอ (ต้น)	ใบหนาหยิก (ต้น)
0	46	0 (0%)	0 (0%)	1 (2.2%)	0 (0%)
0.5	23	2 (8.7%)	2 (8.7%)	0 (0%)	5 (21.7%)
1.0	34	5 (14.7%)	5 (14.7%)	0 (0%)	5 (23.5%)
1.5	28	8 (28.6%)	8 (28.6%)	6 (21.4%)	10 (35.7%)
2.0	22	6 (27.3%)	6 (27.3%)	0 (0%)	7 (31.8%)

หมายเหตุ : แต่ละทรีตเมนต์มีจำนวน 50 เมล็ด



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

ภาพที่ 9 ลักษณะผิดปกติของต้นกล้ามะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ผ่านการทรีตเมนต์ในสารโคลชิซิน ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน (ศรีชี)

(ก) ลักษณะต้นกล้าที่โตช้า

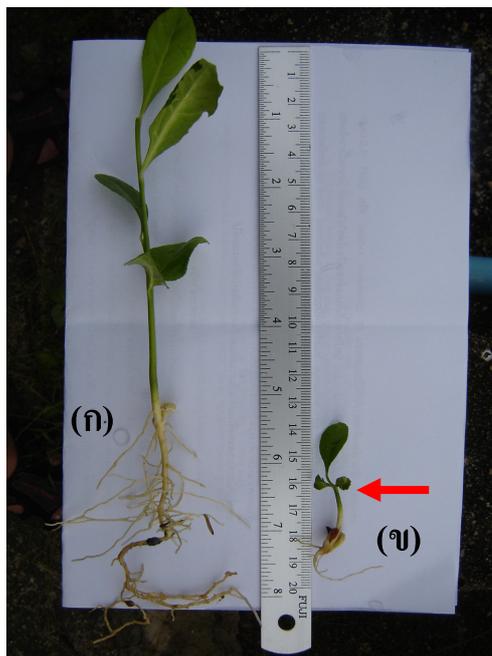
(ข) ลำต้นอวบอ้วน

(ค) ลำต้นโค้งงอและมีรอยบวม

(ง) ใบหนา

(จ) ใบหยิกงอ

(ฉ) ใบผิดปกติรูปร่างจากปกติ



ภาพที่ 10 เปรียบเทียบระบบรากและลำต้นของต้นกล้าปกติ (ก) กับต้นกล้าที่ได้รับผลจากสารโคลชิซินความเข้มข้น 1.0% (ข) (สรชี)

1.6 การหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี

เมื่อทำการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พบว่า ต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 2.0% และ 1.0% มีปริมาณคลอโรฟิลล์เท่ากันคือ 3.35 ไมโครกรัม/ตารางเซนติเมตร ส่วนต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 1.5 0.5 และ 0% มีปริมาณคลอโรฟิลล์ 3.07 2.85 และ 2.92 ไมโครกรัม/ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9) แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นจากทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่า ใบจากต้นในกลุ่มที่ได้รับสารโคลชิซินที่ 1.0 1.5 และ 2.0% มีบางต้นที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงมาก คือ อยู่ในช่วง 5.59-6.50 ไมโครกรัม/ตารางเซนติเมตร

ตารางที่ 9 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีที่สกัดได้จากมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรภายหลังทรีตสารโคลชิซิน 5 เดือน

ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (%)	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี (ไมโครกรัม/ตารางเซนติเมตร)
0	2.92 (2.30-3.43) ¹⁴
0.5	2.85 (2.15-3.56)
1.0	3.35 (2.38-5.59)
1.5	3.07 (2.26-5.96)
2.0	3.35 (2.34-6.50)
F-test	ns
C.V. (%)	22.15

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

¹⁴ ค่าต่ำสุดและสูงสุดของปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีในแต่ละทรีตเมนต์

1.7 การเปรียบเทียบความหนาแน่นและวัดขนาดของปากใบ

จากการนับความหนาแน่นปากใบของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรพบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยความหนาแน่นของปากใบจากใบของต้นชุดควบคุมมี 573.43 ปากใบ/พื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 1.0% มีความหนาแน่นปากใบ 544.36 ปากใบ/ตารางมิลลิเมตร ส่วนต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 1.5 0.5 และ 2.0% มีความหนาแน่นปากใบ 568.64 558.87 และ 555.82 ปากใบ/ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ส่วนขนาดปากใบของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรพบว่า ขนาดปากใบมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 2.0% มีขนาดปากใบใหญ่ที่สุดคือ 97.6 ไมโครเมตร ใบจากต้นชุดควบคุมมีขนาดปากใบเล็กที่สุด 70.4 ไมโครเมตร รองลงมาคือต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 1.0% มีขนาดปากใบ 80.6 ไมโครเมตร ตามด้วยต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 1.5% มีขนาดปากใบ 79.8 ไมโครเมตรและต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.5% มีขนาดปากใบเล็กที่สุดคือ 75.0 ไมโครเมตร (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบความหนาแน่นปากใบของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรภายหลังทริดสาร โคลชิซิน 5 เดือน

ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน (%)	ความหนาแน่นปากใบ (จำนวนปากใบ/ตารางมิลลิเมตร)
0	573.43 (544-590) ¹¹
0.5	558.87 (496-594)
1.0	544.36 (442-588)
1.5	568.64 (480-620)
2.0	555.82 (480-584)
F-test	ns
C.V. (%)	5.90

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

¹¹ ค่าต่ำสุดและสูงสุดของความหนาแน่นปากใบในแต่ละทริดเมนต์

ตารางที่ 11 ขนาดปากใบของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรภายหลังทริดสาร โคลชิซิน 5 เดือน

ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน (%)	ขนาดปากใบ (ไมโครเมตร)
0	70.4c (66.6-93.2) ¹¹
0.5	75.0bc (66.6-100.0)
1.0	80.6b (66.6-100.0)
1.5	79.8b (66.6-100.0)
2.0	97.6a (86.6-106.6)
F-test	**
C.V. (%)	12.92

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P = 0.01)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

¹¹ ค่าต่ำสุดและสูงสุดของขนาดปากใบในแต่ละทริดเมนต์

1.8 การนับจำนวนต่อมน้ำมัน

จากการนับจำนวนต่อมน้ำมันของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พบว่า จำนวนต่อมน้ำมันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นชุดควบคุมมีจำนวนต่อมน้ำมันมากที่สุด 27.0 ต่อม ส่วนต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 1.0% มีจำนวนต่อมน้ำมันน้อยที่สุด 23.39 ต่อม รองลงมาคือต้นที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 1.5% มีจำนวนต่อมน้ำมัน 25.32 ต่อม ตามด้วยต้นที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 2.0% มีจำนวนต่อมน้ำมัน 25.04 ต่อม และสุดท้ายคือต้นที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.5% มีจำนวนต่อมน้ำมัน 24.39 ต่อม (ตารางที่ 12)

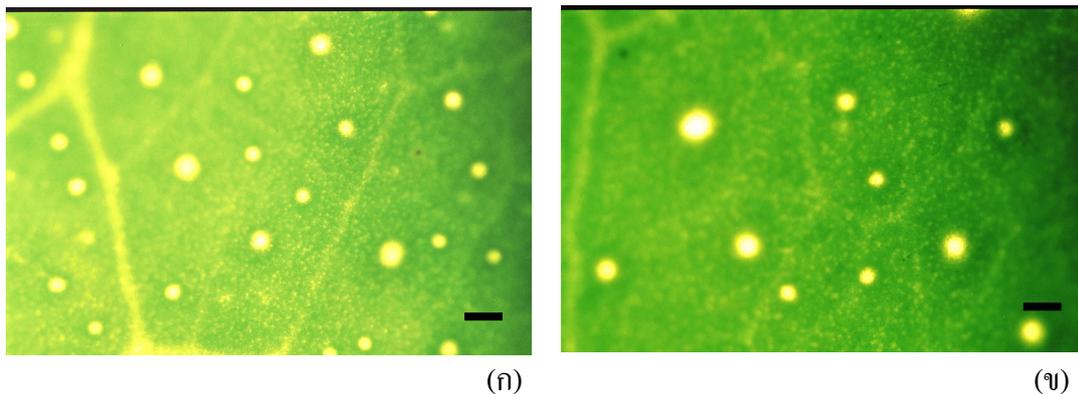
ตารางที่ 12 จำนวนต่อมน้ำมันของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์ภายหลังทรีตสาร โคลชิซิน 5 เดือน

ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน (%)	ปริมาณต่อมน้ำมัน (ต่อม) (ภายใต้พื้นที่ 9 ตารางมิลลิเมตร)
0	27.00a (20-33) ¹⁴
0.5	24.39ab (17-33)
1.0	23.39b (15-30)
1.5	25.32ab (17-35)
2.0	25.04a (14-33)
F-test	*
C.V. (%)	17.86

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P = 0.05)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

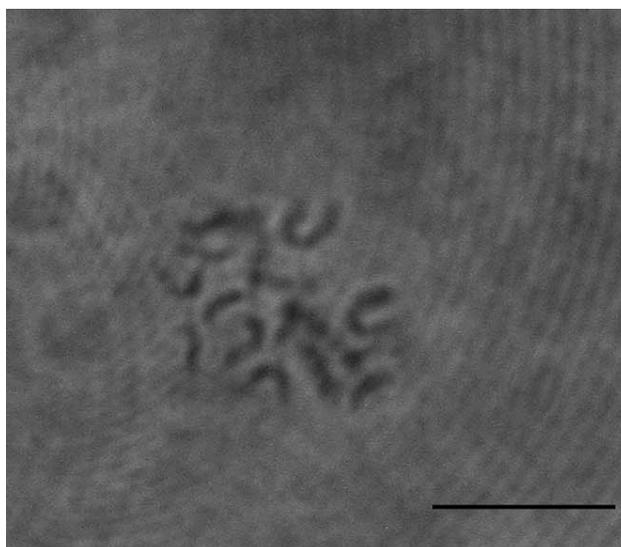
¹⁴ ค่าต่ำสุดของจำนวนต่อมน้ำมันในแต่ละทรีตเมนต์



ภาพที่ 11 แสดงลักษณะต่อมน้ำมันของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรภายหลังทริตสาร โคลชิซิน 5 เดือน (บาร์ = 5 ไมโครเมตร) (ก) คือ ต่อมน้ำมันของชุดควบคุม และ (ข) คือ ต่อมน้ำมันของต้นที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1.5%

1.9 การตรวจสอบจำนวนโครโมโซม

จากการนับจำนวนโครโมโซมของต้นกล้ามะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ได้จากการเพาะเมล็ด พบว่า ทุกต้นไม่ว่าจะทริตด้วยสาร โคลชิซินหรือไม่ทริตสาร (ชุดควบคุม) จำนวนโครโมโซมที่ตรวจนับมีจำนวนเท่ากันคือ 18 แท่ง (ภาพที่ 12)

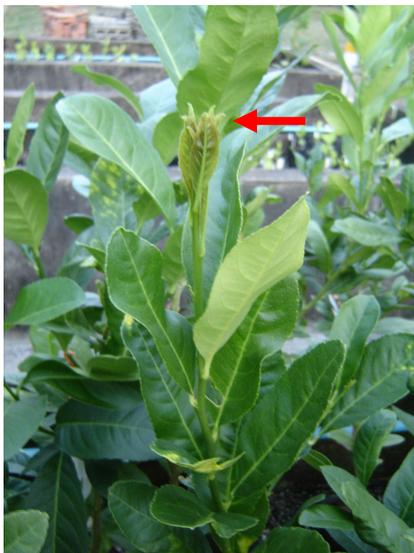


ภาพที่ 12 จำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรในระยะเมทาเฟส มีโครโมโซม 18 แท่ง (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

2. การทรีตสารโคลชิซินกับปลายยอดต้นกล้ามะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พร

2.1 ผลของสารโคลชิซินต่อการผลิยอดใหม่ของปลายยอด

จากการนำสารโคลชิซินมาทรีตปลายยอดอ่อนมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรด้วยความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังทรีตปลายยอดได้ 15 วัน ทำการตรวจนับปลายยอด พบว่า ปลายยอดมีการเจริญเติบโตได้ค่อนข้างน้อยแต่ยังคงมีชีวิตอยู่ หลังจากนั้นทำการตรวจสอบอีกครั้งที่อายุ 30 วันหลังทรีตปลายยอด พบว่า ปลายยอดสามารถเจริญเติบโตขึ้นได้ แต่พบว่า ปลายยอดบางส่วนตายซึ่งคาดว่าจะเป็นผลมาจากสารโคลชิซิน (ภาพที่ 13) จากการตรวจนับจำนวนยอดใหม่ที่มีการเจริญเติบโตหลังจากการทรีตสารโคลชิซินพบว่า ชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของปลายยอดสูงที่สุดคือ 88% มีจำนวนปลายยอดที่รอดชีวิต 22 ยอด จาก 25 ยอดที่ถูทรีต (ด้วยน้ำกลั่น) รองลงมาคือ ต้นที่ทรีตปลายยอดด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 1.5 0.5 1.0 และ 2% ตามลำดับ มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของปลายยอดคิดเป็น 40 32 28 และ 25% ตามลำดับ (ตารางที่ 13)



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 13 แสดงการเจริญเติบโตของปลายยอดหลังทรีตสารโคลชิซิน 30 วัน (ศรีชัย)

(ก) ลักษณะของยอดที่ใช้ในการทรีตสารโคลชิซิน

(ข) ลักษณะปลายยอดตายและหลุ่ร่วงหลังทรีตด้วยสารโคลชิซิน

(ค) ลักษณะปลายยอดที่ยังมีชีวิตหลังทรีตด้วยสารโคลชิซิน

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ทรีตด้วยสาร โคลชิซิน ที่ความเข้มข้นต่างกัน และจำนวนปลายยอดที่สามารถเจริญเติบโตทั้งหมด เมื่ออายุ 30 วันหลังทรีตสาร

ความเข้มข้นของ สารโคลชิซิน (%)	จำนวนยอดใหม่ (จาก 25 ยอด)	เปอร์เซ็นต์ ความอยู่รอดของปลายยอด(%)
0	22	88
0.5	8	32
1.0	7	28
1.5	10	40
2.0	6	25

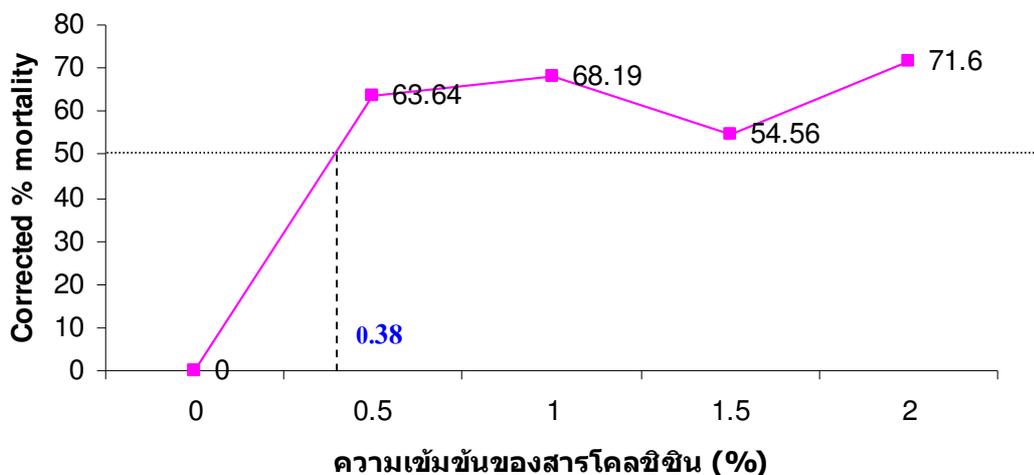
2.2 การหา LD₅₀ ของสารโคลชิซินจากการทรีตปลายยอดต้นกล้า

1. วิธี Typical sigmoid mortality ทำโดยหาค่า corrected % mortality จาก เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรเมื่ออายุ 30 วัน (ตารางที่ 13) ซึ่งอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินกับ corrected % mortality (ตารางที่ 14) และเมื่อเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดกับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินแสดงใน ภาพที่ 14

ตารางที่ 14 แสดงค่า corrected % mortality ของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรภายหลังทรีตสาร โคลชิซิน 30 วัน

ความเข้มข้นของ สารโคลชิซิน (%)	ความอยู่รอด* (%)	ความอยู่รอด (% ของ Control)	Corrected % mortality
0	88.00	100.00	0.00
0.5	32.00	36.36	63.64
1.0	28.00	31.81	68.19
1.5	40.00	45.44	54.56
2.0	25.00	28.40	71.60

*เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดนับจากจำนวนปลายยอดที่รอดตายเมื่ออายุ 30 วันหลังทรีตสาร



ภาพที่ 14 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรกับ ความเข้มข้นของสาร โคเลซิทิน

จากตารางที่ 14 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารโคเลซิทินที่ 2.0% มีค่า Corrected % mortality สูงที่สุดคือ 71.6 ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่น รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของสารโคเลซิทินที่ 1.0 และ 0.5 ตามลำดับ มีค่า Corrected % mortality อยู่ที่ 68.19 และ 63.64 ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 1.5 % มีค่า Corrected % mortality ต่ำที่สุดคือ 54.56 ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่น และจากความสัมพันธ์ ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารโคเลซิทินกับ เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดมาเขียนกราฟเพื่อหา LD_{50} ดังแสดงในภาพที่ 14 นั้น พบว่า ระดับความเข้มข้นของสาร โคเลซิทินที่ทำให้มะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรรอดตาย 50 เปอร์เซ็นต์เมื่ออายุ 30 วัน (LD_{50}^{30}) คือที่ระดับความเข้มข้นของสาร โคเลซิทิน 0.38%

2. กำหนดค่า LD_{50} จากสูตร Regression

พบว่า ระดับความเข้มข้นของสาร โคเลซิทินที่ทำให้ปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรรอดตาย 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออายุ 30 วัน จากสูตร Regression คือ ระดับความเข้มข้นของ สารละลายโคเลซิทินที่ 0.94% (ภาคผนวก)

ดังนั้นค่า LD_{50} ของความเข้มข้นสาร โคเลซิทินสำหรับการทรีตปลายยอดมีค่าอยู่ ระหว่าง 0.38-0.94%

2.3 การเจริญเติบโตของยอดใหม่

1. ความยาวยอดใหม่

ความยาวเฉลี่ยของปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรวัดเมื่ออายุครบ 15 วัน พบว่าความยาวที่ได้มีค่าค่อนข้างน้อยเนื่องจากการเจริญเติบโตช้า เมื่ออายุ 30 วันหลังทรีตสาร พบว่าปลายยอดของชุดควบคุมมีความยาวเฉลี่ย 7.25 เซนติเมตร รองลงมาคือ ปลายยอดที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 1.0 0.5 1.5 และ 2.0% ซึ่งมีความยาวยอดเฉลี่ย 6.5 4.75 3.72 และ 2.9 เซนติเมตร ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการวัดความยาวอีกครั้ง เมื่ออายุครบ 45 วันหลังทรีตสาร พบว่า ปลายยอดของชุดควบคุมมีความยาวเฉลี่ย 25.95 เซนติเมตร รองลงมาคือ ปลายยอดที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 2.0 1.5 1.0 และ 0.5% ซึ่งมีความยาวเฉลี่ย 16.0 11.8 11.14 และ 8.0 เซนติเมตร ตามลำดับ ที่อายุครบ 60 วันหลังทรีตสาร พบว่า ปลายยอดของชุดควบคุมมีความยาวของปลายยอดเฉลี่ย 35.9 เซนติเมตร รองลงมาคือ ปลายยอดที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 2.0 1.5 0.5 และ 1.0% ซึ่งมีความยาวเฉลี่ย 17.08 12.2 11.94 และ 11.71 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 15) จากผลดังกล่าวแสดงว่าสาร โคลชิซินทุกความเข้มข้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พร โดยเฉพาะเมื่อทำการวัดความยาวยอดในช่วง 45 และ 60 วันหลังการทรีตสาร โคลชิซิน ซึ่งมีการเจริญเติบโตน้อยกว่าชุดควบคุม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางที่ 15 ความยาวเฉลี่ยของปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ทำการวัดที่อายุ 30 45 และ 60 วันหลังทรีตสาร โคลชิซิน

ความเข้มข้นของ สาร โคลชิซิน (%)	ความยาวยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พร (เซนติเมตร)		
	30 วัน	45 วัน	60 วัน
0	7.25a	25.95a	35.90a
0.5	4.75abc	8.00c	11.94b
1.0	6.5ab	11.14bc	11.71b
1.5	3.72bc	11.80bc	12.20b
2.0	2.9c	16.00b	17.08b
F-test	*	**	**
C.V. (%)	57.21	34.69	52.88

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P = 0.05)

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P = 0.01)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

2. ความกว้างและความยาวของใบที่แตกใหม่

ทำการวัดความกว้างของใบมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรเมื่ออายุครบ 60 วันหลังทำการทรีตปลายยอดด้วยสาร โคลชิซิน พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างทรีตเมนต์ที่ทรีตด้วยสาร โคลชิซินทุกความเข้มข้นและชุดควบคุม โดยความกว้างใบของต้นชุดควบคุมมีค่า 4.86 เซนติเมตร ส่วนต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 1.5 2.0 1.0 และ 0.5% ซึ่งมีความกว้างของใบเฉลี่ย 4.69 4.08 3.54 และ 3.35 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 16)

ความยาวของใบมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรเมื่อมีอายุครบ 60 วันหลังทรีตสาร พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างทรีตเมนต์ที่ทรีตด้วยสาร โคลชิซินทุกความเข้มข้นและชุดควบคุม เช่นกับความยาวใบของต้นชุดควบคุมมีค่า 11.17 เซนติเมตร รองลงมาคือ ต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 2.0 1.5 1.0 และ 0.5% ซึ่งมีความยาวใบเฉลี่ย 9.15 8.70 7.45 และ 7.35 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 16 ความกว้างของใบจากปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ทรีดด้วยสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันเทียบกับชุดควบคุมเมื่ออายุ 60 วันหลังทรีดสาร

ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน(%)	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)
0	4.86
0.5	3.35
1.0	3.54
1.5	4.69
2.0	4.08
F-test	ns
C.V. (%)	28.99

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 17 ความยาวของใบจากปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ทรีดด้วยสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันเทียบกับชุดควบคุมเมื่ออายุ 60 วันหลังทรีดสาร

ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน (%)	ความยาวใบ (เซนติเมตร)
0	11.17
0.5	7.35
1.0	7.45
1.5	8.70
2.0	9.15
F-test	ns
C.V. (%)	26.93

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3. จำนวนใบ

ทำการนับจำนวนใบต่อยอดใหม่ที่แตกออกมาหลังการทรีตสาร โคลชิซินที่อายุ 60 วันหลังทรีตสาร พบว่า จำนวนใบจากชุดควบคุมมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุดคือ 18.5 ใบ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับจำนวนใบจากต้นที่ทรีตปลายยอดด้วยสาร โคลชิซินทุกความเข้มข้น โดยจำนวนใบจากต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 2.0 1.5 0.5 และ 1.0% มีจำนวนใบเฉลี่ย 9.5 6.9 6.62 และ 5.86 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 จำนวนของใบจากปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ทรีตด้วยสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันเทียบกับชุดควบคุมเมื่ออายุ 60 วันหลังทรีตสาร

ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน (%)	จำนวนใบ (ใบ/ต้น)
0	18.50a
0.5	6.62b
1.0	5.86b
1.5	6.90b
2.0	9.50b
F-test	**
C.V. (%)	47.86

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P = 0.01)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสมรค์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

2.4 การหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี

จากการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีจากใบมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ผ่านการทรีตสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยใบจากปลายยอดของชุดควบคุมมีปริมาณคลอโรฟิลล์ 2.20 ไมโครกรัม/ตารางเซนติเมตร รองลงมาคือ ปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบจากปลายยอดที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 1.5% มีปริมาณคลอโรฟิลล์ 2.01 ไมโครกรัม/ตารางเซนติเมตร ขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมของใบจากปลายยอดที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0% มีปริมาณ 1.07 1.97 และ 1.95 ไมโครกรัม/ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีที่สกัดได้จากปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินที่ ความเข้มข้นต่างๆ กันเทียบกับชุดควบคุมเมื่ออายุ 60 วันหลังทรีตสาร

ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน (%)	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี (ไมโครกรัม/ตารางเซนติเมตร)
0	2.20 (1.14-2.68) ¹⁴
0.5	1.07 (0.86-1.25)
1.0	1.97 (1.18-2.42)
1.5	2.01 (1.33-3.88)
2.0	1.95 (1.07-3.11)
F-test	ns
C.V. (%)	38.19

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

¹⁴ ค่าต่ำสุดและสูงสุดของปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีในแต่ละทรีตเมนต์

2.5 การเปรียบเทียบความหนาแน่นและวัดขนาดของปากใบ

จากการนับความหนาแน่นปากใบจากใบมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ผ่านการทรีตสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยใบจากปลายยอดของชุดควบคุมมีความหนาแน่นปากใบ 576.60 ปากใบ/ตารางมิลลิเมตร รองลงมาคือ ความหนาแน่นปากใบของใบจากปลายยอดที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 2.0% มีความหนาแน่นปากใบ 571.00 ปากใบ/ตารางมิลลิเมตร ขณะที่ความหนาแน่นปากใบรวมของใบจากปลายยอดที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5% มีความหนาแน่นปากใบ 460.17 456.00 และ 512.50 ปากใบ/ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 20)

ส่วนการวัดขนาดปากใบจากใบมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ผ่านการทรีตสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยใบจากปลายยอดของชุดควบคุมมีขนาดปากใบ 67.8 ไมโครเมตร ขณะที่ขนาดปากใบรวมของใบจากปลายยอดที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0% มีขนาดปากใบ 86.6 85.0 76.6 และ 86.6 ไมโครเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 20 ความหนาแน่นปากใบจากปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ที่รีดด้วยสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันเทียบกับชุดควบคุมเมื่ออายุ 60 วันหลังทรีดสาร

ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน (%)	ความหนาแน่นปากใบ (จำนวนปากใบ/ตารางมิลลิเมตร)
0	576.60 (520-630) ¹⁴
0.5	460.17 (410-575)
1.0	459.00 (395-590)
1.5	512.50 (352-630)
2.0	571.00 (405-625)
F-test	ns
C.V. (%)	16.25

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

¹⁴ ค่าต่ำสุดและสูงสุดของความหนาแน่นปากใบในแต่ละทรีดเมนต์

ตารางที่ 21 ขนาดปากใบจากปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ที่รีดด้วยสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันเทียบกับชุดควบคุมเมื่ออายุ 60 วันหลังทรีดสาร

ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน (%)	ขนาดปากใบ (ไมโครเมตร)
0	67.8 (66.6-73.2) ¹⁴
0.5	86.6 (66.6-113.2)
1.0	85.0 (66.6-100.0)
1.5	76.6 (60.0-100.0)
2.0	86.6 (66.6-113.2)
F-test	ns
C.V. (%)	20.16

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

¹⁴ ค่าต่ำสุดและสูงสุดของขนาดปากใบในแต่ละทรีดเมนต์

2.6 จำนวนต่อมน้ำมัน

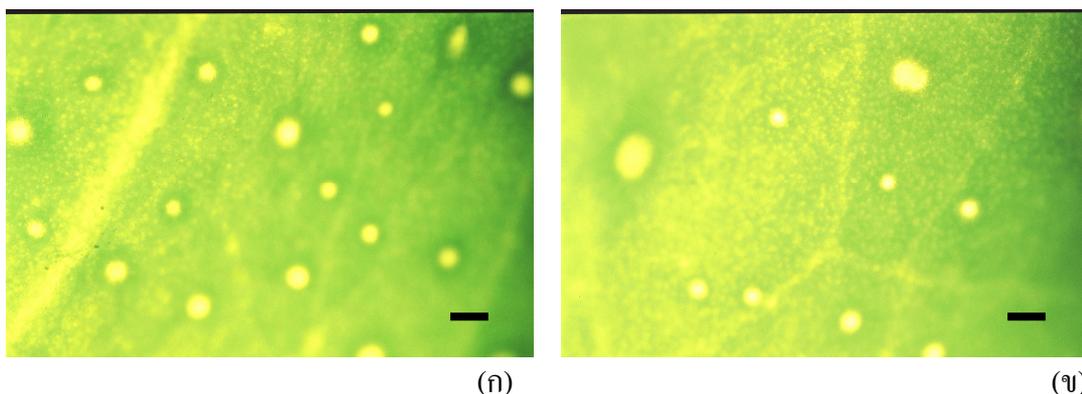
จากการนับจำนวนต่อมน้ำมันจากใบมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ผ่านการทรีตสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยใบจากปลายยอดของปลายยอดที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.5% มีจำนวนต่อมน้ำมัน 27.5 ต่อม รองลงมาคือ จำนวนต่อมน้ำมันของใบจากปลายยอดของชุดควบคุมมีจำนวนต่อมน้ำมัน 27.00 ต่อม ขณะที่จำนวนต่อมน้ำมันรวมของใบจากปลายยอดที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 1.0 1.5 และ 2.0% มีจำนวน 20.25 24.50 และ 25.83 ต่อม ตามลำดับ (ตารางที่ 22) และจากภาพที่ 15 แสดงลักษณะต่อมน้ำมันเปรียบเทียบระหว่างต้นจากปลายยอดของชุดควบคุมกับตัวอย่างต้นจากปลายยอดที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 1.0% ที่มีการเพิ่มของชุดจำนวนโครโมโซมเกิดลักษณะมิกโซพลอยด์ พบว่า ต้นมิกโซพลอยด์ที่ความเข้มข้น 1.0% นี้มีจำนวนต่อมน้ำมันน้อยกว่าชุดควบคุมในขนาดพื้นที่เท่ากัน แต่มีขนาดของต่อมใหญ่กว่า

ตารางที่ 22 จำนวนต่อมน้ำมันจากปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ กันเทียบกับชุดควบคุมเมื่ออายุ 60 วันหลังทรีตสาร

ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (%)	ปริมาณต่อมน้ำมัน (ต่อม) (ภายใต้พื้นที่ 9 ตารางมิลลิเมตร)
0	27.00 (23-32) ¹⁴
0.5	27.50 (14-38)
1.0	20.25 (10-35)
1.5	24.50 (21-30)
2.0	25.83 (22-32)
F-test	ns
C.V. (%)	25.71

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

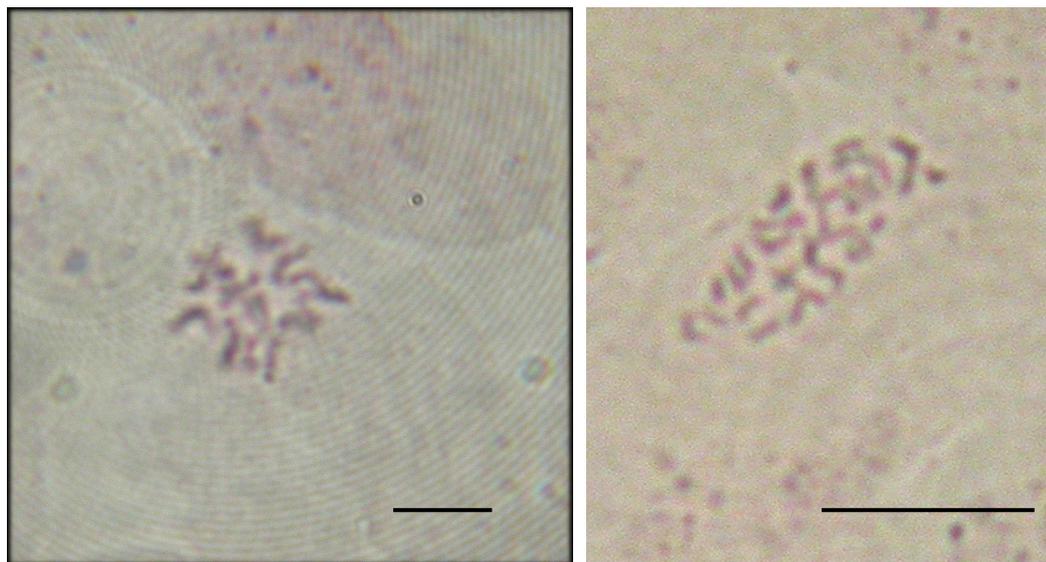
¹⁴ ค่าต่ำสุดและสูงสุดของจำนวนต่อมน้ำมันในแต่ละทรีตเมนต์



ภาพที่ 15 แสดงลักษณะต่อมน้ำมันของปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พร ภายหลังทรีตสารโคลชิซิน 60 วัน (บาร์ = 5 ไมโครเมตร) (ก) คือ ต่อมน้ำมันของ ชูดควบคุม และ (ข) คือ ต่อมน้ำมันของปลายยอดที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1.0%

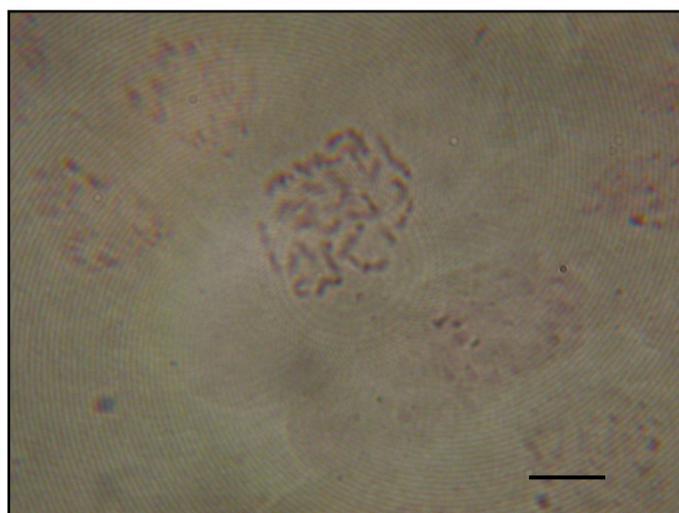
2.7 การตรวจสอบจำนวนโครโมโซม

ตัดปลายยอดที่ผ่านการทรีตสารโคลชิซินไปปักชำเพื่อให้สร้างรากใหม่ และนำรากดังกล่าวมาตรวจสอบจำนวนโครโมโซม พบว่า รากจากปลายยอดที่ได้รับสารละลายโคลชิซินทุกความเข้มข้นรวมทั้งต้นชูดควบคุมมีจำนวนโครโมโซม 18 แท่ง เหมือนเดิม ยกเว้น 2 ต้น จากความเข้มข้น 1.0 และ 2.0% อย่างละ 1 ต้น ที่มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมดังนี้ ที่ความเข้มข้น 1.0% มีจำนวนโครโมโซม 18 แท่ง (ภาพที่ 16ก) 22.0% โครโมโซม 27 แท่ง (ภาพที่ 16ข) 28.0% และ โครโมโซม 36 แท่ง (ภาพที่ 16ค) 50% ซึ่งลักษณะดังกล่าวเรียกว่า มิกโซพลอยด์ ส่วนปลายยอดที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 2.0% พบว่า มีจำนวนโครโมโซม 18 แท่ง 75.0% และโครโมโซม 36 แท่ง 25% ตัวอย่างมิกโซพลอยด์ที่มีจำนวนโครโมโซมแบบทริพลอยด์และเตตระพลอยด์ ดังแสดงในภาพที่ 17 เมื่อทำการเปรียบเทียบลักษณะต่างๆ ของต้นมิกโซพลอยด์ทั้งสองต้นกับชูดควบคุม พบว่า ต้นมิกโซพลอยด์ทั้งสองมีต่อมน้ำมัน ปริมาณคลอโรฟิลล์ ความยาวยอดใหม่ ความกว้างใบ ความยาวใบ และความหนาแน่นปากใบน้อยกว่าชูดควบคุม แต่ขนาดปากใบใกล้เคียงกับชูดควบคุม ดังตารางที่ 23



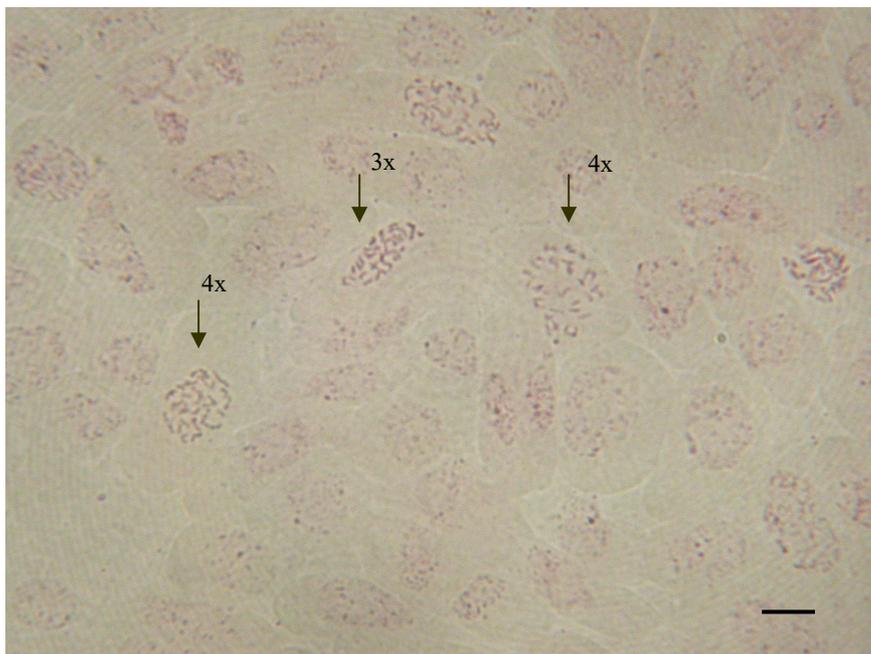
(ก)

(ข)



(ค)

ภาพที่ 16 จำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรในระยะเมทาเฟส
 มีโครโมโซม 18 แท่ง (ก) โครโมโซม 27 แท่ง (ข) และโครโมโซม 36 แท่ง (ค)
 (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)



ภาพที่ 17 แสดงลักษณะการกระจายตัวของโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของต้นมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พรที่เกิดมิกโซพลอยด์โดยทรีตด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 1% (สรชี) (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

ตารางที่ 23 แสดงผลเปรียบเทียบระหว่างต้นมิทโซพลอยด์กับต้นดิพลอยด์

ลักษณะที่ศึกษา	ปลายยอดที่ไม่ได้รับ สารโคลชิซิน	ต้นมิทโซพลอยด์ (โคลชิซิน 1%)	ต้นมิทโซพลอยด์ (โคลชิซิน 2%)	F-test	C.V. (%)
ความหนาแน่นปากใบ (ปากใบ/ตร.มม.)	576.60a	395.00b	405.00b	**	7.67
ขนาดปากใบ (μm)	67.80	66.60	67.20	ns	3.13
ต่อน้ำมัน (ต่อม)	27.00a	10.00c	20.00b	**	14.46
ปริมาณคลอโรฟิลล์ (μg)	2.20a	1.18b	1.10b	*	28.34
ความกว้างของใบ (ซม.)	4.95a	4.67b	4.00c	**	3.22
ความยาวของใบ (ซม.)	11.17a	11.67a	9.50b	**	4.26
จำนวนใบ (ใบ)	18.50	12.00	5.00	-	-
ความยาวยอดใหม่ (ซม.)	35.90	30.50	11.00	-	-

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P = 0.05$)

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P = 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน ในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

- ไม่ได้คำนวณค่าความแตกต่างทางสถิติ

2.8 ลักษณะผิดปกติของปลายยอดที่อาจเกิดจากผลของสารโคลชิซิน

พบลักษณะผิดปกติกับปลายยอดซึ่งอาจเป็นผลมาจากการได้รับสาร โคลชิซินเช่น ไบฮิกพิครูป ไบค่าง เป็นต้น (ภาพที่ 18)



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 18 ลักษณะผิดปกติของปลายยอดที่ได้รับสารโคลชิซิน (สรชี)

(ก) ไบฮิกพิครูป

(ข) ไบค่าง

(ค) ปลายยอดที่มีใบล่างหยิกงอผิดปกติแต่ส่วนบนของกิ่งเป็นปกติ

ตารางที่ 24 แสดงการเกิดลักษณะผิดปกติของปลายยอดมะนาวฝรั่งพันธุ์พิมพ์พร หลังทรีตด้วยสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ความเข้มข้น ของสาร โคลชิซิน (%)	ปลายยอดที่ ผลิยอดใหม่ (ต้น)	ใบหยิกและหนา (%)	ใบด่าง (%)	ใบล่างของกิ่งหยิกงอแต่ใบ บนของกิ่งเป็นปกติ (%)
0	22	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
0.5	8	6 (75.0%)	5 (62.5%)	3 (37.5%)
1.0	7	6 (86.0%)	7 (100.0%)	4 (57.1%)
1.5	10	10 (100.0%)	10 (100.0%)	6 (60.0%)
2.0	6	3 (50.0%)	2 (33.3%)	1 (16.7%)

หมายเหตุ : แต่ละทรีตเมนต์มีจำนวน 25 ปลายยอด

จากตารางที่ 24 พบว่า ทุกปลายยอดที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้น 1.5% แสดงอาการใบหยิก ตามด้วยปลายยอดที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้น 1.0 0.5 และ 2.0% พบลักษณะใบหยิก 86.0 75.0 และ 50.0% ตามลำดับ ลักษณะใบด่าง พบว่า ปลายยอดที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้น 1.0 และ 1.5% ทุกปลายยอดปรากฏลักษณะใบด่าง ตามด้วยปลายยอดที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.5 และ 2.0% พบใบด่าง 62.5 และ 33.3% ตามลำดับ สำหรับลักษณะ ใบล่างหยิกงอพบมากที่สุดคือ ปลายยอดที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้น 1.5% แสดงอาการนี้ 60% ตามด้วยปลายยอดที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้น 1.0 0.5 และ 2.0% พบใบหยิก 57.1 37.5 และ 16.7% ตามลำดับ ส่วนปลายยอดของชุดควบคุมไม่ปรากฏลักษณะผิดปกติใดๆ ที่กล่าว มาแล้วข้างต้น