บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาชนิดของถั่วเพื่อใช้ในการทำกราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินโดยวิธี Beans Hypocotyl Bioassay พบว่าถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 เหมาะสมที่จะใช้ในการทำกราฟมาตรฐานโดยมีค่า C.V. เท่ากับ 5.79 % (Transform ด้วย $\sqrt{W}$) และ C.V. ที่ยังไม่ได้ Transform เท่ากับ 11.31% ผลการวิเคราะห์ standard curve ได้ช่วง linear ที่ความเข้มข้น $5x10^{-5}$-$5x10^{-3}$ สตล (เมื่อตรวจสอบด้วย polynomial contrast) (ตารางภาคผนวกที่ 1.1.5) ซึ่งผลการทดลองที่ได้ใกล้เคียงกับผลการทดลองของ ดรุณี (2539) ซึ่งใช้วิธีการใกล้เคียงกันที่สามารถวัดปริมาณไซโตไคนินได้ช่วงที่เป็น linear ที่ความเข้มข้น $5x10^{-5}$-$5x10^{-2}$ สตล และใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Manos and Goldthwaite (1976) ซึ่งใช้วิธีการเดียวกันแต่ใช้ zeatin ทำเป็น standard curve และ สามารถวัดความเข้มข้นไซโตไคนินได้ที่ความเข้มข้น $1x10^{-4}$ - $2.19x10^{-1}$ สตล วิธีการนี้ใช้เวลาเพียง 13 วัน จึงเป็นวิธีทำ Cytokinin Bioassay อีกวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพดี แต่ก็มีข้อเสีย คือ มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อของอาหารในการทดลอง ซึ่งจะต้องทำในสภาพปลอดเชื้อและจะต้องเพิ่มจำนวนซ้ำในการทดลองเพื่อป้องกันความเสียหายที่เกิดจากการ contaminate นอกจากวิธีนี้แล้วยังมีวิธี Cucumber Cotyledon Bioassay อีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจเพราะใช้เวลาเพียง 5 วัน และสามารถวัดปริมาณต่ำสุดได้ $1x10^{-4}$ สตล (Fletcher *et al*., 1982) ดังนั้น จึงน่าจะพัฒนาเทคนิคและหาพันธุ์แตงที่เหมาะสมในการทำ Cucumber Cotyledon Bioassay และเปรียบเทียบกับวิธี Soybean Hypocotyl Bioassay ถ้าหากวิธีการ Cucumber Cotyledon Bioassay สามารถวัดได้ต่ำกว่าหรือเท่ากับ $5x10^{-5}$ สตล ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ เพราะไม่ต้องเสี่ยงกับปัญหาการ contaminate และใช้ระยะเวลาในการทดสอบสั้นกว่า นอกจากนี้การทำ standard curve ในการทดลองครั้งนี้ใช้ kinetin เพื่อต้องการเปรียบเทียบกับงานทดลองของ ดรุณี (2539) ซึ่งใช้ kinetin เป็น standard curve เช่นเดียวกัน ในขณะที่ Manos and Goldthwaite (1976) ใช้ zeatin ในการทำ standard curve

การศึกษาจำนวนวันที่เหมาะสมที่ใช้ในการบ่มถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 พบว่า สำหรับถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 คือ 13 วัน (ตารางที่ 9) ซึ่งในผลการทดลองของ ดรุณี (2539) ก็ใช้ระยะเวลาในการบ่มถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 13 วัน เช่นกัน ในขณะที่การทดลองของ Manos and Goldwaite (1976) ใช้ระยะเวลาในการบ่มถั่วเหลืองพันธุ์ Kanrich และพันธุ์ Kim ที่ 9 ถึง 13 วัน ตามลำดับ ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปควรใช้เวลาบ่ม 15 วัน โดยเผื่อไว้อีก 2 วัน เพื่อป้องกันปัญหาการ contaminate

การศึกษาอิทธิพลของเวลาที่แตกต่างในการทำกราฟมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้าย ไซโตไคนินโดยวิธี Soybean Hypocotyl Bioassay พบว่า ช่วงระยะเวลาในการทำกราฟมาตรฐานที่ต่างกันไม่ทำให้น้ำหนักสดของ hypocotyl ต่างกัน (ตารางที่ 10) ในขณะที่โรจน์รวี (2539) พบว่า การทำกราฟมาตรฐานโดยวิธี Radish Cotyledon Bioassay แต่ละช่วงทำให้กราฟที่ได้แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะวิธี Radish Cotyledon Bioassay มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในการทดลอง เช่น อุณหภูมิ และความชื้น ดังนั้นการทำ Radish Cotyledon Bioassay จะต้องทำกราฟมาตรฐานควบคู่ไปกับการทดลองทุกครั้ง ซึ่งจะทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการทำการทดลองสูง ส่วนวิธี Soybean Hypocotyl Bioassay ไม่จำเป็นต้องทำกราฟมาตรฐานควบคู่ไปทุกครั้งกับการวิเคราะห์ซึ่งจะทำให้ประหยัดเวลาและทรัพยากร

การศึกษาขนาดหน่วยการทดลองในการทำกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินโดยวิธี Soybean Hypocotyl Bioassay พบว่า จำนวนชิ้น hypocotyl 8 ชิ้น ต่อหนึ่งหน่วยการทดลองเป็นขนาดที่เหมาะสม โดยมีค่า C.V. เท่ากับ 13.97 % ซึ่งเป็นบริเวณที่กราฟมีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด (ตารางที่ 11 , 12) โดย สุรพล (2537) กล่าวว่า การหาขนาดของหน่วยการทดลองที่เหมาะสมจะพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (C.V.) ที่มีเส้นกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด (point of maximum curvature) ทั้งนี้ ครุณี (2539) ได้ใช้ขนาดของ hypocotyl จำนวน 6 ชิ้น ต่อหนึ่งหน่วยการทดลอง ในการวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ายไซโตไคนิน พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (C.V.) ประมาณ 30% (ข้อมูลไม่ได้ Transform) ซึ่งเป็นค่า C.V. ที่สูงและทำให้ผลการทดลองไม่น่าเชื่อถือ เพราะค่า C.V. เป็นตัวบ่งชี้ความแปรปรวนในการทดลอง หากเลือกขนาดของหน่วยการทดลองที่เหมาะสมจะทำให้ค่า C.V. ลดลง ดังนั้น ในการทำ Soybean Hypocotyl Bioassay จึงควรใช้จำนวนชิ้น hypocotyl 8 ชิ้น ต่อหนึ่งหน่วยการทดลอง แต่การทำ Soybean Hypocotyl Bioassay มีปัญหาเรื่องการ contaminate ดังนั้นจึงควรเพิ่มจำนวนชิ้น hypocotyl เผื่อเป็น 10 ชิ้น เพื่อลดความเสี่ยงต่อปัญหา contaminate นอกจากนี้ควรมีการศึกษาส่วนบน ส่วนกลาง และส่วนล่างของ hypocotyl ว่าส่วนไหนมีการตอบสนองต่อความเข้มข้นของไคเนตินได้ดีกว่ากัน และความยาวของชิ้น hypocotyl 1 มิลลิเมตร อาจยังไม่ใช่ความยาวที่เหมาะสม ดังนั้น ควรศึกษาว่าต้องใช้ความยาว hypocotyl 1 2 หรือ3 มิลลิเมตร จึงจะเหมาะสม

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินช่วงก่อนการออกดอกในยอดลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย พบว่า ปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินจะมีปริมาณต่ำในสัปดาห์ที่ 8 (ภาพที่ 16) ซึ่งยังไม่เกิด flower initiation และคงที่ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 6 (ภาพที่ 17) ในขณะที่มี flower initiation ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี microtome section) และจะเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4

(ภาพที่ 18) มี 20 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มขึ้นไปจนถึงสัปดาห์ที่ 2 (ภาพที่ 19) มี 40 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจะคงที่ไปจนถึงสัปดาห์ที่ออกดอกเมื่อมองเห็นด้วยตาเปล่า (ภาพที่ 20) มี 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลการทดลองใกล้เคียงกับของ ดรุณี (2539) ที่ศึกษาปริมาณสารคล้ายไซโตไคนิน ในยอดลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยก่อนการออกดอกและแตกใบอ่อน พบว่า ปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินจะมีปริมาณต่ำในสัปดาห์ที่ 9 ก่อนการออกดอกและแตกใบอ่อนแต่จะเพิ่มขึ้นสัปดาห์ที่ 7 และจะคงที่ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 5 และจะเพิ่มขึ้นอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 3 ก่อนการออกดอกและแตกใบอ่อน อย่างไรก็ตามในการทดลองของโรจน์รวี (2538) พบว่าปริมาณสารคล้าย ไซโตไคนินในยอดลำไยพันธุ์ดอเพิ่มขึ้นในช่วงก่อนการแตกใบอ่อน แต่ไม่สามารถวัดปริมาณ ไซโตไคนินช่วงก่อนการออกดอก แสดงว่าการแตกใบอ่อนอาจมีปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินสูงกว่าในช่วงออกดอก

อีกทั้งยังไม่ได้มีการตัด microtome section เพื่อตรวจสอบระยะที่เกิด flower initiation ซึ่งทำให้ไม่ทราบลักษณะทางกายวิภาคที่แท้จริงและไม่สามารถมองเห็นได้ด้วย ตาเปล่าเพื่อกำหนดระยะเวลาการเก็บตัวอย่างและทราบถึงเปอร์เซ็นต์การออกดอก ดังนั้น การทดลองในครั้งนี้จึงมีการศึกษาทางกายวิภาคเพิ่มเติมเพื่อให้ทราบช่วง flower initiation โดยการตรวจสอบด้วยวิธี microtome section พบช่วง flower initationในสัปดาห์ที่ 6 ก่อนการออกดอกที่มองเห็นด้วยตา แต่มีปริมาณไม่มากประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ และจะมีเพิ่มมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 ก่อนการออกดอกประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ทำโดยเปอร์เซ็นต์การออกดอกที่เพิ่มขึ้นจะมีปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินเพิ่มขึ้นไปจนถึงสัปดาห์ที่ 2 ก่อนการ ออกดอก และจะคงที่ไปจนถึงสัปดาห์ที่ออกดอก เช่นเดียวกับ Chen(1991) ที่ได้มีการศึกษาโดยใช้วิธี microtome section เพื่อกำหนดเวลา flower bud initiation ดังนั้น ในการเก็บตัวอย่างครั้งต่อไปควรเก็บตัวอย่างก่อนวันที่ 14 ธันวาคม ประมาณ 3-4 สัปดาห์เพราะเป็นระยะก่อน flower initiation นอกจากการศึกษา endogenous hormone แล้วยังมีการศึกษาการใช้ plant growth regulator (PGR) เพื่อกระตุ้นการออกดอก Napier *et al.* (1986) ได้ทดลองพ่น benzyladenine ให้กับ *Leucospermum* พบว่า benzyladenine สามารถเพิ่มการออกดอกและจำนวนดอกมากขึ้น และ Faroogi *et al* (1994) รายงานว่า การพ่น ไคเนตินที่ 10 สตล สามารถเพิ่มจำนวนดอก ส่วน GA_3 จะยับยั้งการเกิดดอกในกุหลาบ ดังนั้น จะเห็นได้ว่าสมมติฐานสมดุลย์ของฮอร์โมนจึงน่าจะเป็นปัจจัยหลักในการออกดอกของพืช