

2.2 *Oncidium* Gower Ramsey

2.2.1 การทดลองย่อยที่ 1

การเพาะเลี้ยง PLBs ในอาหารสูตร VW ที่ดัดแปลงโดยใช้น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ Ribavirin นาน 9 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารทุกสัปดาห์ หรือ DTU นาน 90 วัน โดยเปลี่ยนอาหารทุก 10 วัน พบว่า PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin เข้มข้น 0.075 มิลลิโมลาร์ นาน 1 สัปดาห์ มีสีเขียวอ่อนซีด ขณะที่ PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีด ส่วน PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.125 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีดอมเหลืองเล็กน้อย สำหรับ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนซีดถึงซีดมากบางก้อนมีสีอมเหลืองถึงเกือบเป็นสีขาว (ภาพที่ 9)

หลังจากเพาะเลี้ยง PLBs ในอาหารซึ่งมี Ribavirin เข้มข้น 0.075 มิลลิโมลาร์ นาน 2 สัปดาห์ PLBs มีสีเขียวอ่อนซีดถึงมีสีอมเหลือง ขณะที่ PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี Ribavirin เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนซีดอมเหลือง บางก้อนมีสีเขียวแต่ผิว PLBs มีลักษณะด้านเล็กน้อย ส่วน PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งมี Ribavirin เข้มข้น 0.125 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีดอมเหลืองเล็กน้อยและเริ่มมีสีคล้ำ ผิวเริ่มมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นเล็กน้อย สำหรับ PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี Ribavirin เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนซีดถึงซีดมาก บางก้อนมีสีอมเหลืองถึงเกือบเป็นสีขาว บางก้อนเริ่มสร้างยอดแหลมขนาดเล็ก ผิวเริ่มมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นเล็กน้อย (ภาพที่ 9)

หลังจากเพาะเลี้ยง PLBs ในอาหารซึ่งมี Ribavirin เข้มข้น 0.075 มิลลิโมลาร์ นาน 3 สัปดาห์ มีสีเขียวซีดอมเหลือง บางก้อนมีสีซีดมากเกือบขาวหรือสีขาวนวล ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นเล็กน้อย ขณะที่ PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี Ribavirin เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีดอมเหลือง บางก้อนที่ผิว PLBs มีลักษณะด้าน บางก้อนมีสีเขียวอ่อนซีดถึงเกือบเป็นสีขาว เริ่มมีอาการคล้ายน้ำฝ้า ผิวมีกระเกิดสีน้ำตาลขึ้นเล็กน้อย สำหรับ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งมี Ribavirin เข้มข้น 0.125 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีดอมเหลือง บางก้อนมีสีคล้ำจนเกือบเป็นสีน้ำตาล ผิวและร่องระหว่างก้อนย่อยมีกระสีน้ำตาลและคราบสีน้ำตาลเคลือบที่ผิว ส่วน PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งมี Ribavirin เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนซีดมาก บางก้อนมีสีอมเหลืองจนเกือบ

สีขาว และปนกับ PLBs ที่มีสีน้ำตาลบางก้อน บางก้อนที่มียอดแหลมขนาดเล็กเริ่มมีสีน้ำตาล บางก้อนมีสีคล้ำถึงสีน้ำตาล ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลาง (ภาพที่ 9)

หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 4 ถึง 5 สัปดาห์ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.075 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีดมาถึงสีเขียวซีดอมเหลืองหรืออมเขียวเล็กน้อย บางก้อนชัดเจนขนาดแต่เริ่มมีการสร้าง C_1 -PLBs เพิ่มขึ้น จากก่อนที่ยังคงมีสีเขียว ก้อนย่อยมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วน PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนซีดมากจนเกือบเป็นสีขาว แต่ PLBs ก้อนแม่ซึ่งมีผลรอยตัด ยังคงมีสีเขียวอยู่ และพบร่องระหว่างก้อนย่อยมีสีน้ำตาลเล็กน้อย สำหรับ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.125 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีดมากจนเกือบเป็นสีขาว บางก้อนเริ่มมีสีน้ำตาล ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลางถึงมากและร่องระหว่างก้อนย่อยมีสีน้ำตาล ขณะที่ PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีดอมเหลืองจนถึงเกือบขาว บางก้อนเริ่มคล้ำจนเป็นสีน้ำตาล ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลางถึงมาก (ภาพที่ 9) เมื่อ PLBs เกิดอาการ phytotoxic หลังจากได้รับ Ribavirin นาน 5 สัปดาห์ จึงทำการย้าย PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin ทุกความเข้มข้นไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม Ribavirin แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะของ PLBs และการสร้าง C_1 -PLBs ต่อไป

หลังจากย้าย PLBs ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ 1 สัปดาห์ พบว่า PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.075 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนค่อนข้างซีดถึงซีดมากเกือบขาว บางก้อนมีสีอมสีเหลืองเล็กน้อย ผิวมีกระสีน้ำตาลเล็กน้อยถึงปานกลาง บางก้อนมีอาการน้ำนํ้าเล็กน้อยและเริ่มมีสีคล้ำ บางก้อนมีลักษณะสีเขียวมีการสร้าง C_1 -PLBs เพิ่มมากขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วน PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนอมเหลืองค่อนข้างซีด บางก้อนมีสีเขียวซีดอมเหลืองถึงซีดมากเกือบขาว มีอาการน้ำนํ้าเล็กน้อย ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลางถึงมาก บางก้อนมีสีคล้ำ ขณะที่ PLBs ซึ่งเคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin เข้มข้น 0.125 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนซีดเกือบขาว บางก้อนมีอาการน้ำนํ้า บางก้อนเริ่มมีสีคล้ำและมีสีน้ำตาล ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลางถึงมาก ที่ผิวมีคราบสีน้ำตาลเคลือบด้วย สำหรับ PLBs ซึ่งเคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอมเหลืองซีดบางส่วนปนสีเขียวเล็กน้อย บางก้อนมีสีเขียวซีดเกือบขาวปนเหลืองเล็กน้อย หลายก้อนมีสีน้ำตาล บางก้อนมีอาการน้ำนํ้าและมีฝ้า ฝ้า ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลางถึงมาก ยังไม่มีการสร้าง C_1 -PLBs

หลังจากเพาะเลี้ยง PLBs ได้ 7 สัปดาห์ พบว่า PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.075 มิลลิโมลาร์ ยังคงมีสีเขียวอ่อนถึงเขียวอมเหลืองซีดเล็กน้อย บางก้อนมีสีน้ำตาล ขณะนี้ PLBs ซึ่งเคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนอมเหลืองบางก้อนมีสีเขียวอ่อนซีดมากจนอมสีเทาอ่อน บางก้อนมีผิวหนัง และบางก้อนมีสีน้ำตาลอมเขียว ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลางถึงมาก ส่วน PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.125 มิลลิโมลาร์ บางก้อนมีสีขาวซีดอมน้ำตาล บางก้อนมีสีน้ำตาลอมเหลืองจนถึงสีน้ำตาลและมีอาการฉ่ำน้ำ สำหรับ PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนอมเหลือง บางก้อนมีสีเขียวอ่อนซีดมากจนเกือบขาว บางก้อนมีสีน้ำตาลอมเหลืองซีด บางก้อนมีน้ำตาลและมีอาการคล้ายฉ่ำน้ำ ผิวมีคราบสีน้ำตาลซีดเคลือบ และมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นมาก (ภาพที่ 9)

หลังจากเพาะเลี้ยง PLBs ได้นาน 8 สัปดาห์ โดยย้าย PLBs ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ 3 สัปดาห์ พบว่า PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.075 มิลลิโมลาร์ บางก้อนเริ่มกลับมาสีเขียวอ่อนค่อนข้างสดใสมากขึ้น บางก้อนยังคงมีสีเขียวอมเหลืองอยู่ ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลาง เริ่มมีการสร้าง C₁-PLBs ส่วน PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเหลืองอมเขียว บางก้อนมีสีเขียวอ่อนซีดถึงซีดมาก และบางก้อนมีผิวหนังและมีคราบสีน้ำตาลเคลือบที่ผิว บางก้อนมีสีน้ำตาล บางก้อนย่อยสร้างยอดและใบแหลมขนาดเล็ก เริ่มมีการสร้าง C₁-PLBs ขณะที่ PLBs ซึ่งเคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin เข้มข้น 0.125 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวหรือเขียวอ่อนอมเหลืองซีดถึงซีดมากจนเกือบเป็นสีขาว บางก้อนมีสีน้ำตาล และบางก้อนมีสีเหลืองอมเขียวอ่อนถึงเขียวซีด ปนน้ำตาลถึงสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลซีดและมีก้อนสีน้ำตาลเกิดขึ้น ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลางถึงมาก สำหรับ PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีสีเหลืองอมเขียวถึงเขียวซีด บางก้อนมีสีเหลืองอมน้ำตาลซีด และบางก้อนมีสีน้ำตาล ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลางถึงมาก และไม่มีการสร้าง C₁-PLBs (ภาพที่ 9)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 9 หลังจากย้าย PLBs ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ 4 สัปดาห์ พบว่า PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.075 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนสดใสแต่บางส่วนค่อนข้างซีด บางก้อนมีสีเขียวอมเหลืองซีด บางก้อนมีสีเขียวอมสีน้ำตาล ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นเล็กน้อยถึงปานกลาง บางก้อนย่อยมีการสร้างยอดแหลม มีการสร้าง C₁-PLBs เพิ่มขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วน PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin

เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนซีดอมเหลืองซีด บางก้อนมีอาการคล้ายจำนำ บางก้อนมีสีคล้ำจนเกือบมีสีน้ำตาลอ่อน PLBs ย่อยมีสีเขียวอ่อนค่อนข้างซีดจนเกือบมีสีเหลือง บางก้อนย่อยมีการสร้างยอดและใบแหลมขนาดเล็ก ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลาง สำหรับ PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin เข้มข้น 0.125 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนอมเหลืองซีดมาก บางก้อนซีดมากจนเกือบเป็นสีขาวนวล บางก้อนมีลักษณะด้านและเกือบมีสีน้ำตาล มีบางก้อนมีสีน้ำตาล ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลางถึงมาก เริ่มมีการสร้าง C₁-PLBs จาก PLBs ที่มีสีเขียวอ่อนซีดบางก้อนเท่านั้น ขณะที่ PLBs ซึ่งเคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีสีเหลืองอมเขียวซีด บางก้อนมีสีเหลืองนวลจนเกือบขาวซีด บางก้อนมีสีเขียวอ่อนค่อนข้างซีดและมีลักษณะด้าน PLBs ส่วนใหญ่มีสีน้ำตาล ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นมาก และยังไม่มีการสร้าง C₁-PLBs (ภาพที่ 9)

เมื่อวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิตของ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin นาน 5 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ไม่เติม Ribavirin ต่อไปจนครบ 9 สัปดาห์ พบว่าตลอดการเพาะเลี้ยงนั้น PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin ทุกความเข้มข้น มีอัตราการรอดชีวิตที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย PLBs ซึ่งเคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin เข้มข้น 0.125 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิตลดลงเหลือร้อยละ 90 (4.5 ก้อน จาก 5 ก้อน) เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 9 สัปดาห์ และเหลืออัตราการรอดชีวิตเพียงร้อยละ 85 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ขณะที่ PLBs ซึ่งเคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิตลดลงเหลือร้อยละ 85 และ 80 ในสัปดาห์ที่ 8 และ 9 ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักสดของ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ซึ่งเติม Ribavirin เข้มข้น 0.075, 0.10, 0.125, และ 0.15 มิลลิโมลาร์ นาน 5 สัปดาห์ โดยทำการเปลี่ยนอาหารทุกสัปดาห์ต่อครั้ง แล้วย้ายลงอาหารสูตรปกติจนครบ 9 สัปดาห์ พบว่า PLBs มีน้ำหนักสดเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ตั้งแต่เริ่มการทดลองถึงหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ ในอาหารที่มี Ribavirin ทุกความเข้มข้น แต่ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม Ribavirin กลับมีน้ำหนักสดเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อสิ้นสุดการทดลองคือครบ 9 สัปดาห์ โดย PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี Ribavirin เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุด และ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวซึ่งมี Ribavirin เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีน้ำหนักสดเฉลี่ยต่ำที่สุด โดย PLBs ที่ได้รับ Ribavirin เข้มข้น 0.075, 0.10, 0.125 หรือ 0.15 มิลลิโมลาร์ มีน้ำหนักสดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นราว 1.04-1.18 เท่า ในแต่ละสัปดาห์และมีน้ำหนักสดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นถึง 8.62, 5.24, 4 และ

2 เท่า ตามลำดับเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 8) ซึ่ง PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Ribavirin ทุกความเข้มข้นมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักสดเฉลี่ยเป็นไปอย่างช้า ๆ (ภาพที่ 10)

สำหรับ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU โดยเปลี่ยนอาหารทุก 10 วัน จนครบ 90 วัน (9 ครั้ง) ในช่วง 10 วันแรก PLBs ซึ่งได้รับ DTU ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มีการเปลี่ยนจากสีเขียวอ่อนสดใส โดย PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ ส่วนใหญ่ยังคงมีสีเขียวอ่อนสดใส แต่มีบางก้อนที่ซีดเล็กน้อย PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนและบางก้อนเริ่มซีดถึงอมเหลืองเล็กน้อย หลังได้รับ DTU นาน 10-20 วัน ส่วน PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์นั้น มีสีเขียวอ่อนซีด บางก้อนมีสีเขียวอ่อนซีดอมเหลือง ขณะที่ PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU เข้มข้น 0.20 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนซีดไม่มาก แต่อมสีเหลืองด้วยจนถึงซีดมาก บางก้อนมีสีเขียวอ่อนซีดอมเหลืองและบางก้อนเริ่มมีอาการน้ำนํ้า ผิวมีกระสีน้ำตาล ทั้งนี้ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ มีอาการคล้ายกับ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.20 มิลลิโมลาร์ โดยมีสีเขียวอ่อนซีดมากอมสีเหลือง ผิวมีกระสีเทาอมน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้มเกิดขึ้น ขนาดของ PLBs ไม่เปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 11)

หลังจากเพาะเลี้ยง PLBs ในอาหารซึ่งเติม DTU นาน 30-40 วัน พบว่า PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ บางก้อนเริ่มมีคราบสีน้ำตาลเคลือบที่ผิว บางก้อนสร้างยอดและใบขนาดเล็ก โดยบาง PLBs แดกเป็นก้อนย่อยและเริ่มมีการสร้าง PLBs ใหม่รุ่นที่ 1 (C_1 -PLBs) ขณะที่ PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีดมากขึ้นและมีบางก้อนเริ่มมีอาการน้ำนํ้า ตามร่องระหว่างก้อนย่อยมีคราบสีน้ำตาล ส่วน PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ บางก้อนมีสีเขียวซีดเกือบเป็นสีขาวและมีสีเขียวซีดปนเล็กน้อย บางก้อนเริ่มมีสีคล้ำจนถึงสีน้ำตาล และมีอาการน้ำนํ้าเกิดขึ้น ขณะที่ PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU เข้มข้น 0.20 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีดมากจนเกือบเป็นสีขาวมากขึ้น บางก้อนเริ่มมีสีคล้ำ ที่ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลาง และขนาดไม่ค่อยเปลี่ยนแปลง ทั้งนี้ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีดมากจนเกือบเป็นสีขาวและมีอาการน้ำนํ้าเล็กน้อย บางก้อนเริ่มมีสีคล้ำ ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลางและมีแผลสีน้ำตาลเข้มมากและขนาดของ PLBs ยังไม่เปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 11)

หลังจากเพาะเลี้ยง PLBs ในอาหารที่เติม DTU นาน 50 วัน พบว่า PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติยังคงมีสีเขียวสดใส แต่บางก้อนมีสีเขียวอ่อนอมเหลืองซีด ผิวมีคราบสีน้ำตาลและกระเสี้ยนน้อย แยกออกเป็นก้อนย่อยจำนวนมากและมีขนาดโตขึ้น มี C_1 -PLBs เพิ่มขึ้น ส่วน PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีลักษณะไม่ต่างจากที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งมี DTU นาน 40 วัน แต่มี PLBs ที่มีสีเขียวอมเหลืองซีดเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ ก็มีลักษณะไม่เปลี่ยนแปลงจากที่ได้รับ DTU นาน 40 วัน แต่บางก้อนมีสีขาวนวลอมสีน้ำตาลอ่อนหรือสีอมเทา สำหรับ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.20 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอมเหลืองซีด บางก้อนมีซีดจนเกือบเป็นสีขาวถึงอมสีเหลือง ขณะที่ PLBs ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU เข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวซีดจนเกือบขาว บางก้อนมีสีเขียวอ่อนซีดอมเทา บางก้อนมีสีคล้ำแกมสีเขียวอ่อนซีดปนอยู่เล็กน้อย ทั้งนี้ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU ทุกความเข้มข้นยังไม่มีการสร้าง C_1 -PLBs เมื่อ PLBs เกิดอาการ phytotoxic คือมีอาการซีดลงจนเกือบขาวหรือมีสีเหลืองหรือมีสีน้ำตาลเกินกว่าครึ่งก้อนหรือมีสีเขียวคล้ำ และไม่มีการสร้าง PLBs รุ่นใหม่ (C_1 -PLBs) จึงได้ทำการย้าย PLBs ที่ได้เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU ทุกความเข้มข้นนาน 50 วัน ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ โดยทำการเปลี่ยนอาหารทุก 10 วัน แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะและการสร้าง C_1 -PLBs ในการเปลี่ยนอาหารครั้งถัดไป (ภาพที่ 11)

เมื่อย้าย PLBs ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติแล้ว นาน 10-20 วัน (รวมเพาะเลี้ยงนาน 60-70 วัน) พบว่า PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติยังคงมีสีเขียวเขียวอ่อนสดใส บางก้อนมีสีซีดเล็กน้อย ก้อนย่อยมีขนาดใหญ่ขึ้นและแยกออกเป็นก้อนย่อย มีการสร้างยอดและใบแหลม PLBs ก้อนย่อยบางก้อนเป็นสีขาวซีด และปลายใบย่อยเริ่มมีสีน้ำตาล ผิวมีคราบสีน้ำตาลเคลือบ ส่วน PLBs ซึ่งย้ายมาจากอาหารที่เติม DTU เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนอมเหลืองซีดเกือบขาวจนเกือบเป็นสีขาวใส บางก้อนมีอาการคล้ายน้ำตา บางก้อนมีสีคล้ำและมีสีน้ำตาล ผิวมีกระสีน้ำตาลปานกลางถึงมาก โดย PLBs ซึ่งเคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนอมเหลืองซีดบางก้อนซีดมากเกือบขาวหรือขาวใสหรือสีซีดอมน้ำตาล บางก้อนมีสีคล้ำจนเป็นสีน้ำตาลและมีอาการน้ำตา ผิวมีกระสีน้ำตาลปานกลาง ส่วน PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.20 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนอมเหลืองมากจนถึงสีเขียวอ่อนซีดอมน้ำตาล บางก้อนมีสีเขียวซีดมากเกือบขาว จนถึงสีขาวอมเหลือง บางก้อนมีสีเหลืองซีดเกือบขาวจนถึงสีน้ำตาลอ่อนอมเหลือง มีอาการน้ำตา บางก้อนมีสีคล้ำจนถึงสีน้ำตาลที่ผิวมีกระสีน้ำตาลปานกลางถึงมาก ขณะที่ PLBs ซึ่งเคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU เข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ มีสี

เหลืองอมเขียวซีด บางก้อนมีสีเขียวอ่อนซีดมากเกือบขาว หรือมีสีขาวแกมเขียวซีดมากปนน้ำตาล มีอาการนํ้าเล็กน้อย บางก้อนมีสีคล้ำจนถึงสีน้ำตาล ผิวมีกระสีน้ำตาลปานกลางถึงมาก (ภาพที่ 11)

หลังจากเพาะเลี้ยง PLB นาน 80 วัน พบว่า PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ บางก้อนเริ่มมีลักษณะผิวหนังและมีคราบสีน้ำตาลเคลือบที่ผิว มีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลาง ส่วน PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ บางก้อนมีสีเหลืองนวลอมเขียว บางก้อนมีสีเขียวอมเหลืองเกือบน้ำตาล บางก้อนมีสีคล้ำ ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลาง เริ่มมีการสร้าง C_1 -PLBs จากก้อนที่ยังคงมีสีเขียว ขณะที่ PLBs ซึ่งเคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนอมเหลืองถึงเขียวอ่อนซีดจนเกือบเป็นสีขาวนวลอมน้ำตาล และบางก้อนมีสีอมสีเขียวอ่อนเล็กน้อยจนถึงสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลอ่อน ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลางถึงมาก เริ่มมีการสร้าง C_1 -PLBs จากก้อนที่เปลี่ยนกลับมาสีเขียว สำหรับ PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.20 มิลลิโมลาร์ มีสีเหลืองอมเขียวซีดมาก บางก้อนมีสีเหลืองนวลถึงขาวนวลซีด บางก้อนมีสีน้ำตาลอ่อน ผิวมีกระสีน้ำตาลปานกลางถึงมาก ทั้งนี้ PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ มีสีเหลืองอมเขียวซีดถึงสีขาวนวล บางก้อนมีสีเหลืองนวลหรืออมสีน้ำตาล บางก้อนมีสีน้ำตาลซีดถึงสีน้ำตาลเข้ม เริ่มมีการสร้าง C_1 -PLBs ขนาดเล็กจาก PLBs ที่สามารถกลับมาสีเขียวหรือยังคงมีสีเขียว

หลังจากเพาะเลี้ยง PLBs ได้นาน 90 วัน พบว่า PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ มีสีเขียวอ่อนสดใส แต่บางก้อนมีสีเขียวอ่อนซีด บางก้อนมีลักษณะผิวหนัง บางก้อนเริ่มมีสีคล้ำ มีกระสีน้ำตาลเล็กน้อยและมีคราบสีน้ำตาลเคลือบที่ผิว C_1 -PLBs มีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วน PLBs ที่ย้ายมาจากอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ มีสีเหลืองนวลอมสีน้ำตาล บางก้อนมีสีซีดจนเกือบใส บางก้อนมีสีขาวนวลและกึ่งกลางก้อนมีสีเขียวอ่อนๆ บางก้อนมีสีน้ำตาล ที่ผิวมีกระสีน้ำตาลเกิดขึ้นปานกลาง C_1 -PLBs มีขนาดใหญ่ขึ้น สำหรับ PLBs ที่เคยเพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ มีสีเขียวอ่อนสดใส บางก้อนมีสีเหลืองนวลอมน้ำตาล มีการสร้าง C_1 -PLBs ขนาดเล็กที่ผิวของก้อนย่อยหรือส่วนที่ยังคงมีสีเขียว ขณะที่ PLBs ซึ่งเคยเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU เข้มข้น 0.20 มิลลิโมลาร์ มีสีเหลืองนวลอมน้ำตาลซีด และบางก้อนมีสีน้ำตาลอ่อนซีด แต่สามารถสร้าง C_1 -PLBs สีเขียวอ่อนขนาดเล็กที่ผิวหนังนอกได้ ผิวมีกระสีน้ำตาลปานกลาง และมีแผลมีสีน้ำตาลเข้มมาก ทั้งนี้ PLBs ที่ย้ายมาจากอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ มีสีเหลืองนวลอมน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลซีด บางก้อนมีสีน้ำตาลเข้มและตาย แต่มีบางก้อนที่เป็นสีน้ำตาลซีดแต่สามารถสร้าง C_1 -PLBs ขนาดเล็ก ๆ ได้ ที่ผิวมีกระสีน้ำตาลขนาดเล็กเกิดขึ้นมาก (ภาพที่ 11)

เมื่อวิเคราะห์หัตถรารอดชีวิตของ PLBs หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU นาน 50 วัน แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตรที่ไม่เติม DTU จนครบ 90 วัน พบว่า ช่วง 70 วันแรกที่ทำให้การเพาะเลี้ยง นั้น PLBs มีอัตราการรอดชีวิตที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และพบว่า PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU ทุกความเข้มข้นนาน 80 วัน มีอัตราการรอดชีวิตลดลงและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลอง คือ ครบ 90 วัน กลับพบว่า PLBs ที่ได้รับ DTU ทุกความเข้มข้น มีอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 9)

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักสดของ PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU เข้มข้น 0.10, 0.15, 0.20 หรือ 0.25 มิลลิโมลาร์ โดยทำการเปลี่ยนอาหารทุก 10 วันต่อครั้งเป็นเวลา 50 วัน แล้วย้ายลงอาหารสูตรปกติอีก 40 วัน พบว่า PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม DTU ทุกความเข้มข้น มีน้ำหนักสดเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เฉพาะ หลังจากเพาะเลี้ยง นาน 30, 50 และ 60 วัน โดย PLBs เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี DTU เข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ มีน้ำหนักสดเฉลี่ยต่ำที่สุด (ตารางที่ 10) ซึ่ง PLBs ที่เพาะเลี้ยงในอาหารซึ่งเติม DTU ทุกความเข้มข้น มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักสดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ (ภาพที่ 12)