

## บทที่ 4

### วิจารณ์

การเพาะเลี้ยงเมล็ดมังกุดบนอาหารสูตร MS เต็ม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมวุ้น 4 ชนิด คือ Agar-agar, Agarose, Bacto-agar และ Phytigel พบว่าวุ้น Agarose ให้จำนวนยอดสูงสุด สอดคล้องกับการศึกษาของ Berrios และคณะ (1999) ซึ่งรายงานว่าวุ้น Agarose ส่งเสริมการชักนำ ยอดของทานตะวันได้มากกว่าวุ้นชนิดอื่น Nairn และคณะ (1995) ได้วิเคราะห์ชนิดของวุ้น พบว่าวุ้น Agarose ซึ่งผลิตจากสาหร่ายทะเลเพียง 1 สกุลคือ *Gracilaria* sp. เป็นวุ้นที่มีความบริสุทธิ์สูงสุด และไม่มีความเป็นพิษ จากเหตุผลดังกล่าวส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชคุณน้ำธาตุอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ อย่างไรก็ตามไม่นิยมใช้วุ้น Agarose เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเฉพาะการขยายพันธุ์เชิงการค้า แต่นิยมใช้ในการเลี้ยงโปรโตพลาสต์มากกว่า เพราะว่ามีราคาแพงไม่คุ้มกับการลงทุน คำานูณ (2539) รายงานว่าวุ้น Agarose นิยมใช้เลี้ยงโปรโตพลาสต์ เพราะให้อัตรการรอดชีวิตสูง เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารปนเปื้อนน้อยกว่าวุ้นชนิดอื่น ๆ ขณะที่ผลการทดลองเลี้ยงเมล็ดมังกุด พบว่าวุ้น Phytigel ส่วนใหญ่ส่งเสริมการสร้างแคลลัส มีการศึกษาการใช้วุ้น Phytigel ในพืช *Fraxinus angustifolia* (Tonon *et al.*, 2001) pine (Li *et al.*, 1998) ขนุน (Chaven *et al.*, 1996) สาลี (Cherreau *et al.*, 1997) และแอปเปิล (Saito and Suzuki, 1999) พบว่าวุ้น Phytigel ให้ปริมาณยอด และจำนวนยอดสูง เนื่องจากเป็นวุ้นสังเคราะห์ที่มีความบริสุทธิ์สูง ส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชคุณน้ำธาตุอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตได้อย่างดี อย่างไรก็ตามผลการทดลองใช้วุ้น Phytigel เลี้ยงเมล็ดมังกุดในครั้งนี้พบลักษณะยอดแก้วหรืออาการน้ำน้ำ หลังจากย้ายเลี้ยงครั้งแรก สอดคล้องกับการรายงานของ Nairn และคณะ (1995) ซึ่งพบว่า วุ้น Phytigel ไม่เป็นพิษ แต่ส่งเสริมการเกิดอาการน้ำน้ำ พบในพืชหลายชนิด เช่น บัว (Perez-Tornero *et al.*, 2000) แอปเปิล สาลี และราสเบอร์รี่ (Zimmerman *et al.*, 1995) เป็นต้น ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าการเพาะเลี้ยงเมล็ดมังกุดบนอาหารที่เติมวุ้น Phytigel ในช่วง 1 เดือนแรก ยอดมีการเจริญเติบโตดี และไม่พบอาการผิดปกติใด ๆ แต่เมื่อทำการย้ายเลี้ยงบนอาหารใหม่สูตรเดิม ในเดือนที่ 2 พบอาการยอดแก้วและยอดกุดเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการย้ายเลี้ยง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะวุ้นมีความบริสุทธิ์สูง เนื่องจากวุ้นที่มีความบริสุทธิ์ไม่ไปดูดซับธาตุอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเฉพาะกลุ่มไซโตไคนินในอาหารเพาะเลี้ยง ส่งเสริมให้พืชสามารถดูดน้ำ ธาตุอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ (Bonga and Aderkas, 1992) ประกอบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เต็ม BA ความเข้มข้นสูง 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งในอาหารสูตรดังกล่าวมีองค์ประกอบของธาตุไนโตรเจนสูง

(Kadota *et al.*, 2001) และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA อยู่ในกลุ่มไซโตไคนินสามารถชักนำการเจริญของยอดได้เป็นอย่างดี จึงส่งเสริมให้พืชมีการเจริญเติบโตได้ดีในช่วงแรก แต่เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานานขึ้น ส่งผลให้พืชคุณน้ำ ธาตุอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตมากจนมากเกินไป ทำให้พืชมีลักษณะผิดปกติได้ ซึ่งปัจจัยดังกล่าวไม่ว่าจะเป็นชนิดวุ้น อาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ล้วนแล้วแต่สามารถชักนำการเกิดยอดแก้วได้เป็นอย่างดี (Williams and Taji, 1991; Ebrahim and Ibrahim, 2000) สำหรับ Bonga และ Aderkas (1992) รายงานว่าวุ้น Phytigel เป็นองค์ประกอบของโพลีแซคคาไรด์ที่ซับซ้อนซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas elodea* มีองค์ประกอบของแร่ธาตุและสารอินทรีย์ที่บริสุทธิ์สูง แต่มีองค์ประกอบของสารโพแตสเซียมและแมกนีเซียมปริมาณสูง

สำหรับวุ้น Agar-agar และ Bacto-agar ถึงแม้ว่าไม่พบลักษณะผิดปกติใด ๆ แต่ให้จำนวนยอดน้อยอาจเนื่องมาจากวุ้นดังกล่าวมีองค์ประกอบของสารปนเปื้อนที่สูง ทำให้พืชไม่สามารถดูดน้ำ ธาตุอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตได้ไม่เต็มที่ จากรายงานของ Bonga และ Aderkas (1992) พบว่าวุ้น Bacto-agar มีองค์ประกอบของโซเดียมและทองแดงสูง ซึ่งสารดังกล่าว โดยเฉพาะทองแดงเป็นพิษต่อพืช และยังไปดูดซับสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินไว้ ทำให้พืชไม่สามารถใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตไปใช้ประโยชน์ได้ ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตลดลงหรือมีลักษณะแคระแกร็นให้ยอดจำนวนน้อย Nairn และคณะ (1995) พบว่าวุ้น Agar ที่ผลิตจากสาหร่ายทะเล 3 สกุลด้วยกันคือ *Gelidium sp.*, *Gracilaria sp.* และ *Pterocladia sp.* มีความบริสุทธิ์ค่อนข้างต่ำ เป็นพิษจึงทำให้พืชมีอัตราการรอดชีวิตต่ำ อย่างไรก็ตาม พบว่าวุ้นดังกล่าวสามารถควบคุมการเกิดยอดแก้วของ *Pinus radiata* ได้

สำหรับลักษณะยอดแก้วดังกล่าวมีลักษณะโปร่งใส อวบน้ำ โค้งงอ ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในหลอดทดลอง โดยเฉพาะการขยายพันธุ์เชิงการค้าเพราะต้นกล้าที่ได้ไม่สามารถย้ายปลูกได้ (Bonga and Aderkas, 1992; Ueno *et al.*, 1998) สาเหตุอาจเนื่องมาจากการที่พืชได้รับปัจจัยต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงไม่เหมาะสม ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตผิดปกติและสูญเสียลักษณะบางอย่าง เช่นเดียวกับผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่า มังคุดใบแก้วมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับมังคุดใบปกติ ซึ่งคลอโรฟิลล์เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการสังเคราะห์แสงของพืช เมื่อมีปริมาณน้อยส่งผลให้พืชมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงต่ำลงด้วย และเมื่อศึกษาลักษณะของปากใบแก้วของมังคุดพบว่า มีขนาดใหญ่และเปิดกว้างผิดปกติ มีความหนาแน่นน้อย สอดคล้องกับการศึกษาของ Olmos and Hellin (1998) ซึ่งรายงานว่าปากใบของคาร์เนชั่นที่เป็นต้นแก้วมีลักษณะเปิดกว้างผิดปกติ และมีการศึกษาของเซลล์ ในขณะที่ Miguens และคณะ (1993) พบว่าการเกิดใบแก้วใน *Datura insignis* ที่

บริเวณปากใบมีการงอกของเนื้อเยื่อเป็นชั้นส่วนเล็ก ๆ ปากใบมีลักษณะปิดสนิท มีความหนาแน่นน้อย และไม่สามารถทำหน้าที่ได้ จากเหตุผลดังกล่าวส่งผลให้พืชไม่สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ เพราะไม่สามารถควบคุมการคายน้ำหรือการสังเคราะห์แสงได้

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานและกายวิภาคของลำต้นและใบมัจจูดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร MS เต็ม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมวุ้นชนิดต่าง ๆ พบว่า ใบและลำต้นแก้วจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารเต็มวุ้น Phytigel มีลักษณะโปร่งใส ยาวรี และโค้งงอผิดปกติ ได้ผลเช่นเดียวกับงานทดลองของ Delarue และคณะ (1997) ได้ศึกษาในพืชสกุล *Arabidopsis* พบว่า ใบและลำต้นมีลักษณะเป็นผลึกใส อวบน้ำ และยังพบว่าขอบใบไม่สม่ำเสมอ และมีการสะสมของสารแอนโทไซยานินสูง แต่ในการศึกษานี้ไม่พบการสร้างสารดังกล่าว ลักษณะแผ่นใบมีการกระจายตัวของเม็ดคลอโรพลาสต์น้อยจึงมองดูโปร่งใส สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าในใบแก้วหรือชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้น Phytigel มีปริมาณคลอโรพิลล์น้อย ผลการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของมัจจูดใบแก้ว พบว่า มีช่องว่างระหว่างเซลล์ขนาดใหญ่ เซลล์เกาะกันอย่างหลวม ๆ และมีท่อลำเลียงน้ำและอาหารขนาดเล็กหรือไม่สมบูรณ์ ทำให้พืชมีการลำเลียงน้ำและธาตุอาหารได้ไม่ดี ให้ผลเช่นเดียวกับงานทดลองของ Picoli และคณะ (2001) ที่ศึกษาในใบมะเขือ พบว่า ช่องว่างระหว่างเซลล์มีขนาดใหญ่ มีเฉพาะเซลล์สpongiform แต่ไม่มีชั้นของเซลล์แพลิสเลด มีคลอโรพลาสต์น้อย ปริมาณเซลล์โลสและลิกนินต่ำ ลำต้นแก้วมีช่องว่างระหว่างเซลล์ขนาดใหญ่แต่ขนาดพื้นที่ของคอร์เทกซ์ ระบบท่อลำเลียงน้ำและธาตุอาหาร และเนื้อเยื่อพิท (pith) มีขนาดเล็กกว่าลำต้นปกติ และการศึกษาของ Williams และ Taji (1991) พบว่าลักษณะทางกายวิภาคของลำต้น *Oleria microdisca* เซลล์มีช่องว่างขนาดใหญ่เช่นเดียวกันแต่ พื้นที่ของคอร์เทกซ์ เซลล์พาราเควอิมามีขนาดใหญ่ ส่วนระบบท่อลำเลียงน้ำและอาหารมีขนาดเล็ก จากการสังเกตลักษณะทางสัณฐานของลำต้นแก้วและต้นปกติในการศึกษานี้ พบว่า ลำต้นปกติมีขนาดใหญ่เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมัจจูดใบแก้ว แต่อัตราการเจริญน้อยมีการเจริญเติบโตทางด้านข้างมากกว่าความสูง ขณะที่ลำต้นแก้วมีขนาดเล็ก เรียวบาง แต่มีลักษณะยืดยาวหรือมีการเจริญเติบโตทางด้านความสูงมากกว่าด้านข้าง

สำหรับการสร้างแผลของเมล็ดมัจจูดโดยการตัดแบ่งเมล็ดเป็น 3 ชิ้นส่วน และทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมวุ้นชนิดต่าง ๆ พบว่า การสร้างแผลส่วนใหญ่ส่งเสริมการสร้างแคลลัสแต่ส่งเสริมการสร้างยอดน้อย สมปอง (2540) รายงานว่าการสร้างแผลของเมล็ดมัจจูดและส้มแขกไม่ส่งเสริมการเกิดยอดแต่ส่งเสริมการเกิดแคลลัสเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่ Tonon และคณะ (2001) พบว่าการสร้างแผลให้กับชิ้นส่วนพืชมีความสำคัญต่อการชักนำกระบวนการออแกโนเจเนซิส (organogenesis) ในเมล็ดของ *Fraxinus angustifolia* สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่าการสร้างแผลดังกล่าวส่งเสริมการเกิดลักษณะผิดปกติ คือยอดกุด และยอดแก้วหรืออาการน้ำาได้ในสถานะ

ของการเพาะเลี้ยงเมล็ดมัจฉาคบนอาหารที่เติมวุ้น Phytigel และวุ้น Agarose Lo และคณะ (1997) รายงานว่าการสร้างแผลเป็นการเพิ่มพื้นที่ในการดูดซับธาตุอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตมากขึ้น จึงอาจเป็นไปได้ว่าการสร้างแผลโดยการตัดแบ่งเมล็ดมัจฉาร่วมกับสภาวะการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นที่บริสุทธิ์อย่าง วุ้น Agarose และ วุ้น Phytigel เป็นการส่งเสริมซึ่งกันและกันในการดูดซับธาตุอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตได้มากขึ้นไปจนเกิดลักษณะยอดแก้วขึ้น

สำหรับลักษณะของยอดแก้วอาจเกิดจากปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมลงไป ในอาหาร โดยในรายงานของ สมปอง และวันทนา (2531) พบว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้นสูงให้ต้นกล้าขนาดเล็กกว่า 0.5 เซนติเมตร จำนวนมากและยอดมีลักษณะแคระแกร็นจับกันเป็นกลุ่มก้อน โดยในการศึกษานี้ได้ใช้ BA ความเข้มข้นสูง 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำตายอด แต่ในช่วง 1 เดือนแรกของการเพาะเลี้ยงไม่พบทั้งอาการยอดแก้วและยอดกุด หลังจากย้ายเลี้ยงบนอาหารใหม่สูตรเดิม จึงพบลักษณะผิดปกติดังกล่าว อาจเนื่องมาจากพืชมีการสะสมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ในช่วงแรกมากพออยู่แล้ว เมื่อย้ายเลี้ยงบนอาหารใหม่สูตรเดิมอีกโดยไม่ลดความเข้มข้นของ BA ลง ทำให้ความสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตเปลี่ยนไปไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช อย่างไรก็ตามเมื่อย้ายเลี้ยงบนอาหารใหม่ที่ลดความเข้มข้นของ BA เป็น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าลักษณะผิดปกติดังกล่าวมีอัตราการลดลง สอดคล้องกับการรายงานของ Te-chato (1998) ซึ่งพบว่า เมื่อลดความเข้มข้นของ BA ช่วยส่งเสริมการยืดยาวของยอด แต่เกิดยอดจำนวนน้อย

การศึกษานิคใบ และชนิดวุ้น โดยนำมัจฉาใบปกติและใบแก้วจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร MS เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมวุ้นชนิดต่าง ๆ พบว่า ใบปกติให้การสร้างยอดสูงสุด  $33.33 \pm 6.42$  เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอด  $1.61 \pm 0.00$  ยอดต่อใบ บนอาหารเติมวุ้น Agarose ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงเมล็ดคือพบว่าวุ้น Agarose สามารถส่งเสริมการชักนำยอดได้ดี ในขณะที่การเพาะเลี้ยงใบแก้วบนอาหารเติมวุ้นทุกชนิดไม่พบการพัฒนาแต่อย่างใด เมื่อตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่าใบแก้วมีปริมาณคลอโรฟิลล์น้อย และปากใบมีลักษณะผิดปกติ ส่งผลให้ไม่สามารถชักนำเป็นพืชต้นใหม่ได้ เพราะคลอโรฟิลล์เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการสังเคราะห์แสงของพืช เมื่อมีปริมาณน้อยส่งผลให้พืชมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงต่ำด้วย (Olmos and Hellin, 1998) และมีรายงานว่าใบแก้วใน *Datura insignis* ปากใบไม่สามารถทำหน้าที่ได้ (Miquens *et al.*, 1993) อาจเป็นไปได้ว่าการเพาะเลี้ยงใบแก้วของมัจฉापากใบไม่สามารถดูดน้ำ ธาตุอาหาร หรือสารควบคุมการเจริญเติบโตได้ ประกอบกับมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ต่ำหรือไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ ส่งผลให้ใบแก้วที่เพาะเลี้ยงไม่มีการพัฒนา

การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล พบว่าการเพาะเลี้ยงเมล็ดมั่งคุดทั้งเมล็ดบนอาหารสูตร MS เดิม BA 5 มีลิกกรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนยอดสูงสุด เนื่องจากน้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานหรือแหล่งคาร์บอนที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์แสงของพืช และมีความจำเป็นในกระบวนการเกิดไซมาติกเอ็มบริโอ อย่างไรก็ตามน้ำตาลแต่ละชนิดมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกัน สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชส่วนใหญ่นิยมใช้น้ำตาลซูโครส (Wilson *et al.*, 1996) น้ำตาลชนิดนี้พบมากในพืชชั้นสูง ทั้งนี้เพราะในธรรมชาติพืชเก็บสะสมพลังงานในรูปของน้ำตาลซูโครสเป็นส่วนใหญ่ (สมปอง, 2539) ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ก็พบว่าการเพาะเลี้ยงเมล็ดมั่งคุดบนสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสมีความเหมาะสมเช่นเดียวกัน Neto และคณะ (2003) รายงานว่าน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั่วไป เพราะน้ำตาลดังกล่าวให้ค่าออสโมติกโพเทนเชียล ที่ต่ำกว่าน้ำตาลชนิดอื่น ๆ และมีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยง เมื่อเปรียบเทียบในระดับความเข้มข้นที่เท่ากัน นอกจากนี้ยังสามารถรักษาระดับความเป็นกรดต่างได้ใกล้เคียงกับค่าเป็นกรดและด่างก่อนและหลังนำมาเชื้ออาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลชนิดอื่น ๆ โดยเฉพาะน้ำตาลในกลุ่มแอลกอฮอล์ อย่างไรก็ตามในการเพาะเลี้ยงบางพารามิเตอร์อาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสไม่เหมาะสมในการชักนำไซมาติกเอ็มบริโอ มีเพียงแต่สูตรอาหารที่เติมน้ำตาลมอลโตสที่สามารถชักนำไซมาติกเอ็มบริโอได้ดี (Blanc *et al.*, 1999) ในขณะที่น้ำตาลแมนนิทอล ส่งเสริมการเจริญเติบโตโดยเพิ่มความยาวยอด ความยาวใบ และแก่การพักตัวในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนมะกอก (*Olea europaea* L.) (Garcia *et al.*, 2002) ผลการทดลองในครั้งนี้ใช้น้ำตาลแลคโตสในอาหารสูตร MS เดิม BA 5 มีลิกกรัมต่อลิตรทำให้เกิดยอดแก้ว และใบมีลักษณะสีม่วงแดงจำนวนมาก น้ำตาลดังกล่าวมีส่วนช่วยส่งเสริมการสร้างสารแอนโทไซยานิน แต่อาจจะมีมากเกินไป จึงส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตมากเกินไปจนเกิดลักษณะยอดแก้วได้ เนื่องจากสารแอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุชนิดหนึ่งที่พบทั่วไปในพืช มีส่วนช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์และการเจริญเติบโตของพืช (อัญญา, 2546) ซึ่งแตกต่างจากการเพาะเลี้ยงสาธิตญี่ปุ่น พบว่าน้ำตาลซอร์บิทอล และน้ำตาลกลูโคสส่งเสริมการเกิดยอดแก้ว (Kadota *et al.*, 2001) นอกจากนี้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล และน้ำตาลแมนนิทอลทุกระดับความเข้มข้นพบลักษณะยอดคุดเพียงอย่างเดียว และให้จำนวนยอด และความยาวยอดน้อยที่สุด อาจเนื่องจากการเป็นน้ำตาลที่ไม่เหมาะสมในการส่งเสริมการเกิดแรงดันออสโมติกในอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลทุกระดับความเข้มข้นพบลักษณะยอดคุดเพียงอย่างเดียว เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้เกิดสภาวะเครียดของพืช ทำให้ชิ้นส่วนพืชคุดน้ำ และธาตุอาหารไปใช้ประโยชน์ได้น้อย จึงเกิดลักษณะแคะแกระ็น และยอดคุดเกิดขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Lipavska และ Vreugdenhil (1996) พบว่าน้ำตาลแมนนิทอลเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ส่งเสริมการเกิดสภาวะเครียด จากการศึกษาในการเพาะเลี้ยงข้าวสาลี

และมันฝรั่งทำให้มีน้ำหนักรากลดลง และไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงผักชี (*Apium graveolens*) (Vitova, 2002) Mamiya และ Sakamoto (2000) รายงานว่า แรงดันออสโมติกที่เพิ่มขึ้นทำให้การเจริญของยอดถูกยับยั้ง แต่ไม่มีผลต่อการเจริญของรากในการเพาะเลี้ยงหน่อไม่ฝรั่ง แต่ในบางพืชก็พบว่าน้ำตาลแอลกอฮอล์ส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ดีกว่าน้ำตาลซูโครส อาจเนื่องจาก เมื่อพืชได้รับความเครียด จึงพยายามรักษาชีวิตให้อยู่รอด โดยพยายามสร้างกระบวนการเกิดโชมาทิกเอ็มบริโอให้มากขึ้นก็ได้

ผลการใช้น้ำตาลความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า การเพาะเลี้ยงมิ่งคุดทั้งเมล็ดบนอาหารสูตร MS เดิม BA 5 มีลิกนินต่อลิตร และเติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนยอดสูงที่สุด จากการศึกษาของ Mamiya และ Sakamoto (2000) รายงานว่า น้ำตาลที่มีความเข้มข้นต่ำส่งเสริมการเจริญเติบโตของยอด ในขณะที่ความเข้มข้นสูงส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากและยับยั้งการเจริญเติบโตของยอดจากการเพาะเลี้ยงหน่อไม่ฝรั่ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งพบว่ายอดมีลักษณะแคระแกร็นไม่เจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารที่เติมน้ำตาลระดับความเข้มข้นสูง ๆ Vitova และคณะ (2002) รายงานว่าในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อชักนำการสร้างยอดควรให้มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประมาณ  $-0.5$  MPa จึงจะมีความเหมาะสม ซึ่งสอดคล้องกับการใช้น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ จะให้ค่าออสโมติกโพเทนเชียล  $-0.51$  MPa ในขณะที่น้ำตาลแมนนิทอลค่าออสโมติกโพเทนเชียลลดลง อย่างเห็นได้ชัด เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นที่เท่ากัน (อาสตัน, 2546; Neto and Otoni, 2003)

การตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์จากใบมิ่งคุดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงทั้งเมล็ดบนอาหารเติมน้ำตาลชนิดต่าง ๆ พบว่าน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมสูงสุด ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Garcia และคณะ (2002) พบว่าใบมะกอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารเติมน้ำตาลแมนนิทอลส่งเสริมการสร้างคลอโรฟิลล์ และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงได้มากขึ้น โดยเฉพาะในไม้ยืนต้น สำหรับน้ำตาลไกลเซอรอลส่งเสริมกระบวนการเกิดเอ็มบริโอ การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ และกระตุ้นการทำงานของยีน Rubisco ซึ่งมีส่วนในการควบคุมการสังเคราะห์แสงในการเพาะเลี้ยงสั้ม อย่างไรก็ตามพบว่าถ้าใช้ความเข้มข้นสูงขึ้นน้ำตาลซูโครสจะส่งเสริมการสังเคราะห์แสงได้ดีกว่าน้ำตาลไกลเซอรอล (Vu *et al.*, 1993) จะเห็นว่าน้ำตาลที่อยู่ในรูปแอลกอฮอล์ส่วนใหญ่ส่งเสริมการสร้างคลอโรฟิลล์ได้ดีกว่าน้ำตาลซูโครส จากเหตุผลข้างต้นอาจเป็นไปได้ว่าน้ำตาลดังกล่าวส่งเสริมให้เกิดสภาพเครียดทำให้พืชไม่สามารถดูดน้ำ และธาตุอาหารไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มที่ จึงทำให้องค์ประกอบของน้ำในส่วนเนื้อเยื่อพืชมีน้อย เมื่อทำการตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์จึงพบว่าปริมาณสูง ซึ่งจากการสังเกตพบว่าชิ้นส่วนพืชมีสีเขียวเข้ม แตกต่างจากพืชที่เป็นใบแก้วมีสีเขียวซีดมีปริมาณ

คลอโรฟิลล์น้อยเนื่องจากมีปริมาณของน้ำในเนื้อเยื่อสูง สำหรับในการศึกษานี้ไม่ได้ศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์จากใบที่เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารเติมน้ำตาล แมนนิทอล และน้ำตาลซอร์บิทอล เนื่องจากมีปริมาณของใบน้อยมากหรือแทบไม่มี และถ้ามีก็มีลักษณะยอดกุดเกือบทั้งหมด จนไม่สามารถนำไปตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์ได้ อย่างไรก็ตามมีบางรายงาน พบว่า ในการเพาะเลี้ยงผลกีวีน้ำตาลซูโครสส่งเสริมการเพิ่มจำนวนเมล็ดคลอโรพลาสต์ และองค์ประกอบของเมล็ดแบ่งได้ดีกว่าน้ำตาลชนิดอื่น (Dimassi and Bosabalidis, 1997) จากเหตุผลดังกล่าวจึงน่าจะทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงขึ้น เนื่องจากคลอโรพลาสต์เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของคลอโรฟิลล์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ ดังนั้นน้ำตาลซูโครสจึงมีเหมาะสมที่สุดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ประกอบกับน้ำตาลซูโครสสามารถหาซื้อได้ง่ายในท้องตลาด และมีราคาถูก เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะในการขยายพันธุ์พืชเพื่อการค้าได้เป็นอย่างดี