บทที่ 4

วิจารณ์

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณของแคลลัสกุหลาบมอญ โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba, picloram และ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ พบว่า ในอาหารสูตรที่เติม dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณ friable callus ได้สูงสุด เมื่อใช้ความเข้มข้นสูงกว่านี้เปอร์เซ็นต์การเพิ่มปริมาณของแคลลัสลดลง เช่นเดียวกับงานทดลองของ Tribulato และ คณะ (1997) ซึ่งเพาะเลี้ยงก้านดอกลิลลี่บนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 2 และ 10 μM พบว่า ในอาหารเติม dicamba 2 μM สามารถให้ friable callus ได้ ทั้งนี้เนื่องจาก dicamba เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ซึ่งสารกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแคลลัส (Mizukami *et al.*, 1989) องค์ประกอบของธาตุอาหารในสูตรอาหารต่าง ๆ และสารควบคุมการเจริญเติบโตก็มีผลต่อการสังเคราะห์แอนโธไซยานิน โดยสูตรอาหารที่ให้การเจริญสูงสุดอาจแตกต่างไปจากสูตรอาหารที่ให้การสังเคราะห์แอนโธไซยานินสูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสกุหลาบมอญบนอาหาร 3 สูตร คือ LS, MS และ B5 เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับออกซินชนิดต่าง ๆ พบว่า บนอาหารสูตร LS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์ก้อนแคลลัสที่เกิดสีแดงของแอนโธไซยานินสูงที่สุด เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของอาหารทั้ง 3 สูตรจะมีความแตกต่างกันในความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองและวิตามินเป็นสำคัญ (ภาคผนวก) โดยในอาหารสูตร MS และ LS แตกต่างกันที่ธาตุอาหารรอง คือ $ZnSO_4$ และวิตามิน คือ thiamineHCl ส่วนในอาหารสูตร B5 แตกต่างจากทั้ง 2 สูตรที่ปริมาณธาตุอาหารหลัก ซึ่งทำให้ในอาหารสูตร B5 แคลลัสไม่เกิดรงควัตถุสีแดงของแอนโธไซยานิน อย่างไรก็ตามชนิดและปริมาณธาตุอาหารที่ใช้เพื่อชักนำให้เกิดการสร้างแอนโธไซยานิน มีความแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช (Nagarajin *et al.*,1989) เมื่อนำแคลลัสดังกล่าวไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมเติม dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อศึกษาผลของ BA ที่มีต่อปริมาณผลผลิตแอนโธไซยานิน พบว่า ในอาหารสูตรที่เติม dicamba ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์ก้อนแคลลัสที่เกิดสีแดงของแอนโธไซยานินและปริมาณผลผลิตแอนโธไซยานินสูงที่สุด เนื่องจากการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของ

ออกซินและไซโตไคนินร่วมกันสามารถเพิ่มการสังเคราะห์แอนโธไซยานินได้ดีกว่าการใช้กลุ่มใดกลุ่มหนึ่งเพียงกลุ่มเดียว (Ozeki and Komamine, 1986) นอกจากนี้สัดส่วนที่เหมาะสมของออกซินและไซโตไคนินมีผลโดยตรงต่อการสังเคราะห์แอนโธไซยานินโดยสามารถเพิ่มการผลิตแอนโธไซยานินได้ (Yamakawa *et al.*, 1983; Yamamoto *et al.*, 1989) โดยผลของความเข้มข้นและอัตราส่วนระหว่างออกซินและไซโตไคนินต่อการเจริญและการผลิตสารของเซลล์พืชเพาะเลี้ยงขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์พืชด้วย (Mori *et al.*, 1994) ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Purnima and Suresh (1996) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Hyoscyamus muticus* L. พบว่า ในอาหารที่เติม 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณแอนโธไซยานินสะสมอยู่สูงสุด นอกจากนี้การเติม dicamba ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของออกซินยังมีผลต่อการสะสมแอนโธไซยานินและกิจกรรมของเอนไซม์ โดยจะไปส่งเสริมการสร้าง mRNA ที่แปลรหัสไปเป็นเอ็นไซม์ CHS ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ควบคุมกลไกการสังเคราะห์แอนโธไซยานิน (Halton and Cornish, 1995) สอดคล้องกับการศึกษาของ Mizukami (1989) ซึ่งเพาะเลี้ยงแคลลัสของ *Hibiscus sabdariffa* L. พบว่า เอนไซม์ CHS ที่มีผลสำคัญต่อการสังเคราะห์แอนโธไซยานินนี้ถูกควบคุมโดยสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของออกซินและการให้แสง จากผลการทดลองในครั้งนี้ อาหารสูตรที่เติม BA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่สร้างแอนโธไซยานินในแคลลัสสูงกว่า BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ให้ปริมาณแอนโธไซยานินต่ำกว่า ทั้งอาจเนื่องมาจากแอนโธไซยานินที่สร้างบนแคลลัสในอาหารเติม BA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดบริเวณผิวด้านนอกในขณะที่ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการสร้างแอนโธไซยานินกระจายทั่วบริเวณด้านในก้อนแคลลัส ส่งผลให้แคลลัสที่นำมาสกัดมีปริมาณแอนโธไซยานินที่สูงกว่า

เมื่อนำแคลลัสบริเวณที่เกิดสีแดงของแอนโธไซยานิน ไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อินเวอร์เตด พบว่า การเกิดจุดสีแดงบนก้อนแคลลัสเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงภายในของเซลล์ โดยมีรงควัตถุสีแดงถูกสร้างขึ้นภายในกลุ่มเซลล์ของแคลลัสที่มีสีขาวอมเหลือง ซึ่งเซลล์ที่มีสีแดงนั้นจะมีการสะสมของแอนโธไซยานินในแวคิวโอลของเซลล์ หลังจากทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ โดยการคัดเลือกแคลลัสที่มีสีแดงไปเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณแอนโธไซยานินเพื่อที่จะนำแคลลัสไปใช้ศึกษาต่อไป แต่ยังพบว่าเมื่อมีการแบ่งเซลล์เกิดขึ้น กลุ่มเซลล์ใหม่ที่ได้ยังมีสีขาวอมเหลืองปนอยู่กับสีแดงซึ่ง Halton และ Cornish (1995) ได้ให้เหตุผลไว้ว่า เซลล์ที่มีสีแดงไม่สามารถเจริญเติบโตได้โดยลำพัง แม้จะมีธาตุอาหาร วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโตอย่างเพียงพอก็ตาม จำเป็นต้องมีเนื้อเยื่อชนิดอื่น ๆ เจริญควบคู่ไปด้วย เพราะแคลลัสสีเหลืองมี

กลุ่มสาร carotenoid ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของกระบวนการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการสังเคราะห์ จะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นแอนโธไซยานิน ทำให้การสังเคราะห์แอนโธไซยานินเกี่ยวข้องกับเนื้อเยื่อทั้งระบบ เมื่อแยกเซลล์เดี่ยวมาเพาะเลี้ยงเพื่อหาสายพันธุ์บริสุทธิ์หรือการคัดเลือกแคลลัสที่จะนำไปเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณแอนโธไซยานิน จะพบว่าเมื่อมีการแบ่งเซลล์เกิดขึ้นกลุ่มเซลล์ใหม่ที่ได้ยังคงมีสีขาวและสีเหลืองปนกันอยู่ ทั้งนี้เพราะการคัดเลือกในระดับแคลลัสยังไม่สามารถคัดเลือกให้ได้เซลล์ที่มีลักษณะคงที่ เนื่องจากแคลลัสประกอบด้วยเซลล์ที่มีหลายลักษณะปะปนกัน (Stafford, 1990; Mentell and Smith, 1986)

การศึกษาผลของระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่มีต่อผลผลิตแอนโธไซยานิน เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง พบว่า ที่ระยะเวลา 3 สัปดาห์ ลักษณะของเซลล์จะมีแวคิวโอลเล็ก ๆ จำนวนมาก ไซโทพลาสซึมข้น มีปริมาณแอนโธไซยานินสูงกว่าระยะอื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากในสัปดาห์แรกหลังการย้ายเลี้ยง แคลลัสเริ่มมีการแบ่งเซลล์และเซลล์ใหม่ที่ได้มีการสะสมแอนโธไซยานินในปริมาณน้อย ในขณะที่สัปดาห์ที่ 4 นั้นเซลล์เริ่มแก่ แคลลัสบางส่วนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลักษณะของเซลล์จะมีไซโทพลาสซึมที่เจือจาง ให้ปริมาณแอนโธไซยานินลดลง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Hirasuna และคณะ (1991) พบว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์อ่อนเมื่ออายุของเซลล์มากขึ้นการผลิตแอนโธไซยานินต่ำลง ในการทดลองนี้แม้ว่าแคลลัสเริ่มต้นที่นำมาเลี้ยงบนอาหารจะมีสีแดงสด แต่เมื่อเนื้อเยื่อแคลลัสมีการแบ่งเซลล์ในสัปดาห์แรก กลุ่มเซลล์ที่เกิดขึ้นใหม่ จะมีสีขาวและสีเหลืองปนกัน เมื่อเลี้ยงต่อไปในสัปดาห์ที่ 2 แคลลัสที่เกิดใหม่จึงจะมีจุดสีแดงเล็ก ๆ กระจายอยู่ทั่วไปบนก้อนแคลลัส จุดสีแดงเหล่านี้จะมีมากขึ้นและจะเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้มในสัปดาห์ที่ 3 เนื่องจากการสังเคราะห์และการสะสมแอนโธไซยานินนั้นขึ้นอยู่กับความพร้อมของเซลล์ที่จะตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมภายนอก เช่น อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง แสง อุณหภูมิ และสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นต้น (Dixon and Paiva, 1995) ดังนั้นเซลล์ที่มีสีแดงสดจำนวนมากในสัปดาห์ที่ 3 จึงเหมาะสมสำหรับการย้ายเลี้ยงลงในอาหารใหม่เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ที่สังเคราะห์แอนโธไซยานิน ทั้งนี้เพราะแคลลัสในระยะนี้เป็นระยะที่มีจุดสีแดงเล็ก ๆ จำนวนมากเกิดบนก้อนแคลลัส แคลลัสเจริญเติบโตเร็ว ซึ่งสอดคล้องกับ Yamamoto และคณะ (1989) ที่ได้เสนอแนะไว้ว่า แคลลัสที่เหมาะสมสำหรับการย้ายเลี้ยงบนอาหารใหม่เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ที่สังเคราะห์แอนโธไซยานินนั้น ควรเป็นระยะที่แคลลัสมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการสังเคราะห์แอนโธไซยานินสูง ในการทดลองนี้ขนาดของแคลลัสเพิ่มขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 แต่ในสัปดาห์ที่ 4 แคลลัสเริ่มมีสีแดงคล้ำส่วนที่ไม่ได้สัมผัสกับอาหารจะเริ่มเปลี่ยนเป็น

สีน้ำตาลดำ ดังนั้นระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงแคลลัสของกุหลาบมอญที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแอนโธไซยานิน คือ สัปดาห์ที่ 3 เพราะเป็นระยะที่มีการสังเคราะห์แอนโธไซยานินสูงสุด และเป็นระยะที่มีการสะสมแอนโธไซยานินในแวคคิวโอลมากที่สุด เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงเซลล์องุ่นและแครอทที่พบว่าการสะสมแอนโธไซยานินจะมีการสะสมในระยะที่เซลล์มีการเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว (stationary phase) (Ozeki and Komamine, 1986: Kim and Kim, 2002, Filippini *et al.*, 2003)

จากการทดลองผลของ pH ในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีต่อผลผลิตแอนโธไซยานิน เห็นได้ว่า pH ของอาหารมีผลต่อการสังเคราะห์และการสะสมแอนโธไซยานินในแคลลัสกุหลาบมอญ โดยที่ระดับ pH 5.2 มีปริมาณแอนโธไซยานินสูงกว่าที่ระดับอื่น ๆ เช่นเดียวกับงานทดลองของ Dougall และคณะ (1988) พบว่า ช่วง pH ของอาหารที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์และการสะสมแอนโธไซยานินในการเพาะเลี้ยงเซลล์แครอท เท่ากับ 5.2-5.4 ทั้งนี้เนื่องจากการสังเคราะห์แอนโธไซยานินขึ้นอยู่กับระดับ pH ภายในและภายนอกเซลล์ ภายในเซลล์ได้แก่ pH ในไซโทพลาสซึม และในแวคคิวโอล ซึ่งเป็นแหล่งเคลื่อนย้ายและสะสมแอนโธไซยานิน (Dixon and Paiva, 1995) โดยในวิถีการสังเคราะห์แอนโธไซยานิน มีเอนไซม์อยู่หลายชนิด ซึ่งในการทำงานของเอนไซม์นั้นจะขึ้นอยู่กับระดับ pH ด้วย (Timberlake and Bridle, 1975) นอกจากนี้ pH ภายนอกเซลล์ เช่น pH ของอาหารเพาะเลี้ยงก็มีผลต่อการนำธาตุอาหารที่จำเป็นไปใช้ประโยชน์ เช่น สภาพการเพาะเลี้ยงที่เป็นกรดจะเป็นผลดีต่อการใช้ประโยชน์ไนโตรเจนในรูปไนเตรทอิออน แต่เมื่ออาหารอยู่ในสภาพเป็นด่างจะเอื้อประโยชน์ต่อการใช้ไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมอิออน เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมคลอไรด์ เป็นต้น เนื่องจากปริมาณของไนโตรเจนในอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะสารทุติยภูมิ (Rao and Ravishankar., 2002) ซึ่งค่า pH ในเซลล์พืชแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป ดังนั้นระดับ pH ที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์แอนโธไซยานินอาจแตกต่างกันในแต่ละชนิดพืช (วิชชู, 2532)

การศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีต่อผลผลิตแอนโธไซยานิน พบว่าอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุด เนื่องจากน้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานหรือแหล่งคาร์บอนจำเป็นต่อการสังเคราะห์แสงของพืช ซึ่งน้ำตาลแต่ละชนิดก็มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกัน สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชส่วนใหญ่นิยมใช้น้ำตาลซูโครส ทั้งนี้เพราะในธรรมชาติพืชเก็บสะสมพลังงานในรูปของน้ำตาลซูโครสเป็นส่วนใหญ่ (สมปอง, 2539) นอกจากน้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานที่จำเป็นแก่เซลล์พืชแล้ว ยัง

สามารถนำไปใช้ในการเติมหมู่น้ำตาลให้กับสาร aglycone ในกระบวนการ glycosylation ซึ่งเป็นปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายของกระบวนการสังเคราะห์แอนโธไซยานิน (Sato *et al.*, 1996) ผลดังกล่าวเช่นเดียวกันกับงานทดลองของ Kim และ Kim (2002) ศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส ที่ 1, 3, 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ ต่อการผลิตแอนโธไซยานินในการเพาะเลี้ยงเซลล์องุ่น พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุด สอดคล้องกับการศึกษาของ Neto และ Otoni (2003) รายงานว่าน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงพืชทั่วไป เพราะน้ำตาลดังกล่าวให้ค่า osmotic potential ที่ต่ำกว่าน้ำตาลชนิดอื่น เมื่อเปรียบเทียบในระดับความเข้มข้นที่เท่ากัน (3%) นอกจากนี้ยังสามารถรักษาระดับความเป็นกรดเป็นด่างในอาหารได้ใกล้เคียงกันทั้งก่อนและหลังนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลชนิดอื่น ๆ อย่างไรก็ตามจากรายงานของ Chi และ Girmier (1991) ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยขององุ่น (*Vitis. vinifera* L.) ให้ผลแตกต่างกัน โดยพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง แต่ให้เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่ผลิตแอนโธไซยานินได้เพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณแอนโธไซยานินรวมสูงมากกว่าในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่ำ เมื่อปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นจะก่อให้เกิดภาวะเครียดขึ้นแก่เซลล์ที่เพาะเลี้ยง มีผลไปลดการเติบโตของเซลล์ แต่จะกระตุ้นการสังเคราะห์แอนโธไซยานินได้ แต่ทั้งนี้หากเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลลงในอาหารมากเกินไป การสังเคราะห์แอนโธไซยานินจะลดลง เนื่องจากอาหารเพาะเลี้ยงมีปริมาณน้ำตาลมากไปขัดขวางกระบวนการเมแทบอลิซึมโดยเกิดภาวะ osmotic effect ทำให้สมดุลของเซลล์และความดันออสโมติกของเซลล์เปลี่ยนไป อัตราการเคลื่อนย้ายเอนไซม์และสารต่าง ๆ ภายในเซลล์ช้าลงเป็นอุปสรรคต่อกระบวนการสังเคราะห์แอนโธไซยานิน (Mori and Sakurai, 1994; Do and Cormier, 1991) ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์ต่อการลดลงของค่า osmotic potential โดยทำให้เกิดการเป็นพิษต่อเซลล์พืชได้ (Neto and Otoni,2003) การศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสร่วมกับสารออสโมติคัมที่มีต่อผลผลิตแอนโธไซยานิน พบว่า การเพาะเลี้ยงแคลลัสกุหลาบมอญบนอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุด การเติมสารออสโมติคัมในอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าออสโมติกโพเทียลเชียลทำให้พืชเกิดภาวะ osmotic stress โดย Kim และคณะ (2001) รายงานการเพาะเลี้ยงเซลล์ซัสเพนชันของ *Taxus chinensis* เพื่อผลิตสารทุติยภูมิ พบว่า การเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ PEG 20 mM ให้ปริมาณการผลิตสาร paclitaxel สูงสุด ซึ่งภายใต้ภาวะ osmotic stress การเจริญเติบโตของเซลล์จะลดลงแต่มีการสะสมสารชีวเคมีเพิ่มขึ้น และภายใต้

ภาวะ osmotic stress นี้เซลล์จะมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา และปฏิกิริยาของเอ็นไซม์ ซึ่งส่งผลชักนำให้เกิดการสร้างสารชีวเคมีขึ้น อย่างไรก็ตามการเติมน้ำตาลซูโครสร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร ให้ปริมาณแอนโธไซยานินน้อยกว่าในอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เพียงชนิดเดียว เพราะหากความดันออสโมติคภายนอกสูงเกินไปจะทำให้เซลล์ลดการนำเข้ากรดอะมิโน กระบวนการเมตาบอลิซึมและการเจริญเติบโตของเซลล์เสียหายได้ (Kim *et al.*,2001) ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงแคลลัสกุหลาบมอญเพื่อผลิตแอนโธไซยานินต่อไป การเติมน้ำตาลซูโครส ในอาหารเพาะเลี้ยงเพียงชนิดเดียวจึงเหมาะสมกว่า

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการผลิตแอนโธไซยานินในการเพาะเลี้ยงเซลล์ซัสเพนชัน พบว่า ในอาหารเหลวสูตร LS ที่เติม dicamba 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เซลล์ไม่สามารถสังเคราะห์แอนโธไซยานินได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสภาพในการเลี้ยงไม่เหมาะสม โดยบริเวณที่วางเลี้ยงเซลล์ซัสเพนชันไม่สามารถควบคุมแสง และอุณหภูมิได้ ซึ่งมีความเข้มแสงเพียง 210 ลักซ์ ความเข้มแสงที่น้อยเกินไปมีผลทำให้เซลล์ซัสเพนชันกุหลาบมอญไม่สามารถสังเคราะห์แอนโธไซยานินได้ในสภาพเขย่าเลี้ยง จากการศึกษาของ Sato และคณะ (1996) เพาะเลี้ยงเซลล์ซัสเพนชันองุ่น พบว่า แสงกระตุ้นให้มีการสร้างแอนโธไซยานินมากกว่าการเลี้ยงเซลล์ในสภาพมืด นอกจากนี้การสังเคราะห์แอนโธไซยานินจะขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการให้แสง คุณภาพแสงหรือชนิดของแสง และความเข้มแสงด้วย (Zhang *et al.*, 2002) โดยต่อไปในอนาคตหากศึกษาการผลิตแอนโธไซยานินในการเพาะเลี้ยงเซลล์ซัสเพนชัน ควรนำเซลล์ซัสเพนชันไปวางเลี้ยงในสภาพที่สามารถควบคุมแสงและอุณหภูมิได้