บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการชักนำให้คำฝอยเกิดการกลายพันธุ์ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้วิธีให้สาร EMS กับใบเลี้ยง สามารถสรุปได้ว่า ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสาร EMS คือ 0.8% เพราะทำให้เกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อสูง แต่ยังมีการเกิดแคลลัสและการพัฒนาไปเป็นยอดดีพอสมควร โดยมีหลักเกณฑ์ในการพิจารณา คือ การให้สารก่อกลายพันธุ์ที่มีความเข้มข้นสูงแก่พืช จะทำให้พืชมีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์สูงขึ้น (สิรินุช ลามศรีจันทร์, 2536) อย่างไรก็ตามหากใช้ความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้การรอดชีวิตของพืชลดต่ำลงจนไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ (Omar, Novak and Brunner, 1989) แต่ในงานวิจัยนี้ไม่สามารถบอกได้อย่างชัดเจนว่าใบเลี้ยงมีการรอดชีวิตเท่าไร เพราะเมื่อได้รับสาร EMS แล้วเกิดความเสียหายระดับต่าง ๆ บนใบเลี้ยง แต่ยังสามารถเจริญไปเป็นแคลลัสและมีการพัฒนาไปเป็นยอดได้ ดังนั้นจึงพิจารณาว่าควรเลือกระดับความเข้มข้นของสาร EMS ที่สูงที่สุดที่ทำให้เกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อได้สูง แต่ไม่ไปลดความสามารถในการเจริญไปเป็นแคลลัสและการพัฒนาไปเป็นยอดให้ต่ำจนเกินไป ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงเลือกใช้สาร EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.8% ในขณะที่หากใช้สาร EMS ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 0.8% จะเกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อมากยิ่งขึ้น และส่งผลกระทบทำให้เกิดแคลลัสและการพัฒนาไปเป็นยอดต่ำมากหรือไม่เกิดยอด ซึ่งผลการทดลองที่ได้นั้นสอดคล้องกับรายงานของ Marizal, Simonson และ Beanziger (1991) พบว่า เมื่อใช้สาร EMS ความเข้มข้นสูงมากขึ้นเพียงใดจะทำให้ชิ้นส่วนเอ็มบริโอของเมล็ดข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) เกิดแคลลัสน้อยลง ในทางตรงกันข้ามหากใช้สาร EMS ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 0.8% แม้ว่าจะเกิดแคลลัสและต้นได้มากกว่า แต่จะเกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ลันนิษฐานว่ามีสาเหตุมาจากเนื้อเยื่อได้รับปริมาณสาร EMS น้อยเกินไป และอาจจะส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์ได้น้อยหรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงเลย (สิรินุช ลามศรีจันทร์, 2536) ในด้านการหาวิธีการเตรียมสารละลาย EMS ที่เหมาะสมนั้น พบว่า ควรใช้วิธีการเตรียมในอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ค่าความเป็น กรด-ด่าง 5.7 เนื่องจากเมื่อเตรียมสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันในอาหารเหลวสูตร MS จะเกิดความเสียหายของ

เนื้อเยื่อสูงกว่า เกิดแคลลัสและการพัฒนาไปเป็นยอดดีกว่าการเตรียมสารละลาย EMS ใน ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ซึ่งในงานวิจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการใช้สาร EMS กับพืชทั้งในสภาพ *in vivo* (Khalatkar, Gopal-Ayengar and Bhatia, 1977 ; Lee and Halloran, 1982) และ *in vitro* (Reisch and Bingham, 1981 ; Wolf and Earle, 1990 ; Sadanandam and Ashfaq-Farooqui, 1991) ไม่ได้อธิบายถึงเหตุผลในการเลือกใช้วิธีการเตรียมสารละลาย EMS จึงสันนิษฐานว่าการใช้สาร EMS กับพืช ไม่ว่าจะเป็นชิ้นส่วนพืช แคลลัส เซลล์แขวนลอย หรือเมล็ดพืช จะมีวิธีการที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลาย EMS แตกต่างกันออกไป สำหรับการหาความเข้มข้นที่เหมาะสม ของสารตัวพา คือ DMSO ในการใช้ร่วมกับสาร EMS มีระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 4.0% เพราะว่าเมื่อใช้สาร DMSO ที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวร่วมกับสาร EMS แล้วทำให้เกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อสูงกว่าการใช้สาร DMSO ที่มีระดับความเข้มข้นต่ำกว่า แต่ยังเกิดแคลลัสและมีการพัฒนาไปเป็นยอดใกล้เคียงกัน โดยพบว่าความเสียหายของเนื้อเยื่อนอกจากจะเกิดจากผลของสาร EMS โดยตรงแล้ว ยังเป็นผลมาจากสาร DMSO ด้วย เนื่องจากเมื่อใช้ สาร EMS ร่วมกับสาร DMSO ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น จะเกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อมากยิ่งขึ้น ซึ่งอาจจะมีสาเหตุมาจากการใช้สารตัวพาที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นจะทำให้มีการดูดซึมสารก่อกลายพันธุ์เข้าไปในเนื้อเยื่อได้มากขึ้น โดยมีรายงานที่กล่าวถึงความสำคัญของสาร DMSO ที่ทำหน้าที่เป็นเสมือนตัวพาในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการดูดซึมสาร EMS ให้เข้าไปในเนื้อเยื่อพืชได้มากยิ่งขึ้น (Omar *et al*., 1989 ; Omar and Novak, 1990) ส่วนการหาระยะเวลาการให้สาร EMS ที่เหมาะสม พบว่า การให้สาร EMS เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง เป็นระยะเวลาที่เหมาะสม เพราะว่าทำให้เกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อสูง แต่ยังมีการเกิดแคลลัสและการพัฒนาไปเป็นยอดได้ดี โดยการให้สาร EMS เป็นเวลานานกว่า 3 ชั่วโมง จะเกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อได้สูงกว่า แต่มีการพัฒนาไปเป็นยอดของแคลลัสน้อยเกินไป ในขณะที่หากใช้ระยะเวลาให้สาร EMS ที่สั้นกว่าแม้ว่าจะเกิดแคลลัสและการพัฒนาไปเป็นยอดมากกว่า แต่เกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อได้เพียงเล็กน้อย จากงานวิจัยของ Omar *et al*. (1989) และ Omar และ Novak (1990) ชี้ให้เห็นว่าการดูดซึมสาร EMS เข้าไปในเนื้อเยื่อจะมากขึ้นตามระยะเวลาการให้สาร แสดงว่าการใช้ระยะเวลาให้สาร EMS สั้นอาจจะไม่เพียงพอต่อการดูดซึมสารก่อกลายพันธุ์ แต่หากใช้ระยะเวลานานเกินไปจะเกิดสารพิษที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรลิซีส มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อพืช แต่ไม่มีคุณสมบัติก่อกลายพันธุ์ (Savin, Swaminathan and Sharma, 1968 ; IAEA, 1977) ซึ่งอาจจะส่งผลให้เนื้อเยื่อเกิดความเสียหายมาก และไปกระทบต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืชได้

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นคำฝอยที่ได้จากการให้สาร EMS ในช่วงความเข้มข้น 0.2-1.0% เปรียบเทียบกับ control ซึ่งไม่ได้รับสาร EMS สามารถสรุปได้ว่าโดยส่วนใหญ่แล้วลักษณะทางสัณฐานวิทยาในด้านความสูง ขนาดใบ จำนวนหนามที่ใบ และอายุการออกดอก ไม่มีความแตกต่างกัน และยังมีรูปแบบของลักษณะที่แปรปรวนออกไปจากต้นปกติไม่แตกต่างกัน ได้แก่ การยืดยาวของต้น การอวบน้ำของใบ รูปร่างใบ และความยาวหนามที่ใบ โดยความแปรปรวนมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีการให้สาร EMS และการให้สาร EMS ความเข้มข้นสูงขึ้นมีแนวโน้มเกิดความแปรปรวนมากยิ่งขึ้น ซึ่งตามปกติแล้วการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคำฝอยเกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง ยกตัวอย่างเช่น การชักนำให้เกิดดอก (capitula) ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบความแปรปรวนของลักษณะรูปแบบดอกอย่างหลากหลาย (Tejovathi and Anwar, 1984) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าความแปรปรวนของลักษณะต่าง ๆ ในต้นพืชที่พัฒนาขึ้นมานอกจากจะเกิดจากความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นเองในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (somaclonal variation) (Larkin and Scowcroft, 1981) แล้ว ยังเกิดจากอิทธิพลของสาร EMS ซึ่งอาจจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของต้น จึงกล่าวได้ว่าสาร EMS เป็นสารก่อกลายพันธุ์ที่สามารถกระตุ้นให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมได้มากยิ่งขึ้น (van den Bulk *et al.*, 1990) อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ไม่สามารถบอกได้ว่าเกิดการกลายพันธุ์ทางลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นได้ เนื่องจากยอดคำฝอยที่ได้จากการให้สาร EMS นั้นไม่เกิดราก ทำให้ไม่สามารถย้ายต้นไปปลูกในเรือนเพาะชำและเก็บเมล็ดมาปลูกทดสอบการถ่ายทอดลักษณะที่คาดว่าจะกลายพันธุ์ได้ เช่น ลักษณะลำต้นมีปล้องสั้น ลักษณะใบอวบน้ำ ลักษณะรูปร่างใบผิดปกติ และลักษณะหนามสั้นหรือหนามยาว ดังนั้นจึงจำเป็นต้องสังเกตลักษณะของต้นภายใต้สภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งบอกได้เพียงความแปรปรวนของลักษณะที่แตกต่างไปจากต้นปกติเท่านั้น ในกรณีที่ยอดคำฝอยที่ผ่านการชักนำด้วยสาร EMS ไม่ออกรากนั้น สาเหตุหนึ่งอาจเป็นผลกระทบของสาร EMS (Omar and Novak, 1990) และคาดว่ามีสาเหตุมาจากสูตรอาหารที่นำมาใช้ชักนำให้เกิดราก คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (Anupan Kongbangkerd, 1995) อาจจะยังพัฒนาได้ไม่เหมาะสม เนื่องจากสังเกตได้ว่ายอดที่ไม่ผ่านการใช้สาร EMS (control) ไม่เกิดรากเช่นเดียวกัน

ในการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่ทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ ชนิดของชิ้นส่วนพืช อายุของชิ้นส่วนพืช ส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ ชนิดของสูตรอาหาร ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต และชนิดของน้ำตาลซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนนั้น แสดงให้เห็นว่าปัจจัยเหล่านี้มีผลทำให้เกิดความแปรปรวนทาง

สัณฐานวิทยาของต้นคำฝอยได้ โดยปรากฏรูปแบบของความแปรปรวนเป็นแบบเดียวกัน แต่มีความแปรปรวนมากน้อยแตกต่างกัน ดังเช่น ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงลำต้นใต้ใบเลี้ยงมีความแปรปรวนสูงกว่าต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยง การเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงที่มีอายุแตกต่างกันจะทำให้ต้นที่พัฒนาขึ้นมามีความแปรปรวนมากขึ้นเมื่อใช้ใบเลี้ยงที่มีอายุมากขึ้น ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงด้วยสูตรอาหารต่างชนิดกัน ได้แก่ MS, LS, SH และ B5 ซึ่งล้วนแต่เป็นสูตรอาหารเบื้องต้น (basal medium) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ทั่วไป มีความแปรปรวนค่อนข้างต่ำ การเพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่ใส่ออกซินชนิดต่าง ๆ ร่วมกับ BA จะมีความแปรปรวนน้อย แต่การใช้ออกซินชนิดต่าง ๆ ร่วมกับ Kinetin เกิดต้นที่มีความแปรปรวนสูงในทุกลักษณะ แม้กระทั่งการใส่น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารนั้นก็ยังมีผลต่อความแปรปรวนของลักษณะต้นที่ปรากฏออกมา โดยการใช้น้ำตาลฟรุกโทสได้ต้นที่มีความแปรปรวนสูงกว่าการใช้ซูโครส อย่างไรก็ตามลักษณะที่เกิดจากความแปรปรวนทางพันธุกรรมนั้นคาดว่าน่าจะเป็นผลมาจากสภาพทางพันธุศาสตร์ของเนื้อเยื่อเริ่มต้น (Orton, 1983) และความแปรปรวนที่มีอยู่แล้วในชิ้นส่วนพืชก่อนจะนำมาเพาะเลี้ยง (Evans *et al.*,1984) ส่วนปัจจัยอื่น ๆ ไม่ว่าจะเป็นส่วนประกอบของอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต หรือแหล่งคาร์บอน อาจจะเป็นปัจจัยเสริมที่ทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมได้ (Orton, 1983)

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตน้ำมันและกรดไขมันในแคลลัสที่ได้จากการให้สาร EMS กับใบเลี้ยงตามภาวะที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ดังที่กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่า การให้สาร EMS ทำให้แคลลัสที่พัฒนาขึ้นมามีปริมาณน้ำมันสูงกว่า control ที่ไม่ได้รับสาร EMS ในแต่ละช่วงอายุของแคลลัส โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดไขมันหลักที่พบในแคลลัส คือ กรดปาล์มิติก (C16:0), กรดสเตียริก (C18:0), กรดโอเลอิก (C18:1) และกรดลิโนเลอิก (C18:2) ซึ่งเป็นชนิดเดียวกันกับกรดไขมันที่พบอยู่ในเมล็ดคำฝอยพันธุ์ Munjira (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2531) แต่ทำให้เกิดความแปรปรวนของการผลิตกรดไขมัน โดยมีผลไปเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว คือ กรดโอเลอิก (C18:1) และกรดลิโนเลอิก (C18:2) และลดปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว คือ กรดปาล์มิติก (C16:0) และกรดสเตียริก (C18:0) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสาร EMS ไปก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อการสร้างกรดไขมันชนิดใดชนิดหนึ่ง ทำให้มีการสังเคราะห์กรดไขมันชนิดนั้น ๆ มากขึ้นหรือลดลง (James and Dooner,1990) โดยก่อนหน้านี้ยังไม่มีรายงานที่เกี่ยวข้องกับการใช้สาร EMS เพื่อชักนำให้เกิดความแปรปรวนของการผลิตกรดไขมันในสภาพ *in vitro* แต่ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Khadeer และ Anwar (1991) ที่ใช้สาร EMS กับคำฝอยในสภาพ

in vivo ซึ่งสายพันธุ์กลายพันธุ์ที่ได้มีปริมาณน้ำมันสูงขึ้น มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวลดลงและมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงขึ้น นอกจากนั้นในทานตะวัน (Osorio *et al.*,1995) ซึ่งเป็นพืชในสกุลเดียวกันกับคำฝอย รวมทั้งพืชชนิดอื่น ๆ (Green and Marshall,1984 ; James and Docner, 1990) มีรายงานว่า สาร EMS สามารถชักนำให้เกิดสายพันธุ์กลายพันธุ์ที่มีความแปรปรวนของปริมาณน้ำมันและกรดไขมันจำแนกออกมาได้หลากหลายประเภท ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการให้สารก่อกลายพันธุ์ EMS แก่เนื้อเยื่อพืชหรือเมล็ดพืชสามารถชักนำให้เกิดความแปรปรวนของปริมาณน้ำมันและกรดไขมันได้ ซึ่งอาจจะใช้ประโยชน์จากความแปรปรวนดังกล่าวมาปรับปรุงให้มีการผลิตน้ำมันสูงขึ้น หรือปรับปรุงให้มีปริมาณกรดไขมันบางชนิดเพิ่มขึ้นหรือลดลง หรืออาจจะแยกเซลล์เดี่ยวออกจากแคลลัสซึ่งเซลล์นั้นเป็นโคลนที่สามารถผลิตกรดไขมันชนิดที่ต้องการในปริมาณมากได้ (Pandey, Mandal and Gadgil, 1986) ในงานวิจัยนี้มีข้อสังเกตว่าปริมาณน้ำมันและกรดไขมันแต่ละชนิดจะเปลี่ยนแปลงไปตามอายุของแคลลัส ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการสังเคราะห์กรดไขมันของเซลล์ที่เจริญขึ้นมาใหม่ของแคลลัส (Halder and Gadgil, 1983) ฉะนั้นในการเปรียบเทียบความแปรปรวนของการผลิตน้ำมันและกรดไขมันในแคลลัสจึงควรพิจารณาถึงอายุของแคลลัสด้วย

สำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำมันและกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยไม่ผ่านการใช้สารเคมีก่อกลายพันธุ์ จากการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่คาดว่าจะมีผลต่อการผลิตน้ำมันและกรดไขมันในแคลลัส ได้แก่ อายุของชิ้นส่วนพืช อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สารควบคุมการเจริญเติบโต และแหล่งคาร์บอน แสดงให้เห็นว่าปัจจัยดังกล่าวมีผลต่อการเกิดความแปรปรวนของปริมาณน้ำมันและกรดไขมันในแคลลัส แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดไขมันหลัก คือ กรดปาล์มิติก (C16:0), กรดสเตียริก (C18:0), กรดโอเลอิก (C18:1) และกรดลิโนเลอิก (C18:2) กล่าวคือ เมื่อใช้ใบเลี้ยงที่มีอายุแตกต่างกันเป็นแหล่งเนื้อเยื่อ แคลลัสที่เจริญขึ้นมาจะมีความแปรปรวนของการผลิตน้ำมันเพียงเล็กน้อย คือ อยู่ในช่วง 1.04-1.32% (ตารางที่ 3.19) โดยแคลลัสที่เจริญมาจากใบเลี้ยงอายุ 1 สัปดาห์ มีปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดสูงที่สุด ซึ่งพบว่าการใช้ใบเลี้ยงที่มีอายุมากขึ้นเป็นแหล่งเนื้อเยื่อทำให้แคลลัสมีการผลิตกรดไขมันแต่ละชนิดลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเนื้อเยื่อใบเลี้ยงมีการเปลี่ยนแปลงแมทาบอลิซึมของเซลล์ไปตามอายุ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงจะได้แคลลัสที่มีปริมาณกรดไขมันแตกต่างกัน (Gemrich and Schraudolf, 1980) ในการใช้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่างชนิดกันจะพบว่า เกิดความแปรปรวนของปริมาณน้ำมันในแคลลัสสูงพอสมควร คือ อยู่ในช่วง 0.76-1.46% (ตารางที่ 3.20) โดยแคลลัสจะมีปริมาณกรดไขมันส่วนใหญ่สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS ซึ่งสันนิษฐานว่าอาจจะมีสาเหตุมาจากอาหารเพาะ

เลี้ยงเนื้อเยื่อแต่ละชนิดมีธาตุอาหารและวิตามินที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดไขมันในปริมาณไม่เท่ากัน เมื่อนำมาเลี้ยงเนื้อเยื่อจะได้แคลลัสที่มีปริมาณกรดไขมันแตกต่างกัน โดยมีรายงานว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเอ็มบริโอของถั่วเหลือง (*Glycine max* L.) ด้วยอาหารต่างชนิดกันทำให้เกิดความแปรปรวนของปริมาณกรดไขมันได้ (Dahmer, Collins and Hildebrand, 1991) ส่วนการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงด้วยอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ จะมีความแปรปรวนของปริมาณน้ำมันค่อนข้างสูง คือ อยู่ในช่วง 1.06-2.74% (ตารางที่ 3.21) และเกิดความแปรปรวนของปริมาณกรดไขมัน โดยกรดไขมันส่วนใหญ่จะมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อใช้ IBA ร่วมกับ BA และสังเกตพบว่า การใช้ออกซินชนิดต่าง ๆ ร่วมกับ BA มีกรดไขมันส่วนใหญ่สูงกว่าการใช้ร่วมกับ Kinetin ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Pandey และ Gadgil (1984) พบว่า การใช้ออกซินและไซโทไคนินชนิดต่าง ๆ ร่วมกันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันในแคลลัสของ *Cucumis melo* และ *Cucumis sativus* เหตุการณ์ดังกล่าวอาจจะอธิบายได้ว่า การเกิดความแปรปรวนของปริมาณกรดไขมันนอกจากจะมีผลโดยตรงมาจากเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดไขมันแล้ว คาดว่าจะมีผลโดยอ้อมมาจากชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต (Galston and Davies, 1969) ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตอาจจะมีผลกระทบต่อขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของการสังเคราะห์กรดไขมัน (Halder and Gadgil,1983) การใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารพบว่า มีความแปรปรวนของการผลิตน้ำมันในแคลลัสค่อนข้างสูง คือ อยู่ระหว่าง 0.56-1.25% (ตารางที่ 3.22) และเกิดความแปรปรวนของปริมาณกรดไขมันชนิดต่าง ๆ โดยการใช้น้ำตาลซูโครสจะมีปริมาณกรดไขมันส่วนใหญ่สูงกว่าการใช้น้ำตาลชนิดอื่น ๆ ซึ่งสัณนิษฐานว่าความแปรปรวนดังกล่าวอาจจะเป็นผลมาจากอิทธิพลของชนิดแหล่งคาร์บอน ดังเช่นงานวิจัยที่เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของ *Theobroma cacao* พบว่า การใช้อาหารที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันได้ (Kononowiez and Janick, 1984)