

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ปอสาหรือปอกระสา (paper mulberry) เป็นไม้ยืนต้นอยู่ในตระกูล Moraceae ตระกูลเดียวกับหม่อน (mulberry tree) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Broussonetia papyrifera* Vent. (เนาวรัตน์, 2523) พบในป่าเบญจพรรณ และขึ้นกระจายทั่วไปตามแหล่งชุ่มชื้น มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชียแถบประเทศจีน พม่า และไทย (ไชยยศ, 2534) เจริญเติบโตค่อนข้างเร็ว ต้นเป็นพุ่มค่อนข้างใหญ่ (เนาวรัตน์, 2523) ลำต้นมีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลเข้ม เมื่ออายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลปนดำหรือมีลายดำ ลักษณะเช่นนี้จะเปลี่ยนไปตามสภาพแวดล้อม ระหว่างเปลือกกับลำต้นหรือกิ่งมีน้ำยางสีขาวข้น

ใบมี 2 ลักษณะ คือ ใบมนและใบแฉก ใบที่มีลักษณะแฉกจะมีตั้งแต่ 3-5 แฉก ใบปอสาทั้ง 2 ลักษณะอาจพบปะปนในต้นเดียวกันหรืออาจอยู่แยกต้นกัน ขนาดใบกว้าง 6-12 ซม ยาว 8-18 ซม ปลายใบแหลม ฐานใบโค้งเข้าคล้ายรูปหัวใจ ขอบใบหยักคล้ายฟันเลื่อย หลังใบสีเขียวแก่ ท้องใบสีเขียวอ่อน ก้านใบยาว 3-10 ซม ขึ้นอยู่กับขนาดหูใบ ซึ่งยาว 1-2 ซม ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกจากกันคนละต้น (dioecious) ช่อดอกตัวเมียเป็นแบบ dense spike มีขนาดช่อยาว 2-3 ซม ถ้าออกดอกในช่วงเดือนเมษายน-พฤษภาคม จะให้ดอกขนาดเล็กกว่าในช่วงเดือนอื่น ๆ ช่อดอกตัวผู้เป็นแบบ spike ยาวประมาณ 2-4 ซม ดอกย่อยมีขนาดเล็ก มีกลีบดอก 4 กลีบ และเกสรตัวผู้ 4 อัน ดอกตัวผู้จะออกดอกและบานพร้อมกันกับดอกตัวเมีย ดอกปอสาที่ได้รับการผสมแล้วส่วนของเมล็ดจะถูกดันออกมาอยู่นอกผลและมีถุงน้ำหวานเข้มสีแดงหุ้มไว้ เมล็ดมีขนาดเล็ก (1,000 เมล็ด มีน้ำหนักแห้ง 2.5 กรัม) สีน้ำตาลแดงติดที่ปลายถุงน้ำหวาน ปอสาจะออกดอกปีละครั้งโดยเริ่มเมื่อมีอายุ 1 ปีขึ้นไป ดอกบานช่วงฤดูแล้งประมาณเดือนพฤศจิกายน เมล็ดแก่ประมาณเดือนเมษายน-พฤษภาคม แต่สภาพดินที่แห้งแล้งหรือความชื้นต่ำ ปอสาจะออกดอกมากกว่า 1 ครั้ง หากสภาพดินมีความชื้นสูงปอสาจะออกดอกน้อยมากหรือไม่ออกดอกเลย ช่วงเวลาที่ปอสาออกดอกจะลอกเปลือกยากกว่าระยะไม่มีดอก ปอสามีระบบรากแก้วไม่ลึกนัก แต่จะมีการแตกไหล (stolon) กระจายรอบ ๆ ต้น ซึ่งส่วนของไหลนั้นสามารถนำไปขยายพันธุ์ได้ (ไชยยศ, 2534)

Yadav et al. (1990) ได้รายงานความสำเร็จการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชโกโก้เลี้ยงปอสา คือ หม่อน (*Morus nigra* L.) โดยการใช้ปลายยอดเป็นชิ้นส่วนเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) (1962) ที่มีวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ แล้วเปรียบเทียบกับผลของไซโตไคนิน คือ 6-benzyl amino purine (BAP) และ kinetin (KIN) พบว่าจำนวนยอดจะเพิ่มมากที่สุดเมื่อใช้ BAP 1 มก/ล คือประมาณ 4.2 ยอด (ยอดที่ยาวมากกว่า 1 ซม ขึ้นไป) ในเวลา 4 สัปดาห์ แต่ความยาวของยอดมากที่สุด เมื่อใช้ BAP 0.5 มก/ล เขาพบว่า BAP ให้ผลดีกว่า KIN ในการเพิ่มปริมาณยอดและการเจริญเติบโต นอกจากนี้ Ivanicka (1987) ยังรายงานว่าหม่อนจะเพิ่มปริมาณเป็น 3-5 เท่า เมื่อใช้ BAP 1 มก/ล เต็มลงในอาหารเช่นเดียวกัน

riboflavin หรือ วิตามิน B₂ ก็ถูกนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเช่นเดียวกับวิตามินตัวอื่น ๆ (George and Sherrington, 1984) Miller et al. (1982) พบว่า riboflavin มีผลช่วยยับยั้งการเกิดรากจากยอดของท้อ (*Prunus persica* L.) ที่เลี้ยงในขวดแก้ว จากงานทดลองของ Drew et al. (1991) ซึ่งทำกับมะละกอพบว่า การเติม riboflavin มีผลต่อการพัฒนาราก และเปอร์เซ็นต์ยอดที่ออกรากในอาหารที่มี indole-3-butyric acid (IBA) 10 μ M โดยพบว่าความเข้มข้นของ riboflavin ที่เหมาะสมสำหรับการเกิดรากใหม่ของยอดอยู่ในช่วง 1 μ M แต่การออกรากจะต่ำ และรากจะเกิดช้าถ้า riboflavin มีความเข้มข้นต่ำหรือสูงกว่านี้ เขารายงานว่ายอด 90 เปอร์เซ็นต์ เกิดรากภายใน 11 วัน บนอาหารที่มี riboflavin 1 μ M และจะเกิดราก 85 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารที่มี riboflavin 10 μ M ซึ่ง riboflavin นี้จะสลายตัวอย่างรวดเร็วในที่ ๆ มีแสง จะพบเพียงเล็กน้อยหลังจาก 3 วันผ่านไป และการสลายตัวจะไม่ขึ้นกับ IBA ที่เติมในอาหาร โดยพบว่าในอาหารที่ปราศจาก riboflavin นั้น IBA จะลดลงในอัตราที่คงที่จาก 10 μ M เป็น 4 μ M ภายในเวลา 16 วัน การลดลงของระดับ IBA จะมากขึ้นเมื่อระดับของ riboflavin เพิ่มขึ้นและเก็บไว้ในที่มีแสง คือ จะไม่พบ IBA ในอาหารที่มี riboflavin 10 μ M หลัง 2 วันไปแล้ว ส่วนในอาหารที่มีความเข้มข้นของ IBA เพียงอย่างเดียว IBA ลดลงจาก 10 μ M เป็น 9 μ M ในวันแรก และจะ

คงอยู่เช่นนี้ไม่เปลี่ยนแปลงเป็นเวลา 28 วัน ส่วนความเข้มข้นของ riboflavin ลดลงประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 0 (วัดหลังจากเตรียมอาหาร) และจะคงอยู่เช่นนี้เป็นเวลา 20 วันในที่มีด

ลักษณะกายวิภาคและสัณฐานวิทยาของฟิรที่ผิดปกติ

อาการที่ปรากฏให้เห็นด้วยตา ได้แก่ ต้นและใบมีลักษณะใส ฉ่ำน้ำ และมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ ซึ่งรวมถึงการเปลี่ยนแปลงที่ถูกระงับก่อนที่จะมองเห็น (Ziv, 1986) จากการศึกษาลักษณะที่ฉ่ำน้ำในแอปเปิล พบว่าระบบการสร้างช่องว่าง (lacuna) มีการพัฒนาอย่างมาก โดยเฉพาะเพิ่มปริมาณมากขึ้นถึง 5 เท่า (Paques and Boxus, 1987a) และในคาร์เนชั่นจะเพิ่มช่องว่างระหว่างเซลล์มากขึ้น (Kevers and Gaspar, 1986) เซลล์ในใบฉ่ำน้ำจะมีผนังเซลล์บาง และมีไซโทพลาสซึมที่มีแวคิวโอลขนาดใหญ่และไม่ค่อยดี (Fabbri *et al.*, 1986 ; Reuther, 1988; Vieitez *et al.*, 1987; Leshem, 1987a) ใน sweetgum มีคลอโรพลาสต์หลายอันที่มีการจัดเรียง grana และ stroma ไม่เป็นระเบียบ (Wetzstein and Sommer, 1983) ในพืชหลายชนิดการเกิดการฉ่ำน้ำของใบจะเกี่ยวกับเนื้อเยื่อเอพิเคอร์มิสที่ผิดปกติ โดยที่ epicuticular wax มีการสะสมที่ผิดปกติทั้งปริมาณและคุณภาพของ wax (Ziv *et al.*, 1983) โดยที่มีการสร้าง wax แบบบาง ๆ และองค์ประกอบผิดไปไม่เหมือนใบปกติ ซึ่งจะทำให้ต้นพืชที่ย้ายออกปลูกนอกขวดแก้วสูญเสียน้ำมากเกินไป (Sutter, 1985) Ziv (1986) ได้สังเกตยอดคาร์เนชั่นที่เลี้ยงในขวดแก้วว่ามีปฏิสัมพันธ์ในเชิงกลับกันระหว่างปริมาณของ epicuticular wax กับความชื้นสัมพัทธ์ในขวดแก้ว นอกจากนี้ปากใบของเนื้อเยื่อเอพิเคอร์มิสในเนื้อเยื่อหลายชนิดไม่ทำงานตามปกติ และยังคงเปิดอยู่แม้อยู่ในสภาพมืดหรือในสภาพที่มีสภาวะเครียดเนื่องจากการขาดน้ำ (Brainerd *et al.*, 1981; Fuchigami *et al.*, 1981) ในเจอร์ราเนียมและกุหลาบจะพบปากใบที่ใหญ่ผิดปกติ (Reuther, 1988) รวมทั้งในใบของแอปเปิลด้วย (Blanke and Belcher, 1989) จากการศึกษาปากใบที่ฉ่ำน้ำพบว่า ระดับของเพคติน คิวติเคิล และเซลลูโลสต่ำ (Werker and Leshem, 1987)

ในบางใบของเซอรีและคาร์เนชั่นที่ฉ่ำน้ำพบการสะสมของสารพวก polysaccharide (callose) ผนังเซลล์จะขาดการเรียงตัวของ cellulose microfibril ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของปากใบ ซึ่งจะ เป็นสาเหตุทำให้ปากใบปิดไม่ได้ เพราะผนังของ stomatal pore เสียหาย เนื่องจาก cell plate ที่ติดปกติในระหว่างการแบ่งตัว (Ziv et al., 1987)

ลำต้นที่ฉ่ำน้ำจะมีการสร้างลิกนินลดลง ผนังเซลล์บาง ช่องว่างระหว่างเซลล์ใหญ่ และท่อลำเลียงอาหารลดลง เช่น ในเกาลัด เจอราเนียม และแอปเปิล ลำต้นจะขาดเนื้อเยื่อ sclerenchyma คิวติเคิล และพืท (Vieitez et al., 1985) ต้นคาร์เนชั่นที่ฉ่ำน้ำนั้นไม่พบ procambium strands และท่อลำเลียงอาหารจะขาดการเรียงแบบปกติ (Leshem, 1987a) นอกจากนี้ Grout and Aston (1977a) ยังพบว่าในกะหล่ำดอกมีการเชื่อมระหว่างท่อลำเลียงอาหารของต้นและรากไม่สมบูรณ์

ความผิดปกติทางด้านสรีรวิทยา และเมตะบอลิซึมของใบที่ฉ่ำน้ำ

อิทธิพลจากขบวนการทางสรีรวิทยา และเมตะบอลิซึม ซึ่งส่วนมากจะเกี่ยวข้องกับขบวนการสังเคราะห์แสงและการคายน้ำของต้นพืชมีผลทำให้สัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงได้ ดังเช่น พืชที่อยู่ในสภาพแวดล้อมในขวดแก้ว ซึ่งมีผลต่อกิจกรรมของเอ็นไซม์ ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางขบวนการเมตะบอลิซึมของพืชหลายอย่าง (Kevers et al., 1984) นอกจากนี้ความสัมพันธ์ของน้ำในเซลล์ซึ่งถูกเร่งรัดโดยคุณสมบัติ plastic และ elastic ของผนังเซลล์ การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเซลล์ลูโลสและลิกนิน สามารถจะเปลี่ยนแปลงการปิดทศของผนังเซลล์ได้ ึ่งจะไม่มีผลทำให้ความเต่งของเซลล์ลดลง (Kevers and Gaspar, 1986) และจุดนี้จะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับการเพิ่มการดูดน้ำซึ่งมีผลทำให้เกิดการฉ่ำน้ำต่อไป (Gaspar et al., 1987)

ปัจจัยที่มีผลต่อการพัฒนาของต้นกล้าในภาชนะ

1. สภาพแวดล้อมในการเลี้ยง ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอวัยวะ (morphogenesis) ที่ผิดปกติ มีองค์ประกอบอยู่ 2 อย่าง คือ สภาพทางกายภาพและเคมีของอาหาร กับสภาพบรรยากาศของการเลี้ยง เช่น การระเหยของน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ และเอทิลีนในอากาศ (Ziv, 1986; Debergh, 1987) โดยทั่วไปอาหารจะอยู่ในสภาพของเหลวหรือกึ่งแข็ง โดยปกติใช้วุ้นซึ่งจะมีผลต่อค่าพลังงานที่ทำงานได้ต่อโมลของน้ำที่ลดลง เนื่องจากจุดดีระหว่างโมเลกุลของน้ำกับโมเลกุลของสารบางชนิด (matrix potential) นอกจากนี้แล้วยังมีผลต่อความชื้นและความสามารถในการนำน้ำและธาตุอาหารไปใช้ในสภาพที่อยู่ในขวดแก้ว (Debergh et al., 1981; Debergh, 1983) ได้มีการทดลองเพิ่มปริมาณของวุ้นในอาหาร พบว่า สามารถลดการฉ่ำน้ำได้แต่ทำให้ปริมาณต้นที่ได้จากการขยายพันธุ์ลดลงอย่างมาก (Debergh et al., 1981; Ziv et al. 1983; Hakkaart and Versluijs, 1983; von Arnold and Eriksson, 1984) การตอบสนองต่อสารอื่นที่ใช้ทดแทนวุ้นจะแตกต่างกันออกไป ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดพืชและความเข้มข้นของสารนั้น (Debergh, 1983) เช่น ในแอสเปิล มีการใช้ gelrite ซึ่งมี K^+ และ Mg^{+} อยู่ด้วย จะเพิ่มการฉ่ำน้ำ (Pasqualetto et al., 1986) จากผลการทดลองนี้จึงได้มีความพยายามที่จะยืนยันผลของไอออนเหล่านี้ จึงได้มีการลดระดับของ gelrite ลงแต่ gelrite ก็ยังทำให้ใบฉ่ำน้ำแม้จะใช้ในระดับเพียง 1.5 ก/ล ซึ่งเท่ากับความเป็นวุ้น 7 ก/ล การลดระดับของ K^+ กลับกระตุ้นให้การพัฒนาของยอดแอสเปิลผิดปกติไป (Pasqualetto et al., 1988) Debergh (1983) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นหรือสารอื่นที่ใช้ทดแทนวุ้นมีผลต่อการนำสารอื่นไปใช้โดยเฉพาะไซโตโคไน Short et al. (1987) พบว่าในกะหล่ำดอกและ เบนจวมศการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นหรือ polyethylene glycol 5-20 ก/ล จะเพิ่มการสร้าง wax ซึ่งมีผลในการลดความชื้นสัมพัทธ์ในขวด ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของปากใบดีขึ้น Ziv (1986) ก็ได้ลดความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศในขวดโดยใช้สารดูดความชื้น พบว่า จะเพิ่มการสะสม wax ในคาร์เนชั่น และกะหล่ำปลีได้ (Sutter and Langhans, 1982) การใช้ Lanolin layer บนอาหารวุ้นจะ

ลดความชื้นสัมพัทธ์ในขวดเหลือ 35 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะทำยอดเบญจมาศแห้ง และการสะสม wax ในกะหล่ำดอกเพิ่มขึ้น (Wardle *et al.*, 1983) นอกจากนี้แอปเปิลที่อยู่ในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่ำช่วยทำให้การอยู่รอดของต้นเมื่อย้ายปลูกรอกจากขวดแก้วดีขึ้น กล่าวคือมีการพัฒนาใบที่ปกติมากขึ้น (Brainerd and Fuchigami, 1981) การลดความชื้นสัมพัทธ์ลงโดยการนำเอาต้นที่เลี้ยงไปวางไว้บนแผ่นเย็น ซึ่งช่วยให้ไอน้ำกลั่นตัวเป็นหยดน้ำอยู่บนอาหารวุ้น ทำให้ลดการฉ่ำน้ำได้ (Maene and Debergh, 1987)

2. องค์ประกอบของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ สารเหล่านี้อาจมีผลต่อ morphogenesis ของพืช ซึ่งอธิบายได้ 2 ลักษณะ คือ พลังที่ทำงานได้ต่อโมลของน้ำ (water potential) และ matrix potential ซึ่งจะถูกรบกวนโดยตัวละลายและสารที่ทำให้อาหารแข็ง

แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ใช้ในการเลี้ยงต้นไม้ในขวด คือ น้ำตาล Ziv *et al.* (1983) พบว่า ยอดคาร์เนชั่นจะเกิดใบที่ฉ่ำน้ำน้อยถ้าเลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำตาลสูงกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ แต่การใช้สารอื่น เช่น แมนนิทอล (mannitol) ทดแทนซูโครสบางส่วน จะมีความเข้มข้นเท่ากันจะกระตุ้นการเกิดใบที่ฉ่ำน้ำ และ Debergh *et al.* (1981) พบว่า ใน globe artichoke การเพิ่มระดับของซูโครสหรือแมนนิทอลไม่ช่วยลดการฉ่ำน้ำ และ Maene and Debergh (1985) ยังพบว่า ในฟิลิเดนดรอนที่เติมแมนนิทอลจะเพิ่มระดับคลอโรฟิลในใบแต่ไม่เพิ่มการเจริญเติบโต นอกจากนี้ Rugini *et al.* (1987) ยังได้ศึกษาในไม้ผลพวกอัลมอนต์ และมะกอกฝรั่ง พบว่า ฟรุคโตสเข้มข้น 4-5 เปอร์เซ็นต์ จะลดการฉ่ำน้ำ แต่การเติมซอร์บิทอล (sorbitol) อย่างเดียว (4-5 เปอร์เซ็นต์) จะลดการฉ่ำน้ำเพียงเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนี้การใช้อาหารที่มีระดับธาตุอาหารต่ำหรือมีเกลือสูตร MS เพียงครึ่งหนึ่งจะเพิ่มการเกิดต้นปกติของคาร์เนชั่นและกะหล่ำปลีได้ (Ziv *et al.*, 1987; Ziv and Gadasi, 1986) การลดธาตุอาหารรอง MS ลงเหลือ 1/10 เท่าจะช่วยลดการฉ่ำน้ำของคาร์เนชั่นหลาย ๆ พันธุ์ ในขณะที่ใช้ธาตุอาหารรองของ Heller ทดแทนธาตุอาหารรองของ MS จะทำให้ morphogenesis และการขยายพันธุ์ของเยอบีร่าดีขึ้น นอก

จากนี้ยังพบว่าในตระกูลสน การฉ่ำน้ำอาจเพิ่มขึ้นโดยการให้ธาตุอาหารสูตร MS ในระยะต้น ๆ ของการขยายพันธุ์ แต่จะไม่มีผลต่อระยะปลายของการพัฒนา โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออาหารไม่มีซอร์โวมิน (Dencso, 1987) ต้นคาร์เนชั่นที่ฉ่ำน้ำจะสูญเสีย Ca^{++} และ Mg^{++} ลงในอาหารขณะที่มีการดึงดูด K^+ จากอาหารเหลว (Kevers and Gaspar, 1986) นอกจากนี้ Wardle *et al.* (1981) ยังพบว่าระดับของ Na^+ จะสูงขึ้นในขณะที่ K^+ กับธาตุอาหารอื่น ๆ จะลดลงใน guard cell ของต้นกะหล่ำดอกที่เลี้ยงจากเนื้อเยื่อ ซึ่ง Kevers and Gaspar (1986) กล่าวว่า การฉ่ำน้ำนี้เกี่ยวข้องกับค่าพลังงานที่ทำงานได้ต่อโอมลของน้ำที่ลดลง อันเนื่องมาจากการมีตัวถูกละลาย ที่ละลายอยู่ในน้ำ (osmotic potential)

3. สารควบคุมการเจริญเติบโต บทบาทของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการฉ่ำน้ำยังมีการศึกษากันน้อยมาก อย่างไรก็ตาม Leshem (1987b) แนะนำว่าการที่ออกซินและไซโตไคนินไม่สมดุลย์จะกระตุ้นการฉ่ำน้ำในแอบเปิลต้นปกติที่ย้ายจากอาหารแข็งไปสู่อาหารเหลวที่มี BAP จะเกิดการฉ่ำน้ำ (Paques and Boxus, 1987b) แต่หากเอา BAP ออกจากอาหารเหลว ยอดแอบเปิลจะกลับมาเจริญแบบปกติ トラบเท่าที่การฉ่ำน้ำยังไม่ถึงขั้นที่จะผันกลับไม่ได้ การผันกลับไปเป็นต้นปกติจะค่อยเป็นค่อยไป โดยใบปกติจะพัฒนาขึ้นใหม่เหนือใบที่ผิดปกติ (Gaspar *et al.*, 1987) BAP ที่ให้กับ Norway spruce จะกระตุ้นการฉ่ำน้ำเช่นกัน แต่เมื่อเพิ่มระดับวุ้นให้สูงขึ้นมันจะไปลดการนำเอา BAP ไปใช้ และมีผลไปลดการฉ่ำน้ำ (von Arnold and Eriksson, 1984) ส่วนใน globe artichoke นั้น BAP จะกระตุ้นการฉ่ำน้ำภายในสภาพที่ส่งเสริมให้เกิด เช่น ความชื้นสัมพัทธ์ และ matrix potential สูง (Debergh, 1983) ในแมตงโอมการให้ไซโตไคนินก็กระตุ้นให้เกิดการฉ่ำน้ำ ซึ่งสามารถผันกลับได้โดยการลดระดับของไซโตไคนินลง (Leshem *et al.*, 1988) สำหรับในสนและคาร์เนชั่น การลดระดับ KIN จะทำให้การฉ่ำน้ำลดลง ซึ่งตามปกติจะถูกกระตุ้นโดย BAP มากกว่า KIN (Dencso, 1987)

ส่วนปัจจัยเกี่ยวกับออกซินนั้น มีการศึกษาผลของ indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับผลของไซโตไคนิน การลดระดับ IAA ในสนจะลดการฉ่ำน้ำเมื่อใช้ร่วมกับ KIN ที่ลดลง (Dencso, 1987) และเกี่ยวข้องกับการสร้างเอทธิลีน

โดยพบว่า การเพิ่ม 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) และการผลิตเอทิลีนจะเป็นการตอบสนองแบบไม่มีบาดแผลต่อความเครียดต่าง ๆ โดยจะไปเพิ่มการเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกันเป็นลูกโซ่ คือจะไปกระตุ้น peroxidase (IAA และ ACC oxidase) ซึ่งจะไม่มีผลต่อระดับเอทิลีนของกิจกรรม phenylalanine ammonia lyase (PAL) และกิจกรรม phenol ซึ่งจะมีผลทำให้การสะสมลิกนินน้อยลง และสูญเสียความยืดหยุ่นของผนังเซลล์ การที่กิจกรรม peroxidases เพิ่มขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่ง basic iso - enzymes จะพบในเนื้อเยื่อน้ำของพืชล้มลุกและพืชที่มีเนื้อไม้หลายชนิด (Kevers *et al.*, 1984)

4. แสงและอุณหภูมิ เนื่องจากพืชที่เลี้ยงในขวดได้รับคาร์โบไฮเดรต ดังนั้นจึงอยู่ในสภาพ heterotrophic แต่อย่างไรก็ตาม คุณภาพ ช่วงเวลา และความเข้มข้นของแสง มีผลต่อการเจริญเติบโต และ morphogenesis ของยอด นอกเหนือจากการสังเคราะห์แสง (Hughes, 1981) เจอรานิยม กุหลาบ และ *Spathiphyllum floribundum* ที่เลี้ยงในขวดในอาหารที่มี IAA 0.1-1 มก/ล และวุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ มี morphogenesis ที่ผิดปกติเกิดขึ้นเมื่อความเข้มของแสงต่ำ การเพิ่มความเข้มของแสงและคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศในตู้เลี้ยงจะเพิ่มการสังเคราะห์แสง (Reuther, 1988) และการเจริญเติบโตของต้นซิมบิเดียมในขวดจะเพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีซูโครส และมี photosynthetic photon flux ที่สูงร่วมกับ CO₂ ที่สูงขึ้น (Kozai *et al.*, 1987)

อุณหภูมิมีอิทธิพลต่อ morphogenesis ภายนอกขวดแก้วเช่นเดียวกับมีผลต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาภายในขวดแก้ว แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการฉ่ำน้ำยังจำกัดอยู่ใน *Prunus* spp. การให้ความเย็น โดยการนำขวดแก้วไปวางไว้บนแผ่นเย็น จะลดการฉ่ำน้ำ โดยที่อุณหภูมิจะมีผลต่อการฉ่ำน้ำทางอ้อม โดยจะไปควบคุมการฉ่ำน้ำภายในขวด (Maene and Debergh, 1987)

นอกจากปัญหาการฉ่ำน้ำแล้ว ยังพบว่า ปอสามีการร่วงของใบเกิดขึ้นด้วย โดยที่การร่วงของใบ เป็นปรากฏการณ์ที่ใบหลุดออกจากกิ่ง ซึ่งโดยปกติแล้วก่อนที่ใบจะร่วง เซลล์ที่อยู่ใกล้ส่วนโคนของก้านใบจะมีการเปลี่ยนคุณสมบัติภายในเซลล์ เรียกเนื้อเยื่อบริเวณนี้ว่า abscission zone เนื้อเยื่อส่วนนี้มักจะอ่อนแอเนื่องจากมี sclerenchyma น้อย ซึ่งสาเหตุของการร่วงเกิดจากคุณสมบัติทางเคมีของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป โดยมีการเปลี่ยนจากแคลเซียมเพคเตตเป็นกรดเพคติก และเป็นเพคติน ซึ่งเป็นสารละลายน้ำได้ โดยที่เซลล์ลูโลสจะยังคงอยู่ตามเดิม แต่ว่าจะมีคุณสมบัติยึดหยุ่นได้คล้ายพวกเจลลาติน เซลล์จึงแยกออกจากกันและหลุดออกมาได้ (เทียนมใจ, 2523 ; สัมพันธ์, 2527) ได้มีการวิจัยเกี่ยวกับสารที่เกี่ยวข้องกับการร่วง พบว่า สารที่เกี่ยวข้องมากที่สุด คือ ออกซิน และเอทิลีน (เทียนมใจ, 2523) สาร IAA ซึ่งสร้างขึ้นที่ใบจะมีอิทธิพลต่อการร่วงของใบ โดยปกติเมื่อพืชมีอายุมากขึ้น การสร้างสาร IAA จะลดลง จนไม่สามารถยับยั้งการร่วงได้ จึงทำให้ใบร่วง โดยทั่วไปปริมาณของ IAA ในใบจะสูงกว่าในกิ่ง ถ้าปริมาณ IAA ในใบเท่ากับหรือต่ำกว่าในกิ่งจะทำให้เกิดการร่วงขึ้น (สัมพันธ์, 2527) ส่วนสารที่มีบทบาทสำคัญในการเร่งการร่วงของใบ คือ เอทิลีน (สุรนนท์, มปป) ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการที่เอทิลีนสามารถยับยั้งการสร้างออกซินของใบได้ เมื่อปริมาณออกซินลดลงการร่วงของใบก็มีโอกาสเกิดขึ้นได้ง่าย (สัมพันธ์, 2527) ในส่วนของพืชที่ต้องตัดจากต้น (explant) พบว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ช่วยชะลอการร่วงของส่วนนั้นได้และอัตราการร่วงของส่วนต่าง ๆ ของพืชลดลงอย่างมาก (Abeles and Gahagan, 1968) ทั้งนี้เป็นเพราะคุณสมบัติของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปลดล้างผลการกระตุ้นของเอทิลีนในพืช (Abeles et al., 1971) และจากการศึกษาการร่วงของใบในด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของส้มโอ พบว่า การเปลี่ยนย้ายอาหารทุก 7 วัน สามารถลดการหลุดร่วงของใบได้ดีกว่าการย้ายอาหารทุก 3 และ 5 วัน นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้ IBA ความเข้มข้น 2.5 มก/ล จะช่วยลดการหลุดร่วงของใบได้ดีกว่าการใช้ IBA ความเข้มข้นต่ำ คือ 0.0025 - 0.25 มก/ล (สุรียพร, 2534)