บทที่ 4

วิจารณ์

การชักนำพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกิดขึ้นจาก 2 กระบวนการคือ (1) เอ็มบริโอเจนีซิส เป็นกระบวนการกำเนิด และพัฒนาการไปเป็นต้นอ่อน และ (2) ออร์กาโนเจนีซิส เป็นกระบวนการสร้างอวัยวะต่างๆ เช่น รากหรือตายอดโดยตรงจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืช ความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมักขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ คือ ชิ้นส่วนพืช สูตรอาหาร ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต และปัจจัยทางสภาพแวดล้อม การพัฒนาพืชต้นใหม่โดยผ่านกระบวนการเอ็มบริโอเจนีซิสสามารถเกิดขึ้นได้ทุกชิ้นส่วนพืช รายงานการทดลองส่วนใหญ่นิยมเพาะเลี้ยงคัพภะ และแมกกะแกมีโทไฟต์ เป็นต้น (Chavez *et al.*, 1992; Ellis *et al.*, 1991) อย่างไรก็ตามต้นที่ได้มีระบบรากไม่สมบูรณ์ ส่งผลให้ต้นตายในที่สุด (Bonga, 1977) นอกจากนี้ชิ้นส่วนใบอ่อนของผักเหลียง สามาถชักนำเอ็มบริโอเจนีซิสได้ในอาหารสูตร MS เติม TDZ ร่วมกับ BA อย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามยังคงใช้ระยะเวลานานในการชักนำเป็นพืชต้นใหม่ (สมปอง และภาณุพงศ์, 2545) สำหรับกระบวนการออร์กาโนเจนีซิสในพืชพวกเมล็ดเปลือย โดยเฉพาะกลุ่มต้นสน มีการสร้างตายอด 3 ลักษณะคือ (1) ยอดเกิดบริเวณด้านข้างชิ้นส่วนพืช ซึ่งมีเนื้อเยื่อเจริญรูปโดมสร้างขึ้นมาก่อน ตามด้วยพัฒนาการของยอด (shoot primodia) (2) ยอดเจริญเติบโตจากชิ้นส่วนพืชโดยตรง ซึ่งเป็นรูปโดมมีลีฟไพรโมเดียล้อมรอบ ต่อมาสามารถยืดยาวได้ และ (3) ยอดเกิดจากแคลลัสโดยตรงบนชิ้นส่วนพืช และเกิดทุกตำแหน่งของชิ้นส่วนพืช (Ho, 1989) ซึ่งคล้ายกับลักษณะการเกิดตายอดจากผลการศึกษาครั้งนี้

การชักนำตายอด

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการศึกษาชักนำตายอดผักเหลียงนี้คือ MS ซึ่งสูตรอาหาร MS ให้ผลดีต่อการชักนำตายอดจากชิ้นส่วนใบ ปลายยอด และลำต้น เนื่องจากมีองค์ประกอบของธาตุอาหารหลัก โดยเฉพาะธาตุไนโตรเจนสูงกว่าสูตรอาหาร SH และ WPM ประมาณ 3 เท่า และมีปริมาณแคลเซียมไอออนสูงในระดับที่เหมาะสม (Fisichella *et al.*, 2000) ส่งเสริมให้การเจริญเติบโตเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามการสร้างตายอดของไม้ยืนต้นเนื้อแข็งหลายชนิดเป็นไปได้ไม่ดีบนอาหารที่มีธาตุไนโตรเจนความเข้มข้นสูง (Bonga and Aderkas, 1992) Apavatjut และ Phornsawatchai (1999) จึงใช้อาหารสูตรดัดแปลงประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองของสูตร SH และสารอินทรีย์ของสูตร MS เติม IBA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BAP 1.53 มิลลิกรัม

ต่อลิตร ขยายพันธุ์ผักเหลียง แต่จำนวนตายอดที่ได้ต่ำกว่าการศึกษานี้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขั้นตอนการเพาะเลี้ยง แหล่งของชิ้นส่วนพืช และการปฏิบัติดูแลต้นพันธุ์แตกต่างกัน สำหรับชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมในการศึกษานี้คือ ใบ เนื่องจากมีเนื้อที่ดูดซับอาหารได้มากกว่าชิ้นส่วนลำต้น ส่วนปลายยอดให้จำนวนตายอดน้อยที่สุด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าชิ้นส่วนปลายยอดมีปริมาณสารออกซินภายในชิ้นส่วนพืชสูง จึงมีผลไปยับยั้งการสร้างตายอด อย่างไรก็ตามการใช้สารไซโทไคนินเพียงอย่างเดียวและความเข้มข้นสูง สามารถส่งเสริมการเกิดตายอดได้จำนวนมาก (ภาณุพงศ์, 2545)

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการศึกษานี้คือ TDZ เพียงอย่างเดียว ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร อัตราการสร้างตายอดรวมและจำนวนตายอดที่ชักนำได้ดีกว่า BA เนื่องจาก TDZ มีกิจกรรมของสารไซโทไคนินสูง มีการสะสมไอออนของธาตุอาหารบางอย่าง และสารเมตาบอไลท์ซึ่งประกอบด้วยโพรลีนและกรดแอบซิสิก (Huetteman and Preece, 1993) และมีไรโบโซมและโพลีโซมจำนวนมากในไซโทพลาสซึม ทำให้การสังเคราะห์โปรตีน และกิจกรรมภายในเซลล์เกิดขึ้นมาก (Chvojka *et al.*, 1992 อ้างโดย Karam and Al-Majathoub, 2000) สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ และลำต้นใต้ใบเลี้ยงของ *Picea glauca* (Ellis *et al.*, 1991) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า BA ความเข้มข้นสูงชักนำตายอดได้ดีใน *Picea abies* (Arnold and Tillberg, 1987), *Pinus sylvestris* (Zel *et al.*, 1988), *P. canariensis* (Pulido *et al.*, 1992) และ *P. caribaea* (Halos and Go, 1993) นอกจากนี้จำนวนตายอดที่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณของสารไซโทไคนินภายในชิ้นส่วนพืช (Arnold and Tillberg, 1987) สำหรับสารกลุ่มออกซินในการศึกษานี้พบว่า 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสแบบร่วนได้ดี ในขณะที่ NAA ไม่สามารถชักนำแคลลัสได้ เนื่องจาก 2,4-D มีกิจกรรมของสารออกซินสูง (พีรเดช, 2537) ชิ้นส่วนลำต้นให้แคลลัสแบบร่วนได้ดี ในขณะที่ใบไม่สามารถชักนำแคลลัสได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเซลล์บริเวณเอพิเดอร์มิสของลำต้นอ่อนพัฒนาการเปลี่ยนไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญเป็นจำนวนมาก และมีกิจกรรมการแบ่งเซลล์ที่ตอบสนองต่อ 2,4-D สูง Litz และคณะ (1995) รายงานว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของปรง (*Ceratozamia hildae*) บนอาหารสูตร B5 เติม 2,4-D 4.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ KN 1.2 หรือ 4.6 ไมโครโมลาร์ และน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสแบบร่วน และพัฒนาการเป็นพืชต้นใหม่ได้ ในทำนองเดียวกับการทดลองของ Tuskan และคณะ (1990) ได้เพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของต้นสน (*Pinus ponderosa*) บนอาหารสูตร SH เติม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 5.4 ไมโครโมลาร์ และน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษานี้ไม่สามารถชักนำพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสได้สำเร็จ อาจเนื่องมาจากสูตรอาหารและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต และน้ำตาลไม่เหมาะสม ดังนั้นในการศึกษาต่อไปเพื่อขยายพันธุ์ผักเหลียงโดยใช้แคลลัสควรมีการดัดแปลงปัจจัยดังกล่าวให้มีความเหมาะสม โดยเฉพาะชนิดและความ

เข้มข้นของไซโตไคนินที่ใช้ร่วมกับ 2,4-D เพื่อส่งเสริมกระบวนการออร์กาโนเจนีซิส หรือเอ็มบริโอเจนีซิส

ตำแหน่งการวางชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมคือ การวางท้องใบสัมผัสอาหาร เพราะตายอดเกิดบริเวณหลังใบเท่านั้น อาจเนื่องมาจากเซลล์บริเวณหลังใบมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญ ซึ่งสังเกตได้จากรงควัตถุแอนโทไซยานินที่สร้างจำนวนมาก ช่วยส่งเสริมให้พัฒนาการของตายอดเป็นไปได้ดีทำนองเดียวกับการเพาะเลี้ยงใบอ่อนสีแดงของมังคุด (Te-chato, 1998b) สำหรับชิ้นส่วนลำต้นนั้นการวางราบสัมผัสอาหารให้จำนวนตายอดได้ดี ยอดที่ได้พัฒนาจากเซลล์บริเวณผิวเท่านั้น ในขณะที่บริเวณแผลซึ่งเป็นเนื้อเยื่อชั้นในไม่เกิดตายอด สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงลำต้นของ *Podocarpus macrophyllus* (Daimon and Mii, 1991) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเซลล์ชั้นเอพิเดอร์มิสของพืชบางชนิดรวมทั้งผักเหลียงมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญได้จำนวนมาก เซลล์ดังกล่าวมีลักษณะเมอริสเต็มมาติก จึงเจริญเป็นตายอดได้ดี เมื่อพิจารณาการสร้างแผลให้กับชิ้นส่วนพืชนั้นให้จำนวนตายอดน้อยกว่าการไม่สร้างแผล อาจเป็นไปได้ว่าการสร้างแผลมีผลต่อสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตภายในชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงโดยเฉพาะออกซิน ส่งผลให้พัฒนาการของตายอดลดลง ดังนั้นในการศึกษานี้จึงพบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนทั้งใบให้อัตราการสร้างตายอดรวมและจำนวนตายอดได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า การสร้างแผลโดยการตัดใบเป็นส่วนให้การสร้างยอดช้ากว่าการเพาะเลี้ยงทั้งใบ การเพิ่มปริมาณตายอดได้น้อย และส่งเสริมการสร้างแคลลัสรูปปม (meristematic nodular callus) จากชิ้นส่วนใบที่สร้างแผล สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงใบแพร์ (Cabani *et al.*, 1999) มังคุด พะวา และส้มแขก (สมปอง, 2540) ในทางตรงกันข้ามการสร้างแผลให้กับลำต้นโดยการผ่าซีกให้เปอร์เซ็นต์และจำนวนตายอดดีกว่าไม่ผ่าซีก ทั้งนี้อาจเนื่องจากแผลที่สร้างมีพื้นที่มาก ส่งเสริมการดูดธาตุอาหารและทำให้เซลล์ชั้นอิพิเดอร์มิสพัฒนาได้ดี ส่งเสริมให้ตายอดเกิดได้ทั่วทั้งชิ้นส่วนพืช อย่างไรก็ตามตายอดที่ได้เป็นรูปโดมไม่มีการสร้างลีฟไพรโมเดีย ในขณะที่ตายอดที่ได้จากชิ้นส่วนใบมีลีฟไพรโมเดียชัดเจนคล้ายกับการเพาะเลี้ยงใบและลำต้นของ *Aristolochia indica* (Manjula *et al.*, 1997)

การเพิ่มปริมาณและการยืดยาวของตายอด

ตายอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบและลำต้นในการศึกษานี้สามารถเพิ่มปริมาณได้ตามความต้องการในอาหารสูตรเดียวกันกับการชักนำตายอดคือ MS เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทั่วไปการเพิ่มปริมาณ และการยืดยาวของยอดขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงและชิ้นส่วนพืช ในการศึกษานี้พบว่า ชิ้นส่วนใบสามารถเพิ่มปริมาณได้ดีกว่าชิ้นส่วนลำต้น อาจเนื่องจากใบมีพื้นที่ในการดูดธาตุอาหารได้มาก นอกจากนี้อาหารเหลวสามารถเพิ่มปริมาณตายอดได้ดีในใบ

เนื่องจากส่งเสริมการดูดธาตุอาหารและการเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของ *Pinus caribaea* (Skidmore *et al.*, 1988) อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลานาน ส่งเสริมการเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น และขอบใบเริ่มเป็นสีดำและตายในที่สุด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลานานกว่า 4 เดือน เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงค่าความสามารถในการนำไฟฟ้า (electrical conductivity) เพิ่มขึ้น และค่าแรงดันออสโมติกของสารละลาย (osmolarity) ลดลงตามระยะเวลามากขึ้น ส่งผลให้พืชนำธาตุอาหารไปใช้ได้น้อยลง การเจริญเติบโตลดลง และสมดุลของธาตุอาหารเปลี่ยนไป (Shibli *et al.*, 1999) ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงใบผักเหลียงในอาหารเหลวจึงอาจดัดแปลงระยะเวลาการเลี้ยงให้สั้นลง ย้ายเลี้ยงให้เร็วขึ้น อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้พบว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวไม่ส่งเสริมการเพิ่มตายอด การสร้างแผลให้กับชิ้นส่วนใบและการเขย่าเลี้ยงในอาหารเหลว ส่งเสริมให้ตายอดบนชิ้นส่วนใบตายอย่างรวดเร็วยิ่งขึ้น สำหรับการเพิ่มปริมาณยอดจากการเพาะเลี้ยงลำต้นในอาหารเหลวเกิดยอดลักษณะผิดปกติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากตายอดที่ได้เกิดจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่มีลักษณะองค์ประกอบภายในแตกต่างกันมากกว่าชิ้นส่วนใบ (ซึ่งโดยส่วนใหญ่พัฒนาการมาจากเซลล์อิพิเดอร์มิส)

การทดลองนี้ชิ้นส่วนใบสามารถชักนำการยืดยาวของยอดได้ทั้งในอาหารเหลว และแข็ง อย่างไรก็ตามอาหารเหลวให้จำนวนยอดยืดยาวดีกว่าอาหารแข็ง ทำนองเดียวกับการเพาะเลี้ยงตาข้างของอะโวกาโด (Bercelo-Munoz *et al.*, 1999) และมัลเบอร์รี่ (Tewary and Oka, 1999) ส่วนชิ้นส่วนลำต้นให้การยืดยาวของยอดบนอาหารแข็งได้ดีกว่าอาหารเหลว อาจเนื่องมาจากการจมในอาหาร (ไม่ได้เขย่าเลี้ยง) ยอดบางส่วนที่จมอยู่ในอาหารอยู่ในสภาพที่ขาดออกซิเจน และอาจมีการสร้างสารชีวเคมีที่ส่งผลต่อการยับยั้งการยืดยาวของยอดอื่นๆ การแก้ปัญหาโดยการเขย่าเลี้ยงก็ไม่ประสบผลสำเร็จ วิธีการนี้ส่งเสริมการสร้างสารสีน้ำตาลของชิ้นส่วนพืชและตายอดที่พัฒนาด้วยเหตุผลข้างต้นส่งผลให้การเจริญของยอดที่พัฒนาจากลำต้นในอาหารเหลวไม่ดี Skidmore และคณะ (1988) แนะนำว่า การเพิ่มปริมาณยอดในอาหารเหลวควรลดความเข้มข้นของฟอสฟอรัสลงและเพาะเลี้ยงในช่วงแรกเท่านั้น หลังจากนั้นย้ายลงสู่อาหารแข็งสูตรเดิม การเพิ่มปริมาณตายอดในช่วงแรกควรใช้ TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเติม BA ความเข้มข้นสูง ส่งเสริมการเกิดยอดแก้ว (hyperhydric shoot) ได้ ซึ่งอาหารเติม TDZ ไม่ส่งเสริมยอดแก้ว (Sandal *et al.*, 2001) หลังจากนั้นย้ายลงสู่อาหารใหม่สูตร WPM เติม BA หรือ zeatin เพื่อช่วยในการยืดยาวของยอดได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งวิธีการนี้ให้ผลดีในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของ *Picea glauca* (Ellis *et al.*, 1991) สาเหตุการเพาะเลี้ยงในอาหารเติม TDZ ก่อน แล้วย้ายเลี้ยงลงสู่อาหารแข็งเติม BA เนื่องจาก TDZ ส่งเสริมการสร้างน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของยอด แต่ยับยั้งการพัฒนาและยืดยาวของยอด (Vinocar *et al.*, 2000) อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่ได้มีการดัดแปลงสูตรอาหาร

ที่เพาะเลี้ยงโดยการลดความเข้มข้นของฟอสฟอรัสลง ดังนั้นการส่งเสริมการยืดยาวของยอดผักเหลียงในครั้งต่อไปในอาหารเหลวในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงควรมีการดัดแปลงองค์ประกอบของสูตรอาหารบางตัว เช่นฟอสฟอรัส และไนโตรเจน เป็นต้น

การชักนำราก

สูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำรากคือ MS เนื่องจากมีปริมาณไนเตรทความเข้มข้นสูง ซึ่งช่วยในการหมุนเวียนของออกซินไปสู่รากได้ดี (Palacios *et al.*, 2002) สอดคล้องกับการชักนำรากในสะเดาช้าง (Te-chato and Rungnoi, 2003) และส้ม (สนธยา และ สมปอง, 2542) นอกจากนี้การลดปริมาณธาตุอาหารบางอย่างลง เช่นธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรองลงเป็นหนึ่งในสี่ของอาหารสูตรปกติ ส่งเสริมการเกิดรากได้ 75 เปอร์เซ็นต์ (Mokotedi *et al.*, 2000) อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่สามารถชักนำรากได้ทั้งบนอาหารสูตร MS ที่มีองค์ประกอบครบ หรือลดความเข้มข้นขององค์ประกอบลงหนึ่งในสี่ ครึ่งหนึ่ง หรือสามในสี่ของอาหารสูตรปกติ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าปริมาณธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองมีความเข้มข้นสูงอยู่ Zel และคณะ (1988) ได้เพาะเลี้ยงยอดของ *Pinus sylvestris* บนอาหารสูตร MS ที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองลงเป็นหนึ่งในสิบหกส่วน สามารถชักนำรากได้ 64 เปอร์เซ็นต์ Te-chato และ Lim (1999) เพาะเลี้ยงยอดของมังคุดบนอาหารสูตร WPM สามารถชักนำรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ Daimon และ Mii (1991) เพาะเลี้ยงยอดของ *Podocarpus macrophyllus* บนอาหารสูตรดัดแปลงของ White ชักนำรากได้ 60 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการศึกษาการชักนำรากครั้งต่อไปน่าจะลดความเข้มข้นขององค์ประกอบอาหารสูตร MS ลงเป็น 1/8-1/16 MS หรือใช้สูตรอาหารอื่น เช่น WPM หรือสูตรอาหารดัดแปลงของ White

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการศึกษานี้คือ IBA ซึ่ง Epstein และ Ludwig-Muller (1993) อ้างโดย Monteuuis และ Bon (2000) รายงานว่า IBA ส่งเสริมการเกิดรากได้ดีกว่า IAA เนื่องจาก IBA มีความต้านทานกระบวนการแคเทบอลิซึมรวมกับการออกซิเดชันโดยเอนไซม์ Peroxidase ทำให้มีความทนทานต่อการสลายตัวได้ดี ความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาคือ 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการจุ่มแช่สารละลาย IBA 1000 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารชักนำรากไม่เติม IBA แต่พบว่าไม่สามารถชักนำรากได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารละลาย IBA และระยะเวลาจุ่มแช่ยังไม่เหมาะสม Chesick และคณะ (1991) นำยอด *Pinus strobus* จุ่มแช่ในสารละลาย IBA 50 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 8 วัน แล้วเพาะเลี้ยงในอาหารไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 3 เดือน สามารถชักนำรากได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Zel และคณะ (1988) ได้นำยอดจุ่มแช่ในสารละลาย NAA 53.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเพาะเลี้ยงในอาหารไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถ

ชักนำรากได้ 64 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการศึกษาต่อไปน่าจะลดความเข้มข้นของสาร IBA ลงและเพิ่มระยะเวลาการจุ่มแช่ หรือใช้สารออกซินชนิดอื่นแทน เช่น NAA และดัดแปลงระยะเวลาการจุ่มแช่เพื่อหาสภาพที่เหมาะสมต่อการชักนำรากต่อไป

ในการศึกษานี้นอกจากองค์ประกอบของสูตรอาหาร และความเข้มข้นของสาร IBA แล้ว ยังมีการศึกษาอิทธิพลของผงถ่านต่อการเกิดรากด้วย พบว่า การเติมหรือไม่เติมผงถ่านไม่สามารถชักนำการเกิดรากได้ แม้ว่าจะมีรายงานการชักนำรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่ชักนำรากเติมผงถ่าน (Te-chato and Lim, 1999) โดยทั่วไปการเติมผงถ่านลงในอาหารชักนำรากมีวัตถุประสงค์เพื่อดูดซับสารชีวเคมีที่อาจมีผลยับยั้งการสร้างราก พรางแสงหรือบังแสง ปรับสมดุลของสาร ควบคุมการเจริญเติบโตให้เหมาะสมต่อการเกิดราก และยังเป็นแหล่งของคาร์บอนเพื่อการสังเคราะห์แสงอีกด้วย อย่างไรก็ตามการใช้ผงถ่านในการศึกษานี้ส่งเสริมให้เกิดแคลลัสแบบร่วนบริเวณโคนของยอด ซึ่งแคลลัสที่เกิดขึ้นเนื่องมาจากกิจกรรมของผงถ่านที่ปรับสมดุลของสารออกซินในอาหารเพาะเลี้ยงและสารไซโทไคนินในชิ้นส่วนพืชจนเหมาะต่อการชักนำแคลลัส แสดงให้เห็นว่าผงถ่านเป็นสารที่ส่งเสริมประสิทธิภาพของ IBA ได้ดี นอกจากนี้มีการศึกษาอิทธิพลของความเข้มแสงต่อการชักนำรากด้วย โดยการเพาะเลี้ยงในช่วงแรกหลังจากจุ่มแช่ในสารละลาย IBA แล้ว ปักชิ้นส่วนพืชลงบนอาหารที่เติม IBA เพาะเลี้ยงในสภาพมืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสงปกติเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ตามรายงานการทดลองของ Te-chato และ Lim (1999) แต่พบว่า ยังคงไม่สามารถชักนำรากได้ ยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำรากเป็นเวลา 2 เดือนขึ้นไปพบว่า ใบเริ่มมีสีขาวซีดบริเวณขอบใบ ลุกลามไปทั่วทั้งใบและยอด และตายในที่สุด อาจเนื่องมาจากมีการสร้างและปลดปล่อยก๊าซเอทิลีนเกิดขึ้น

ชักนำรากได้ 64 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการศึกษาต่อไปน่าจะลดความเข้มข้นของสาร IBA ลงและเพิ่มระยะเวลาการจุ่มแช่ หรือใช้สารออกซินชนิดอื่นแทน เช่น NAA และดัดแปลงระยะเวลาการจุ่มแช่เพื่อหาสภาพที่เหมาะสมต่อการชักนำรากต่อไป

ในการศึกษานี้นอกจากองค์ประกอบของสูตรอาหาร และความเข้มข้นของสาร IBA แล้ว ยังมีการศึกษาอิทธิพลของผงถ่านต่อการเกิดรากด้วย พบว่า การเติมหรือไม่เติมผงถ่านไม่สามารถชักนำการเกิดรากได้ แม้ว่าจะมีรายงานการชักนำรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่ชักนำรากเติมผงถ่าน (Te-chato and Lim, 1999) โดยทั่วไปการเติมผงถ่านลงในอาหารชักนำรากมีวัตถุประสงค์เพื่อดูดซับสารชีวเคมีที่อาจมีผลยับยั้งการสร้างราก พรางแสงหรือบังแสง ปรับสมดุลของสาร ควบคุมการเจริญเติบโตให้เหมาะสมต่อการเกิดราก และยังเป็นแหล่งของคาร์บอนเพื่อการสังเคราะห์แสงอีกด้วย อย่างไรก็ตามการใช้ผงถ่านในการศึกษานี้ส่งเสริมให้เกิดแคลลัสแบบร่วนบริเวณโคนของยอด ซึ่งแคลลัสที่เกิดขึ้นเนื่องมาจากกิจกรรมของผงถ่านที่ปรับสมดุลของสารออกซินในอาหารเพาะเลี้ยงและสารไซโทไคนินในชิ้นส่วนพืชจนเหมาะต่อการชักนำแคลลัส แสดงให้เห็นว่าผงถ่านเป็นสารที่ส่งเสริมประสิทธิภาพของ IBA ได้ดี นอกจากนี้มีการศึกษาอิทธิพลของความเข้มแสงต่อการชักนำรากด้วย โดยการเพาะเลี้ยงในช่วงแรกหลังจากจุ่มแช่ในสารละลาย IBA แล้ว ปักชิ้นส่วนพืชลงบนอาหารที่เติม IBA เพาะเลี้ยงในสภาพมืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสงปกติเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ตามรายงานการทดลองของ Te-chato และ Lim (1999) แต่พบว่า ยังคงไม่สามารถชักนำรากได้ ยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำรากเป็นเวลา 2 เดือนขึ้นไปพบว่า ใบเริ่มมีสีขาวซีดบริเวณขอบใบ ลุกลามไปทั่วทั้งใบและยอด และตายในที่สุด อาจเนื่องมาจากมีการสร้างและปลดปล่อยก๊าซเอทิลีนเกิดขึ้น