บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

1. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากยอดที่เกิดจากตาข้างของสบู่ดำ พบว่าการนำข้อของสบู่ดำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 7-10 วัน ทำให้ตาข้างแตกยอดใหม่ เนื่องจากอาหารแข็งสูตร MS มีธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช และผลของอิทธิพลจากออกซินในการยับยั้งตาข้าง (apical dominance) ลดลง แต่ถ้าไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ยอดใหม่ที่เกิดขึ้นจะไม่มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น จึงจำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (สมบุญ 2544; คำนูญ 2544)

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการทดลองได้แก่ BA และ IBA เนื่องจาก BA เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งช่วยในการควบคุมวงจรเซลล์ (cell cycle) ในระยะ G1/M, G2/M และระยะ S (Davies 2004) ทั้งยังส่งเสริมการสร้าง RNA และเอนไซม์ที่จำเป็นต่อขบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิส (meitosis) ส่งผลให้เกิดการแบ่งและการขยายตัวของเซลล์ พร้อมกับส่งเสริมการสร้างและการเจริญของตาข้าง (นพดล 2537) ส่วน IBA เป็นสารในกลุ่มออกซิน มีผลต่อการจำลอง DNA (replication) การถอดรหัส (transcription) และการถ่ายทอดข้อมูล (translation) รวมทั้งเกี่ยวข้องกับ RNA และการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์พืชด้วย (Leshem 1973) ในการชักนำการเกิดยอดทั่วไปของพืชต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนินหรือไซโตไคนินร่วมกับออกซิน โดยสัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินสูง จะทำให้มีแนวโน้มการเกิดต้นหรือยอด (บุศราภรณ์ 2548; จิตรีบุล 2549)

เมื่อพิจารณาจากการนำยอดที่เกิดจากตาข้างที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS มาตัดให้มีขนาดประมาณ 0.7 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำการเกิดยอดทวีคูณคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.049 ไมโครโมลาร์ สามารถเพิ่มจำนวนยอดและใบได้มากที่สุด 5.88 ยอด และ 9.13 ใบ ตามลำดับ ภายในเวลา 6 สัปดาห์ ซึ่งแตกต่างกับการทดลองของ Rajore และ Batra (2005) ที่ใช้ BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2.85 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนปลายยอดจากต้นสบู่ดำได้ดีที่สุด 3.4 เท่า ภายในเวลา 15-20 วัน ใน

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

การเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของสบู่ดำ จากการทดลองแสดงว่าการใช้ชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากตาข้างสามารถเพิ่มจำนวนยอดได้มากกว่าการใช้ชิ้นส่วนปลายยอด และการทดลองของ Rajore และคณะ (2002) ที่เติม Kn ความเข้มข้น 9.30 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 7.35 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของสบู่ดำได้ดีที่สุด การเพาะเลี้ยงพืชชนิดเดียวกันแต่ใช้สารควบคุมการเจริญแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากพืชที่นำมาทดลองถูกเลี้ยงมาในสภาวะที่แตกต่างกัน การใช้ตำแหน่งของชิ้นส่วนต่างกัน เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้มีผลต่อการเจริญเติบโต ซึ่งทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากสารพันธุกรรมภายในพืช (สัมพันธ์ 2525; สมพร 2539)

2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านใบของสบู่ดำ

จากการศึกษาการชักนำการเกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนก้านของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 ของสบู่ดำ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดทวีคูณคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดทวีคูณได้ดีที่สุดคือ 5.4, 4.1 และ 2.2 ยอด ตามลำดับ คล้ายกับการทดลองของ Sujatha และ Mukta (1996) แต่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตต่ำกว่าคือ เติม BA ความเข้มข้น 0.44 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.49 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำชิ้นส่วนก้านใบให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 2.7 ยอด การชักนำแคลลัสให้เกิดยอดต้องเลี้ยงในสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมของสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งต้องใช้สัดส่วนไซโตไคนินต่อออกซินสูง โดยสารในกลุ่มออกซินและไซโตไคนินมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการพัฒนาของเซลล์ไปเป็นยอดหรือต้น (Qin และคณะ 2004) นอกจากนี้ยังพบว่า BA เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินที่ให้ผลดีที่สุดในการเกิดยอด (คำนูญ 2544) คล้ายกับการทดลองของ Sujatha และ Mukta (1996) ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดตายอดจากชิ้นส่วนก้านใบได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้ Kn ความเข้มข้น 9.12 ไมโครโมลาร์ และ zeatin ความเข้มข้น 4.65 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดตายอดได้ 55 เปอร์เซ็นต์ และไม่เกิดตายอดเลย ตามลำดับ แต่การเพิ่มความเข้มข้นของ BA หรือ IBA หรือ BA และ IBA ไม่สามารถทำให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอดได้ เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตมีสัดส่วนที่ไม่เหมาะสม

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 การตัดชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2, 3 และ 4 เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้ก้านใบมีลักษณะบวมและเกิดแคลลัส โดยแคลลัสจะเกิดบริเวณรอยตัดทั้ง 2 ข้างก่อน เนื่องจากกลไกการทำงานของพืช เมื่อพืชเกิดบาดแผลจะ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ลิขสิทธิ์

มีการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ ซึ่งถูกกระตุ้นโดยมีฮอร์โมนภายในเนื้อเยื่อพืช (endogenous hormone) และการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (exogenous plant growth regulator) ในกลุ่มออกซินและไซโตไคนินลงในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (บุษราภรณ์ 2548) แคลลัสที่เกิดขึ้นบริเวณรอยตัดมีขนาดไม่เท่ากันคือ บริเวณรอยตัดของก้านที่ติดกับด้านโคนใบสามารถเจริญเป็นแคลลัสได้ดีกว่าด้านที่ติดกับใบ แคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์ที่เกาะกันแน่น (compact callus) สีเขียวปนขาว (รังสฤษฎ์ 2540; Sujatha และ Mukta 1996) ส่วนยอดที่เกิดจากแคลลัสจากชิ้นส่วนก้านใบมักจะเกิดบริเวณด้านในขอบริมของรอยตัด โดยเกิดเป็นตายอดขนาดเล็กประมาณ 0.5-1.0 มิลลิเมตร เมื่อนำแคลลัสจากรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 มาเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม ในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 พบว่าแคลลัสมีการเจริญพัฒนาเป็นยอด การที่ชิ้นส่วนก้านใบของใบจากข้อที่ 2 เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แล้วสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดได้ดีที่สุด เนื่องจากเป็นก้านใบที่มีความอ่อนที่สุดในการทดลอง จึงมีเนื้อเยื่อเจริญที่สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นแคลลัสและพัฒนาเป็นยอดได้ดีกว่าก้านใบของใบจากข้อที่ 3 และ 4

3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำการเกิดแคลลัสและยอดทวีคูณจากชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 ของสบู่ดำ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดทวีคูณคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดยอดทวีคูณได้ดีที่สุดเท่ากับ 3.3 และ 3.7 ยอดตามลำดับ ซึ่งคล้ายกับการทดลองของ Sujatha และ Dhingra (1993) แต่ใช้ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่ำกว่าคือ เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของชิ้นส่วนใบของ *J. integerrima* ได้ดีที่สุด ส่วนการทดลองของ Sujatha และ Mukta (1996) พบว่า BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของชิ้นส่วนใบของสบู่ดำได้ถึง 10.7 เท่า ภายในเวลา 2 สัปดาห์ และการทดลองของ Sujatha และ Reddy (2000) ซึ่งพบว่าการใช้ BA สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของ *J. integerrima* ให้เกิดยอดได้ดีที่สุด แต่แตกต่างจากการทดลองของ ศิริวรรณและรุ่งทิพย์ (2550) ที่ใช้ TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ proline และ casein hydrolysate ในการชักนำใบอ่อนให้เกิดยอดโดยไม่ผ่านขบวนการเกิดแคลลัส ทั้งนี้การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนใบของสบู่ดำมีความแตกต่างกันอาจเนื่องจากชนิด สายพันธุ์ และชิ้นส่วนของพืชที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแตกต่างกัน ซึ่งมีผลต่อ

สารพันธุกรรมภายในพืชที่แสดงออกเมื่อได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต (สัมพันธ์ 2527; สมพร 2539)

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 1 พบว่าเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนใบจากข้อที่ 2 และ 3 บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะทำให้ใบบวมและขยายขนาดใหญ่ขึ้น 2-3 เท่า เนื่องจากการดูดซึมน้ำของเซลล์พืช และการส่งเสริมของ BA ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์และการขยายตัวของเซลล์ (นพดล 2537) หลังจากนั้นจึงเกิดแคลลัสบริเวณรอยตัด โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์ที่เกาะกันแน่น แคลลัสมีสีเขียวปนขาว (Sujatha และ Dhingra 1993; Sujatha และ Mukta 1996) เมื่อย้ายแคลลัสเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมในรอบการเพาะเลี้ยงที่ 2 แคลลัสจึงมีการพัฒนาไปเป็นยอด การที่ชิ้นส่วนใบที่ 2 เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดได้ดีที่สุด 83.33 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็นใบที่มีความอ่อนที่สุด จึงมีเนื้อเยื่อเจริญที่สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นแคลลัสและพัฒนาเป็นยอดได้ดีกว่าใบที่ 3 คล้ายกับการทดลองของ Sujatha และ Mukta (1996) ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของใบที่ 3 ดีกว่าใบที่ 4 เท่ากับ 67 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของสบู่ดำ

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของสบู่ดำ เมื่อพิจารณาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของสบู่ดำ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ อาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 24.46 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน ก่อนย้ายลงอาหาร BRM ที่ปราศจาก IBA สามารถชักนำการเกิดรากได้ดีที่สุด 13.4 รากต่อยอด ภายในเวลา 9-10 วัน และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวรากเฉลี่ย 2.13 เซนติเมตร โดยรากที่ได้มีลักษณะเรียวยาว ซึ่งคล้ายกับการทดลองของนักวิจัยหลาย ๆ ท่าน เช่น Jame และคณะ (1980) แต่ใช้ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตและสูตรอาหารแตกต่างกันคือ อาหารแข็งสูตร LS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 1284.86 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของ red raspberry ได้ 20 รากต่อยอด ภายในเวลา 38 วัน การทดลองของ Jame และ Thurbon (1981) พบว่าอาหารแข็งครึ่งสูตร LS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 14.70 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 1284.86 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของแอปเปิ้ล rootstock M.9 ได้ 4.90 รากต่อยอด และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเท่ากับ 44 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 38 วัน การทดลองของ Malagón และคณะ (1997) พบว่าอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 442.9 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ PG ความเข้มข้น 634.4 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของ fraser photinia ได้ 7.2 รากต่อ

ยอด ภายในเวลา 6 วัน และจากการทดลองของ Reddy และคณะ (2001) พบว่าการจุ่มยอดของ *Decalepis hamiltonii* ในสารละลาย IBA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วย้ายมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม PG ความเข้มข้น 69 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าการใช้ PG ช่วยกระตุ้นการเกิดรากของไม้เนื้อแข็ง (woody plant) บางชนิดได้ เช่นพืชในวงศ์ Rosaceae เป็นต้น (Reddy และคณะ 2001; Modgil และคณะ 1998; Whittington 1969; Jame 1983) คล้ายกับการทดลองของ Jone และ Hopgood (1979) พบว่าการใช้ IBA ความเข้มข้น 3 พีพีเอ็ม ที่เติม PG และไม่เติม PG เป็นเวลา 3 สัปดาห์ สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของ Plum rootstock Pixy เท่ากับ 12 รากต่อยอด และ 6 รากต่อยอด ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

การทดลองของ Hammatt และ Grant (1997) พบว่าการใช้ IAA ความเข้มข้น 0.49 ไมโครโมลาร์ ที่เติม PG ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ และไม่เติม PG สามารถชักนำเปอร์เซ็นต์การเกิดรากจากยอดของ British wild cherry ได้ 98 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากการทำงานร่วมกันระหว่าง PG กับ ออกซิน โดย PG ซึ่งเป็นสารในกลุ่มของฟีนอล จะไปควบคุมการทำงานของ IAA oxidase โดยช่วยกดการทำงานของเพอร์ออกซิเดส (peroxidase) จากปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดส-คะตะไลส์ (peroxidase-catalyse oxidation) ช่วยป้องกันไม่ให้ออกซินภายในพืชถูกทำลาย โดยการนำออกซินไปเก็บไว้ในเซลล์ที่มีระดับปฏิกิริยารีดอกซ์ต่ำ (lower redox potential) (De Klerk และคณะ 1999; Stonier 1969; Lee และคณะ 1982; Grambow และ Langenbeck-Schwich 1983) นอกจากนี้ PG ทำให้เกิดแคลลัสลดลง (Bhojwani และคณะ 1984) ส่วน PG จะส่งเสริมหรือยับยั้งการเกิดรากนั้นขึ้นอยู่กับสัดส่วนความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซินและPG ชนิดและสายพันธุ์ของพืช เช่น ในการทดลองของ Jame และ Thurbon (1981) ชักนำการเกิดรากจากยอดของแอปเปิ้ล ต่างสายพันธุ์กัน พบว่า PG ความเข้มข้น 1284.86 ไมโครโมลาร์ ส่งเสริมการเกิดรากของ แอปเปิ้ล rootstock M.9/24 แต่ไม่มีผลกับแอปเปิ้ล rootstock M.9/35 แสดงว่าลักษณะทางพันธุกรรมภายในพืชมีผลต่อการทำงานร่วมกันระหว่างออกซินกับ PG แต่ยังไม่ทราบถึงกลไกลอย่างชัดเจน (Jame 1983) ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Sujatha และ Dhingra (1993) ที่ใช้อาหารแข็งสูตร MS โดยไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำการเกิดรากของ *J. integerrima* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 8-10 วัน การทดลองการชักนำให้เกิดรากจากยอดของ *J. curcas* จากนักวิจัยหลายท่านพบว่า จากการทดลองของ Sujatha และ Mukta (1996) ใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซิน สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 88 เปอร์เซ็นต์ การทดลองของ Rajore และคณะ (2002) สามารถชักนำการเกิดรากโดยใช้อาหารแข็งครึ่งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.69 ไมโครโมลาร์ การทดลองของ Rajore และ Batra (2005) สามารถชักนำให้เกิด

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลิขสิทธิ์

รากโดยใช้อาหารแข็งครึ่งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 14.70 ไมโครโมลาร์ และการทดลองของ Thepsamran และคณะ (2006) ชักนำการออกรากโดยใช้อาหารแข็งครึ่งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 2.46 ไมโครโม-ลาร์ เป็นเวลา 5 สัปดาห์ แล้วย้ายลงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

ส่วนการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของสบู่ดำบนอาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 24.46-490.00 ไมโครโมลาร์ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 1, 3, 6 และ 15 วัน แล้วย้ายลงอาหารแข็งสูตร BRM ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เนื่องจากในการกระตุ้นให้เกิดรากพืชต้องการออกซินความเข้มข้นสูง แต่ในระยะการเจริญยืดยาวของราก (lateral root) พืชต้องการออกซินความเข้มข้นต่ำ ถ้าพืชได้รับออกซินความเข้มข้นสูงในระยะนี้จะทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของราก เช่น รากอ้วน สั้น เป็นต้น (Evans และคณะ 2003) เช่นเดียวกับในการทดลองคือ การชักนำการเกิดรากจากยอดของสบู่ดำบนอาหารแข็งสูตร BRM ที่เติม IBA ความเข้มข้น 2.46-9.80 ไมโครโมลาร์ ซึ่งสามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นการเกิดราก 30.0-90.0 เปอร์เซ็นต์ แต่รากที่เกิดขึ้นมีลักษณะอวบอ้วน คล้ายการทดลองของ Kooi และคณะ (1999) ที่ชักนำการเกิดรากจากชิ้นส่วนยอดของ sentang บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 21.6 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดรากได้ 35 เปอร์เซ็นต์ แต่รากมีลักษณะผิดปกติคือ รากอวบอ้วน และสั้น แต่เมื่อชักนำให้เกิดรากในอาหารแข็งครึ่งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.85 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.90 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 55 เปอร์เซ็นต์ และรากที่เกิดขึ้นมีลักษณะปกติ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลิขสิทธิ์