บทที่ 4

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

แหล่งธรรมชาติของกวาวเครือขาว

จากการศึกษาแหล่งธรรมชาติของกวาวเครือขาวในสองสถานีทดลอง บริเวณ อ. ไทรโยคน้อย จ. กาญจนบุรี และ อ. ดอยเต่า จ.เชียงใหม่ พบว่ามีความแตกต่างในด้านสภาพแวดล้อมอย่างชัดเจน ซึ่งมีผลต่อลักษณะการกระจายประชากร การเจริญเติบโต รวมถึงรูปร่างลักษณะของเมล็ด สภาพแวดล้อมของสถานีทดลอง อ. ดอยเต่า เป็นแบบป่าผลัดใบแห้งแล้ง ดินมีกรวดหินปนมาก ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ซึ่งดูได้จากค่า % OM เท่ากับ 2.60% ทำให้กวาวเครือขาวบริเวณนี้ขึ้นเกาะกลุ่มกัน และต้นที่พบเป็นต้นที่แตกยอดออกจากรากสะสมอาหารใต้ดินซึ่งเป็นต้นเก่า เมื่อสังเกตฝักและเมล็ดกวาวเครือขาวในบริเวณนี้จะพบว่ามีขนาดเล็กกว่าฝักและเมล็ดกวาวเครือขาวในบริเวณ อ.ไทรโยคน้อย นอกจากนั้นยังไม่พบการเจริญของต้นที่งอกจากเมล็ด อาจเป็นเพราะเมล็ดของกวาวเครือขาวต้องการความชื้นและอุณหภูมิในการงอกค่อนข้างสูง แต่ความชื้นของดินที่ อำเภอดอยเต่ามีค่าต่ำ และเมล็ดที่ร่วงลงมาจากต้น ยังถูกแมลงบางชนิดกัดกิน ทำให้เปอร์เซนต์การงอกลดต่ำลง

สภาพแวดล้อมของสถานีทดลอง อ. ไทรโยคน้อยเป็นแบบกึ่งป่าดิบ ดินเป็นดินร่วน มีความอุดมสมบูรณ์สูง ซึ่งดูได้จากค่า % OM เท่ากับ 7.2% ซึ่งมากกว่าค่า%OMของ อ.ดอยเต่ากว่า 2 เท่า ทำให้กวาวเครือขาวบริเวณนี้มีใบและต้นสมบูรณ์กว่า ฝักและเมล็ดที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่กว่ากวาวเครือขาวที่ อ. ดอยเต่า พบการเจริญเติบโตของต้นกวาวเครือขาวที่งอกจากเมล็ดกระจายทั่วไป ปะปนกับต้นที่แตกยอดออกจากรากสะสมอาหารซึ่งเป็นต้นเก่า

แต่ถ้าพิจารณาจากลักษณะทางภูมิศาสตร์ พื้นที่ที่ทำการศึกษาทั้งสองแห่งนี้เชื่อมโยงกันโดยเทือกเขา ซึ่งเมื่อพิจารณาร่วมกับรายงานอย่างไม่เป็นทางการถึงการพบแหล่งกวาวเครือขาวแหล่งใหญ่ในจังหวัดลำปาง (ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ, personal communication) แสดงว่ากวาวเครือขาวไม่ได้เป็นพืชที่อยู่ในถิ่นที่อยู่ที่จำกัด แม้แต่ในจังหวัดเชียงใหม่ก็พบการกระจายอยู่ในหลายอำเภอ

คำอธิบายประการแรกถึงการสำรวจผืนป่าทางด้านทิศตะวันตกของประเทศไทยเพื่อสำรวจพืชชนิดนี้ยังไม่มีกลุ่มใดศึกษาอย่างจริงจัง จึงทำให้พบตำแหน่งว่ามีอยู่น้อย คำอธิบายประการ

ที่สองคือพืชชนิดนี้อาจเป็นพืชที่เคยมีการกระจายกว้างมากในภูมิภาคนี้ จากรายงานอย่างไม่เป็นทางการพบว่ามีการกระจายอยู่ในพื้นที่ของประเทศพม่าในเขตติดต่อกับจังหวัดกาญจนบุรี แต่การเปลี่ยนสภาพป่าเป็นพื้นที่กสิกรรมอาจเป็นเหตุผลสำคัญที่ทำให้พืชชนิดนี้หลงเหลืออยู่เฉพาะในบริเวณที่ยังมีถิ่นที่อยู่เหมาะสมแก่การดำรงชีวิตและการกระจายพันธุ์เพียงไม่กี่แห่ง

การปรับปรุงสูตรอาหารในการชักนำให้เกิดแคลลัส

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส

ในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเนื้อเยื่อส่วนยอดของต้นกวาวเครือขาว เลือกใช้ฮอร์โมน NAA ซึ่งให้แคลลัสลักษณะดีและปริมาณมากกว่าฮอร์โมนออกซินตัวอื่นๆ (กนกพร, 2538) ในขณะที่ไม้เนื้อแข็งชนิดอื่นมักจะใช้ 2-4,D ในการชักนำให้เกิดแคลลัส (Ammirato, 1983) เมื่อนำมาใช้ร่วมกับBAP พบว่าแคลลัสที่ได้มีปริมาณและคุณภาพดีกว่าการใช้ NAA เพียงอย่างเดียว ความเข้มข้นของ NAA และ BAP ที่ชักนำให้เกิดแคลลัสคุณภาพดีที่สุดในกวาวเครือขาวคือ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรและBAP 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสเป็นแบบ friable สีเขียวปนเหลือง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยใหญ่กว่า 1.5 ซม. ลักษณะของเซลล์เป็นรูปกลม ไซโตพลาสซึมเข้มข้น นิวเคลียสขนาดใหญ่ ซึ่งเป็นลักษณะของเซลล์ที่กำลังมีการเจริญเติบโตแบ่งตัว (Thorpe, 1982) ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับ hybrid larch (*Larix* x leptoeuropaea)ซึ่งเป็นพืชไม้เนื้อแข็งในเขตหนาว เมื่อเลี้ยงเซลล์แคลลัสของ hybrid larch ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช MS ที่เติม ABA จะทำให้เซลล์ขยายขนาดเซลล์มีลักษณะกลม ไซโตพลาสซึมเข้มข้นและสามารถพัฒนาไปเป็นโซมาติกเอมบริโอ เมื่อเปรียบเทียบกับแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เติม ABA เซลล์แคลลัสจะมีรูปร่างเป็นทรงกระบอก (Gutmann et al, 1996)

การใช้ NAA เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น0.5 และ 1.0 มก.ต่อลิตร ชักนำให้เกิดแคลลัสขนาดเล็กสีน้ำตาลอ่อน ลักษณะฉ่ำน้ำและกลายเป็นสีดำภายในเวลา 1 เดือน ส่วนการใช้ BAP เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 0.5 มก.ต่อลิตร ชักนำให้เกิดแคลลัสขนาดใหญ่สีน้ำตาลดำ

การใช้สารอินทรีย์เสริมร่วมกับสารเร่งการเจริญเติบโตเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส

ในการทดลองใช้สารอินทรีย์เสริมทั้งสี่ชนิดคือ เนื้อกล้วยหอมสุก เนื้อมันฝรั่ง เนื้อมะเขือเทศ และน้ำมะพร้าว พบว่าการใช้เนื้อกล้วยหอมสุก 100 150 และ 200 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มก.ต่อลิตร, 1.0 มก.ต่อลิตร, BAP 0.5 มก.ต่อลิตร และ NAA 0.5 มก.ต่อลิตร ร่วมกับ BAP 0.5 มก.ต่อลิตร แคลลัสที่เกิดขึ้นเป็น hard callus ขนาดใหญ่ สีเขียวเข้ม และกลายเป็นสีดำภายในระยะเวลา 1 เดือน สังเกตพบว่าในสูตรอาหารที่ใช้ BAP 0.5 มก.ต่อลิตร ร่วมกับเนื้อกล้วยหอม 100 และ 150 กรัมต่อลิตร จะเกิดยอดใหม่จำนวนมากจากเนื้อเยื่อส่วนยอด ยอดที่เกิดขึ้นแข็งแรงมีสีเขียวมีแนวโน้มที่จะพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ เช่นเดียวกับการขยายพันธุ์ยูคาลิปตัส พบว่าการใช้เนื้อเยื่อส่วนยอดจะชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อส่วนอื่นๆ เช่น ใบเลี้ยงหรือปลายราก (Mehra-Palta, 1982) พืชต่างชนิดกันจะมีชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเริ่มต้นต่างกัน (Rao and Lee, 1986)

การใช้เนื้อมันฝรง 100 150 และ 200 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มก.ต่อลิตร, BAP 0.5 มก.ต่อลิตร, และ NAA0.5 มก.ต่อลิตรร่วมกับ BAP 0.5 มก.ต่อลิตร พบว่าแคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็น hard callus สีน้ำตาลดำขนาดใหญ่ เช่นเดียวกับการใช้เนื้อมะเขือเทศ 100 150 และ 200 กรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0.5 มก.ต่อลิตร และBAP 0.5 มก.ต่อลิตร

แต่จะสังเกตได้ว่าการใช้น้ำมะพร้าวร่วมกับสูตรอาหารที่เติม NAA 0.5 มก.ต่อลิตรจะเกิดแคลลัสลักษณะคล้ายกับอาหารสูตรที่เติม NAA 0.5 มก.ต่อลิตร ร่วมกับ BAP 0.5 มก.ต่อลิตร แต่คุณภาพของแคลลัสจะต่ำกว่า สีของแคลลัสเป็นสีเขียวปนน้ำตาล เนื่องมาจากน้ำมะพร้าวมีฤทธิ์ของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน จึงทำให้แคลลัสมีลักษณะคล้ายกัน แต่ไซโตไคนินในน้ำมะพร้าวมีฤทธิ์อ่อนกว่า NAA คุณภาพของแคลลัสจึงต่างกัน

จะเห็นได้ว่าการใช้สารอินทรีย์เสริมทั้งสี่ชนิดในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสทำให้แคลลัสที่เกิดขึ้นเป็น hard callus เมื่อนำไปศึกษาลักษณะของเซลล์ผ่านกล้องจุลทรรศน์ จะเห็นว่าเซลล์มีลักษณะยาวรี ไซโตพลาสซึมใส สังเกตเห็นนิวเคลียสได้ยาก ผนังเซลล์บาง ซึ่งเป็นเซลล์ลักษณะเดียวกันกับเซลล์ของ hybrid larch ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ลักษณะเซลล์เช่นนี้ไม่สามารถใช้สำหรับชักนำให้เกิดโซมาติก เอมบริโอได้ แต่เมื่อพิจารณาทางด้านการชักนำให้เกิดออร์แกโนเจนนิซิส พบว่าการใช้กล้วยหอมสุกในอาหารสูตร MS ร่วมกับ BAP 0.5 มก.ต่อลิตร ได้ผลเป็นที่น่าพอใจ

การปรับปรุงสูตรอาหารในการชักนำให้เกิดต้นจำนวนมากจากเนื้อเยื่อส่วนข้อ

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นจำนวนมาก

ในการชักนำให้เกิดต้นจำนวนมากผ่านทางออร์แกโนเจนนิซิสเป็นวิธีที่นิยมมากในพืชไม้เนื้อแข็งหลายชนิด เช่น สน, triploid aspen, longleaf pine (Thorpe, Harry and Kumar, 1991) เนื่องจากมีความเสี่ยงต่อความไม่เสถียรทางพันธุกรรมต่ำ (Rao and Lee, 1986) แต่ก็มีอุปสรรคบ้างเนื่องจากพืชไม้เนื้อแข็งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ต่ำ (Karnosky, 1981)

BAP เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตที่เลือกใช้ในการทดลองนี้ เนื่องจากในพืชไม้เนื้อแข็งหลายชนิดได้ใช้ BAP เพื่อกระตุ้นให้เกิดยอดจำนวนมากเป็นผลสำเร็จ รวมทั้ง *Madhuca longifolia* (Koening) MacBrid var. *latifolia* Roxb. (Rout and Das, 1993) นอกจากนั้นยังพบว่า BAP ให้ประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นสูงสุดใน มะแฮะต้น, ถั่วแระ (*Cajanus cajan)* ซึ่งเป็นพืชตระกูลถั่วเขตร้อน รองลงมาคือ kinetin, zeatin และ adenine ตามลำดับ (Shiva et al, 1994) การกระตุ้นให้เกิดยอดจากใบเลี้ยงของ Douglas fir ซึ่งเป็นพืชไม้เนื้อแข็งเมืองหนาวอีกชนิดหนึ่ง โดยใช้ไซโตไคนินสามชนิดคือ BAP, kinetin และ isopentenyl adenine พบว่า BAP มีประสิทธิภาพดีที่สุด (Goldfarb et al, 1991)

ในการชักนำให้เกิดต้นกวาวเครือขาวจำนวนมากโดยใช้ตาข้างเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของ BAP 0.2 มก.ต่อลิตรและ 1.0 มก.ต่อลิตร ได้จำนวนยอดสูงสุดคือ 2.4 ยอด แต่ยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะเหลืองซีด โดยเฉพาะที่ BAP ความเข้มข้น 1.0 มก.ต่อลิตร ยอดที่เกิดมีลักษณะไม่สมบูรณ์และผิดปกติ มีอาการใบใสซึ่งเกิดจากความเข้มข้นของไซโตไคนินที่สูงเกินไป (Pierik, 1987) Harry และคณะ(1987); Aitken-Christie และ Connett (1992) พบว่าการชักนำให้เกิดยอดโดยใช้ BAP ที่ความเข้มข้นสูง ทำให้อัตราการเจริญเติบโตและการเกิดตายอดลดลง นอกจากนั้นยังต้องใช้เวลานานในการทำให้ตายอดยืดตัว เช่นเดียวกับการทดลองของ Srivastava, Steinhauer และ Glock (1985) พบว่าความเข้มข้นของ BAP ที่สูงเกินไปทำให้อัตราการเกิดต้นใหม่ลดลง

สารอินทรีย์เสริมที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นจำนวนมาก

ในการทดลองใช้สารอินทรีย์เสริมทั้งสี่ชนิดคือ เนื้อกล้วยหอมสุก เนื้อมันฝรั่ง เนื้อมะเขือเทศและน้ำมะพร้าว พบว่า ในสูตรอาหารที่เติม BAP 0.2 มก.ต่อลิตร ร่วมกับเนื้อมะเขือเทศ 150 กรัมต่อลิตร ยอดที่เกิดขึ้นมีคุณภาพดีกว่ายอดจากสูตรอาหารอื่นๆ

จะเห็นได้ว่าการเติมสารอินทรีย์เสริม สามารถพัฒนาการชักนำให้เกิดต้นให้ดีขึ้น อาจเป็นเพราะว่าในช่วงการแบ่งเซลล์อัตราการใช้พลังงานจะสูงขึ้นในขณะที่การสร้างพลังงานในพืชไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงต้องอาศัยแหล่งพลังงานจากภายนอก ดังนั้นในช่วงนี้กวาวเครือขาวจึงต้องการธาตุอาหารสูงกว่าปกติ การใช้อาหารสูตร MS ซึ่งมีธาตุอาหารสูงกว่าอาหารสูตร WPM จึงสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่า

จากการทดลองจึงมีแนวทางในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากโดยมีขั้นตอนสองขั้นตอน ขั้นตอนแรกคือ ชักนำให้เกิดตายอดจำนวนมากโดยใช้อาหารสูตร MS จากนั้นย้ายลงอาหารสูตร WPM เพื่อทำให้ตายอดนั้นยืดตัว เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของกนกพร (2538) ที่ใช้เนื้อเยื่อส่วนข้อเลี้ยงในอาหารสูตร WPM ที่มีธาตุเหล็ก 1.5 เท่า และ BAP 0.25 mg/l และชักนำให้ตายอดยืดตัวโดยใช้อาหารสูตร WPM ที่ไม่มีสารเร่งการเจริญเติบโต ยอดที่เกิดขึ้นมีความสูง ความ สมบูรณ์ และจำนวนยอดน้อยกว่ายอดจากสูตรอาหารใหม่ที่พัฒนาแล้ว เมื่อพิจารณาการทดลองของ Warrag, Lesney และ Rockwood (1991) ทำการขยายพันธุ์ *Eucalyptus grandis* hybrid โดยใช้อาหาร 2 สูตร สูตรแรกเป็นสูตรชักนำให้เกิดแคลลัส จากนั้นจะย้ายแคลลัสลงในอาหารสูตรเดิมที่ลดความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตลงเพื่อทำให้แคลลัสเกิด morphogenesis Aitken-Christie และ Connett (1992) รายงานว่าการย้ายเนื้อเยื่อพืชจากอาหารที่มีความเข้มข้นของของธาตุอาหารสูง (high salt medium) ไปสู่อาหารที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารต่ำ (low salt medium) ยังช่วยทำให้ต้นพืชแข็งแรงก่อนที่จะนำออกปลูกสู่สภาวะภายนอก ใน Douglas fir พบว่าหลังจาก 17 วัน การย้ายเนื้อเยื่อจากอาหารสูตร conifer morphogenesis (MCM) ที่เติม 10 μM BAP และน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตรไปยังอาหารสูตรเดิมที่ไม่มี BAP เป็นเวลา 21 วัน จากนั้นย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่เติมผงถ่าน 0.1% ทำให้ยอดยืดตัวดีขึ้น (Mohammed and Vidaver, 1990) ยังมีรายงานว่าการใช้ BAP ความเข้มข้นสูงๆ (400และ800 μM) ในระยะสั้น (2 ชม.) ชักนำให้ใบเลี้ยงของ Douglas fir เกิดยอดได้มากกว่าการเติม BAP ลงในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Goldfarb et al, 1991) ส่วนใน *Picea abies* จะใช้ตาข้างแช่ใน BAP 250 μM เป็นเวลา 3 ชม. จากนั้นจึงย้ายลงอาหารสูตรเดิมที่เติม BAP 5 μM ทำให้เกิดตาข้างใหม่ 10-20 ตา (Von-Arnold and Tillberg, 1987) การลดระดับฮอร์โมนและอัตราส่วนที่เหมาะสมของฮอร์โมนพืชใน

อาหาร มีอิทธิพลต่อการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (Bonneau, Beranger-Novat and Monin, 1994) สำหรับกวาวเครือขาวซึ่งเป็นพืชไม้เนื้อแข็งที่ปกติเจริญเติบโตและตอบสนองต่ออาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อรวมถึงสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ ช้ากว่าพืชอวบน้ำใบเลี้ยงคู่ (Rao and Lee, 1986) การใช้ BAP ระยะเวลาสั้นๆ อาจไม่เพียงพอสำหรับการกระตุ้นให้เกิดต้นจำนวนมาก จึงใช้เวลาในการเลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 15-20 วัน แล้วจึงย้ายลงอาหารสูตร WPM

จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย 3x3 factorial เมื่อพิจารณาค่า coefficient of variation (cv) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 54.11 % แสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนของผลการทดลอง เนื่องจากความแปรผันทางพันธุกรรมของต้นพืชเอง ซึ่งมีวิธีแก้โดยคัดเลือกพืชเพียง clone เดียวมาทำการทดลอง นอกจากนั้น ในการคัดเลือกสูตรอาหารควรจะพิจารณาคุณภาพของต้นพืชที่เกิดขึ้นร่วมกับปริมาณควบคู่กันไป

การปรับปรุงอาหารสูตรชักนำให้เกิดราก

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดราก

ในการชักนำให้เกิดรากจากต้นกวาวเครือขาว สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เลือกใช้คือ NAA ในช่วง 0-1.5 มก.ต่อลิตร จากการทดลองพบว่า NAA สามารถคงอยู่ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อได้นานถึง 35 วันในขณะที่ปริมาณ IAA จะลดลง 40% ภายในเวลา 1 สัปดาห์เท่านั้น (Mohammed and Vidaver, 1988) Pierik (1987) รายงานว่า IBA และ NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีประสิทธิภาพสำหรับไม้เนื้อแข็ง ส่วน IAAจะไม่นิยมในพืชที่ออกรากยาก

ที่ความเข้มข้นของ NAA 1.0 มก.ต่อลิตร รากที่เกิดขึ้นมีคุณภาพดีที่สุด ต้นมีสีเขียว พบอาการใบร่วงเล็กน้อย ส่วนที่ NAA 0.5 มก.ต่อลิตร และ NAA 1.5 มก.ต่อลิตร รากมีโครงสร้างผิดปกติมีลักษณะพองบวมและหลุดง่าย พบอาการใบร่วงเล็กน้อย ซึ่งได้ผลแนวเดียวกับการทดลองของกนกพร (2538) อาการใบร่วงที่เกิดขึ้นเป็นผลเนื่องจากแก๊สเอทธิลีน (ethylene) ที่เกิดขึ้นและสะสมในขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ การสร้างเอทธิลีน เกิดจากฮอร์โมนออกซิน, อุณหภูมิที่สูงเกินไป, บาดแผลบริเวณรอยตัดและ TIBA (สารยับยั้งการเคลื่อนย้ายออกซินในพืช) (Pierik, 1987)

ในการชักนำให้เกิดรากในพืช มักจะใช้สูตรอาหารที่ลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่ง แต่การเกิดรากเป็นกระบวนการที่ใช้พลังงานสูง ซึ่งต้องใช้น้ำตาลจากอาหารอย่างต่อเนื่อง การใช้น้ำตาลที่ความเข้มข้นสูงๆ ทำให้ต้นพืชที่ได้แข็งแรงและมีผลต่อการนำต้นพืชออกปลูก (Mohammed and

Vidaver, 1988) โดยเฉพาะในกรณีของพืชไม้เนื้อแข็ง (Pierik, 1987) ดังนั้นการใช้อาหารสูตร WPM ซึ่งเป็นอาหารสูตรที่มีแร่ธาตุต่ำ จึงเหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดราก นอกจากนั้นยังพบว่า ใน *Sequoia sempervirens* ที่มีอายุน้อยจะเกิดรากและเจริญเติบโตได้ดีกว่าต้นที่มีอายุมาก เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของออกซิน เมตาโบลิซึมจากบริเวณรอยตัดในสี่วันแรกของการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Blazkova et al, 1997) ส่วนในพืชไม้เนื้อแข็งทั่วไปพบว่าเนื้อเยื่อพืชที่มีอายุน้อยจะตอบสนองต่ออาหารได้ดีกว่าเนื้อเยื่อที่มีอายุมาก (Sommer and Caldas, 1981)

การใช้สารอินทรีย์เสริมที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดราก

ในช่วงแรกของการเกิดรากต้องการพลังงานในรูปของน้ำตาลสูง สารอินทรีย์เสริมที่เติมลงไปในอาหารจึงสามารถช่วยให้เกิดรากดีขึ้น จากการทดลองพบว่าการเติมกล้วยหอมสุก 100 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้ปริมาณและคุณภาพของรากดีที่สุด ส่วนสารอินทรีย์เสริมชนิดอื่นๆคือ มันฝรั่งและเนื้อมะเขือเทศนั้น รากที่เกิดขึ้นมีลักษณะพองบวม ผิดปกติ นอกจากนั้นจะสังเกตได้ว่าในสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว จะไม่เกิดรากหรือเกิดน้อย แต่จะเกิดแคลลัสขนาดใหญ่มาก เกิดเนื่องจากฤทธิ์ไซโตไคนินของน้ำมะพร้าวนั่นเอง

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของกล้วยหอมสุกพบว่ามีน้ำตาลอยู่เป็นปริมาณมากถึง 20.4 กรัมในเนื้อกล้วยหอมสุก 100 กรัม นอกจากนั้นยังมี microelement ต่างๆ มากกว่าสารอินทรีย์เสริมชนิดอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด (สมัย เจริญรัถ, ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์ และอัมพวัน สัตยานุรักษ์, 2513) จึงทำให้การเกิดรากเกิดได้ดีขึ้น และคุณภาพรากก็ดีขึ้นอีกด้วย

ในพืชหลายชนิด การลดความเข้มข้นของไนโตรเจนในรูปไนเตรตและแคลเซียมมีผลทำให้ต้นพืชเกิดรากดีขึ้น แต่สำหรับกวาวเครือขาวจำนวนรากที่เกิดขึ้นลดลงและอัตราการเกิดไม่สม่ำเสมอ

เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองของกนกพร (2538) ที่ชักนำให้เกิดรากในอาหารสูตร WPM ร่วมกับ NAA 1 มก.ต่อลิตร พบว่ารากในสูตรอาหารที่พัฒนาเกิดได้เร็วขึ้น ปริมาณราก และคุณภาพรากเพิ่มขึ้นมากกว่าเดิม

และเมื่อพิจารณาการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี 3x3 factorial พบว่ามีค่า cv สูงถึง 230.53 % แสดงถึงความแปรปรวนของผลการทดลองซึ่งอาจเกิดจากความแปรผันทางพันธุกรรมของพืช ทำให้การแปลผลทางสถิติคลาดเคลื่อน ซึ่งอาจแก้ไขได้โดยคัดเลือกพืชทดลองใน clone เดียวกัน จะทำให้ลดความแปรปรวนลงได้ นอกจากนั้นในการพิจารณาว่าอาหารสูตรใดเหมาะสม

ที่สุดต่อการชักนำให้เกิดราก ต้องพิจารณาถึงลักษณะคุณภาพของรากเป็นหลักใหญ่ ร่วมกับผลทางสถิติควบคู่กันไป

การพัฒนาสูตรอาหารที่มีผลต่อการเลี้ยงกวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดลองพบว่าอาหารสูตร MS ที่เพิ่มธาตุเหล็ก 1 เท่า ร่วมกับเนื้อมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร เนื้อกล้วยหอมดิบ 100 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 150 มล.ต่อลิตร ผงถ่าน 0.3 กรัมต่อลิตร เป็นอาหารสูตรที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงกวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งได้ดัดแปลงมาจากสูตรอาหารเลี้ยงกล้วยไม้ซึ่งเป็นพืชที่เจริญเติบโตช้า แต่ต้องการสารอินทรีย์สำหรับการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์เช่นเดียวกับกวาวเครือขาว ดังนั้นจึงต้องใช้สารอินทรีย์เสริมถึง 3 ชนิด เพื่อตอบสนองความต้องการสารอาหารของต้นพืช ส่วนประกอบของอาหารที่เพิ่มขึ้นจากปกติทำให้กวาวเครือขาวเจริญได้ดีขึ้น เมื่อเทียบกับอาหารสูตรเดิมคือ WPM ที่เพิ่มธาตุเหล็ก 0.5 เท่า ต้นกวาวเครือขาวมีข้อและปล้องอ่อน ต้นมักไม่แข็งแรง และพบอาการขาดธาตุเหล็กที่ใบอ่อน ผงถ่านที่เติมลงไปเพื่อดูดซับสารฟีนอลิก หรือสารที่เป็นพิษที่สะสมอยู่ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Phalaenopsis* hybrid ใช้เนื้อกล้วยหอมเป็นสารอินทรีย์เสริม และใส่ผงถ่านเพื่อดูดสารพิษที่เกิดจากเนื้อกล้วยหอม (Pierik, 1987) มักใช้ผงถ่านอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.2 - 3.0 % W/V ถ้าใช้มากเกินไปจะยับยั้งการเจริญของเนื้อเยื่อ นอกจากนั้นพบว่าผงถ่านมีฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตและการเกิดออร์แกโนเจนนิซิสของพืชไม้เนื้อแข็ง

เนื้อมันฝรั่ง และเนื้อกล้วยหอมดิบที่เติมลงไปเพื่อเพิ่มสารอาหารและธาตุอาหารรองที่จำเป็น (microelement) ทำให้เนื้อเยื่อต่างๆ เจริญเติบโตดีขึ้น ข้อ ปล้อง ใบใหญ่ขึ้นและเจริญงอกงามดี ส่วนน้ำมะพร้าวที่เติมลงไปมีฤทธิ์ไซโตไคนินอย่างอ่อน ทำให้ต้นที่เลี้ยงเกิดการแตกยอดใหม่เล็กน้อยสามารถแยกยอดที่เกิดขึ้นมาชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากขึ้น ทำให้จำนวนของต้นใหม่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วมากกว่าเดิม

ในพืชสกุลกล้วยไม้ได้มีการใช้สารอินทรีย์เสริมชนิดต่างๆ ช่วยในการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมานานแล้ว เช่น น้ำมะเขือเทศ กล้วย น้ำมะพร้าว จะใช้เพาะเมล็ดกล้วยไม้ชนิดต่างๆ เช่น *Cattleya, Oncidium, Epidendrum, Cymbidium, Dendrobium* เป็นต้น (Meyer, 1945; Vacin and Went, 1949; Graeflinger, 1950; Niimoto and Sagawa, 1961) แต่ในพืชไม้เนื้อแข็ง การใช้สารอินทรีย์เสริมเพื่อช่วยให้เกิดการเจริญเติบโตยังไม่แพร่หลาย เมื่อพิจารณาจากการทดลองจะเห็นได้ว่ามีแนวโน้มที่เป็นไปได้ที่จะนำไปใช้ในพืชไม้เนื้อแข็งชนิดอื่นๆ ต่อไป

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมอาหารของกวาวเครือขาวในแปลงทดลอง

ในการทดลองนำกวาวเครือขาวที่ชักนำให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อไปทดลองปลูกในแปลงทดลอง ที่ อ. บ้านโป่ง จ. ราชบุรี พบว่ากวาวเครือขาวมีการเจริญเติบโตได้ดี และมีช่วงของการเจริญเติบโต ทิ้งใบ คล้ายกับในสภาพแวดล้อมธรรมชาติ แต่ค่อนข้างมีความแปรผันของอัตราการเจริญเติบโตค่อนข้างสูง โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ามีทั้งต้นที่มีความยาวลำต้นเพียง 14 ซม. และต้นที่มีความยาวลำต้น 826 ซม. สาเหตุที่มีความแตกต่างอาจเป็นเหตุผลเดียวกับการเกิดต้นใหม่และการเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ นั่นคือความแปรผันทางพันฑุกรรมของพืชนั่นเอง รากสะสมอาหารที่เกิดขึ้นก็มีลักษณะคล้ายคลึงกัน เพียงแต่รากกวาวเครือขาวในแปลงทดลองมีลักษณะแปรผันต่างออกไปเล็กน้อย บาง รากยาวคล้ายหัวมันสำปะหลัง บางรากกลมป้อมเกาะกันเป็นกระจุก อาจเป็นเพราะอายุของกวาวเครือขาวในแปลงทดลองน้อยกว่าในสภาพธรรมชาติ การพัฒนาของรากสะสมอาหารยังเกิดได้ไม่เต็มที่ คาดว่าถ้าระยะเวลาการปลูกเลี้ยงยาวนานขึ้นลักษณะของรากจะมีการพัฒนามากขึ้นกว่านี้ นอกจากนี้รูปร่างที่ผิดปกติดังกล่าวอาจเป็นผลมาจากเป็นพืชที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และรากเกิดขึ้นจากการกระตุ้นโดยการใช้ฮอร์โมน ไม่ใช่รากที่เกิดตามธรรมชาติที่เกิดจากรากแก้ว และรากแขนงที่แตกออกจากรากแก้ว

จากการสังเกตพบว่ากวาวเครือขาวในบริเวณแปลงทดลองมีศัตรูทางธรรมชาติน้อย ทำให้ดูแลง่าย กวาวเครือขาวสามารถขึ้นได้ในสภาพดินที่เป็นกลางหรือเป็นกรดเล็กน้อย มีความชื้นต่ำแต่ก็สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพที่มีความชื้นสูงเช่นที่ อ. ไทรโยคน้อยเช่นเดียวกัน นอกจากนั้นยังเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ เช่นที่ อ. ดอยเต่า โดยสามารถออกดอกและเมล็ดได้ตามปกติ

ดินในแปลงทดลอง อ. บ้านโป่ง ซึ่งอยู่บริเวณภาคกลาง มีการทำไร่อ้อย ปลูกข้าวโพด และเลี้ยงสัตว์ เมื่อทำการทดสอบคุณภาพของดินพบว่ามีค่าความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง และความอุดมสมบูรณ์ใกล้เคียงกับดินที่สถานีทดลอง อ. ดอยเต่า จึงสามารถปลูกเลี้ยงกวาวเครือขาวได้เจริญงอกงามดี ในการปลูกกวาวเครือขาวในแปลงทดลองได้มีการยกแปลงเพื่อปรับสภาพทางนิเวศน์วิทยารวมทั้งศึกษาว่ามีผลกระทบต่อการเกิดรากสะสมอาหารและการให้ปุ๋ยเคมีหรือไม่ พบว่าในกวาวเครือขาวบางต้น บริเวณโคนต้นเกิดรากแตกแขนงออกมา แต่รากนั้นไม่พัฒนาเป็นรากสะสมอาหาร นอกจากนั้นการยกแปลงยังทำให้การระบายน้ำดีขึ้นไม่เกิดน้ำท่วมขัง ซึ่งจะทำให้การเจริญเติบโตของกวาวเครือขาวหยุดชงัก

เมื่อทำการทดสอบผลของปุ๋ยสองชนิดคือสูตรเสมอ(15-15-15) และสูตรบำรุงราก

(8-24-24) ที่มีผลต่อน้ำหนักสดของรากสะสมอาหารและจำนวนรากสะสมอาหาร พบว่าให้ผลไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 อาจเป็นเพราะในการเกิดรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของลำต้นเหนือพื้นดิน เมื่อลำต้นเจริญเติบโตดีจึงทำให้เกิดการสะสมอาหาร ดังนั้นการให้ปุ๋ยเพื่อบำรุงรากเพียงอย่างเดียวจึงไม่มีผลทำให้รากสะสมอาหารมีน้ำหนักและจำนวนเพิ่มขึ้น ในการปลูกกวาวเครือขาวจึงสามารถใช้ปุ๋ยสูตรเสมอที่ใช้กับต้นพืชทั่วไปหรืออาจใช้ปุ๋ยคอกและปุ๋ยหมักที่ผลิตได้เองเพื่อเพิ่มสารอินทรีย์ในดิน ทำให้ลดค่าใช้จ่ายและความยุ่งยากในการดูแลรักษา

เมื่อหาค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดของรากสะสมอาหารของต้นพืชอายุ 1 เดือน และ 1 ปี มีค่าเป็น 1.314 และ 1.76 กก. ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยของจำนวนรากสะสมอาหารของต้นกวาวเครือขาวอายุ 1 เดือน และ 1 ปี มีค่าแท่ากับ 13.38 และ 16.83 ราก ตามลำดับ

จะเห็นได้ว่า ต้นกวาวเครือขาวที่มีอายุ 1 เดือน มีน้ำหนักสดและจำนวนรากสะสมอาหารน้อยกว่าต้นกวาวเครือขาวที่มีอายุ 1 ปี และพบว่ามีความแปรผันในการเกิดรากสะสมอาหารทั้งในด้านจำนวนและน้ำหนักสดของพืชแต่ละต้นเช่นเดียวกับการแปรผันในด้านการเจริญเติบโต

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของน้ำหนักสดร่วมกับจำนวนรากสะสมอาหารและอัตราการเจริญเติบโตของต้นกวาวเครือขาวแต่ละต้น พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันทั้งสามปัจจัย

จากการศึกษาเบื้องต้นในการสกัดสารจากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวในแปลงทดลองและจากธรรมชาติด้วยเอทธานอล และเปรียบเทียบความเหมือนและความต่างโดยพิจารณาจากค่า Rf พบว่าสารสกัดจากพืชทั้งสองกลุ่มมีค่า Rf ใกล้เคียงกันถึง 6 กลุ่ม ซึ่งคาดว่าอาจเป็นสารกลุ่มเดียวกัน แต่ปริมาณของสารจากแปลงทดลองจะน้อยกว่า ดูได้จากความเข้มของแผ่น TLC (เทียบโดยประมาณจากน้ำหนักสารเริ่มต้นที่เท่ากัน) นอกจากนั้นเมื่อดูความเข้มของ Pattern TLC ของรากสะสมอาหารจากดอยเต่า และไทรโยคน้อย จะเห็นได้ว่า Pattern TLC จากรากสะสมอาหารจาก อ. ดอยเต่า มีความเข้มข้นมากกว่าอาจเป็นเพราะ ที่ อ. ดอยเต่ามีความแห้งแล้งกว่า สารที่สะสมในรากสะสมอาหารจึงเข้มข้นกว่า

จากการศึกษาของ Ingham, Tahara และ Dziedzic (1986, 1988, 1989) สกัดสารจากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวด้วยเมทธานอล ได้สารในกลุ่มไอโซฟลาโวนอยด์หลายชนิดเช่น daidzein, daidzin, puerarin, genistein และ coumestrol เป็นต้น ในการแยกสารที่สกัดได้โดยใช้วิธี TLC ถ้าสารที่ชะต่างกัน สารเคมีที่แยกได้จะต่างกันออกไป เช่น ถ้าใช้ $CHCl_3$-MeOH-H_2O ในอัตราส่วน 20:10:1 เป็นตัวชะ จะได้ daidzin, puerarin และ mirificin แต่ถ้าใช้ benzene-MeOH อัตราส่วน 20:3 เป็นตัวชะจะสามารถแยก daidzin ออกเป็น daiazin บริสุทธิ์ และ genistin เป็นต้น

(Ingham, Tahara และ Dziedzic , 1989) ส่วน Jones และ Pope (1961) รายงานว่าพบสาร miroestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว นอกจากนั้น Ohshima และคณะ (1988) ; Takeya และ Itokawa (1982) ได้ทำการแยกสารที่สกัดได้จากรากของ *Pueraria lobata* ซึ่งเป็นพืชในสกุลใกล้เคียงกับกวาวเครือขาวด้วยวิธี HPLC พบสารประเภทเดียวกับที่พบในกวาวเครือขาวหลายชนิด เช่น daidzin และ daidzein เป็นต้น

Corey และ Wu (1993) สามารถสังเคราะห์ miroestrol ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว โดยใช้สารเริ่มต้นคือ 4-methoxysalicyl aldehyde และ 3-bromo-4-methoxyphenol ได้โดยใช้ THF 23°C

ในการศึกษา Pattern TLC เบื้องต้นแม้จะไม่ทราบถึงปริมาณและชนิดของสารสะสมในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว แต่เป็นเพียงแนวทางบอกให้ทราบเพียงว่าต้นพืชในแปลงปลูกสะสมสารเคมีได้เช่นเดียวกับต้นพืชในธรรมชาติ ซึ่งอนุมานได้ว่ามีสารเคมีที่ต้องการเช่นเดียวกัน

เมื่อศึกษาลักษณะของเซลล์ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวอายุ 6 เดือน จากภาพตัดขวางเซลล์เห็นเม็ดแป้งจำนวนมากอยู่ในเซลล์ที่มีไซโตพลาสซึมใส นิวเคลียสขนาดเล็ก เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่สะสมอาหารโดยเฉพาะ ส่วนเซลล์แคลลัสซึ่งเป็นเซลล์พาเรนไคมาไม่พบเม็ดแป้งซึ่งเป็นธรรมชาติของเซลล์ที่อยู่ในสภาพ undifferentiate cell แบบพาเรนไคมาอยู่แล้ว อาจเป็นเพราะภายในขวดแก้วไม่เอื้อต่อการสะสมสารรวมถึงการเกิดรากสะสมอาหารด้วย

เมื่อพิจารณาแล้ว ในการเลี้ยงกวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อเพื่อผลิตสารทุติยภูมิยังมีความเป็นไปได้น้อย จากการศึกษาของกนกพร (2538) พบว่าแคลลัสในสภาพปลอดเชื้อมีจำนวนกลุ่มสารน้อยกว่ารากในสภาพปลอดเชื้อเมื่อทำการสกัดด้วยเอทธานอลบริสุทธิ์ และแยกในแผ่นซิลิกาเจล ดังนั้นการพัฒนาจึงควรมุ่งไปในด้านการปลูกเลี้ยงในแปลงปลูกเพื่อผลิตสารทุติยภูมิที่ต้องการจากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวมากกว่า

ภาพตัดขวางของเซลล์ปลายรากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ และรากที่เกิดจากการชักนำมีลักษณะไม่แตกต่างกันแสดงให้เห็นท่อน้ำท่ออาหารชัดเจน

จากการศึกษา ทำให้เห็นความเป็นไปได้ในการปลูกต้นกวาวเครือขาวเป็นพืชเศรษฐกิจเสริม เพื่อสกัดสารที่มีประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ หรือใช้เป็นพืชสมุนไพรเสริมสุขภาพ แต่ควรมีการปรับปรุงคัดเลือกสายพันธุ์ที่โตเร็ว และสามารถผลิตสารที่ต้องการได้ในปริมาณสูงโดยเก็บเมล็ดจากสภาพธรรมชาติทั้งสองแหล่งและดูอัตราการเจริญเติบโต ในสภาพปลอดเชื้อ รวมถึงการคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถเกิดต้นใหม่ได้เป็นจำนวนมาก จากนั้นนำมาเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตรากสะสมอาหารและสารทุติยภูมิในแปลงทดลองเพื่อตอบสนองความต้องการในการปลูกพืชชนิดนี้เป็นปริมาณมาก

เนื่องจากกวาวเครือขาวสามารถขึ้นได้ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์และความชื้นต่ำ รวมทั้งสามารถขึ้นได้ในพื้นที่หลายแหล่ง จึงอาจใช้พืชชนิดนี้ปลูกในบริเวณพื้นที่เสื่อมโทรมหรือที่ดินว่างเปล่าเพื่อฟื้นฟูสภาพของดินได้อีกด้วย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1. สามารถขยายพันธุ์พืชชนิดนี้ได้ในปริมาณมากเพื่อตอบสนองความต้องการในการปลูกระดับพาณิชย์ได้ในอนาคต

2. นำเสนอแนวทางในการปลูกพืชในแปลงปลูก เพื่อผลิตรากสะสมอาหารและผลิตสารที่ต้องการทดแทนการเก็บพืชจากป่า และลดการทำลายพื้นที่ป่า

ข้อเสนอแนะ

1. อาจมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนราก และน้ำหนักสดของรากสะสมอาหารกับปริมาณของสารทุติยภูมิที่ต้องการ เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารที่ต้องการได้ในปริมาณมาก และใช้เป็นสายพันธุ์ที่ดีสำหรับเกษตรกรเพื่อปลูกในแปลงปลูกจำนวนมาก

2. ศึกษาความแปรผันของต้นพืชที่เกิดขึ้นเนื่องจากพันธุกรรม หรือเกิดจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีต่อไป

3. ศึกษาลักษณะของดินชนิดต่างๆ เช่นดินเหนียว ดินร่วน หรือดินทราย ที่มีผลต่อการเกิดรากสะสมอาหาร รวมทั้งการสะสมสารเคมีที่ต้องการ เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการปลูกพืชในแปลงปลูกระดับพาณิชย์ได้

สรุปผลการทดลอง

1. การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการชักนำให้เกิดโซมาติกเอมบริโอ และการเกิดต้นอ่อนของกวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ

1.1. การใช้สารอินทรีย์เสริมสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสพบว่า แคลลัสที่เกิดมีคุณภาพต่ำกว่าแคลลัสจากอาหารที่ไม่เติมสารอินทรีย์จากการทดลองของกนกพร (2538)

1.2. การชักนำให้เกิดต้นโดยใช้เนื้อเยื่อส่วนยอดเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 0.5 มก.ต่อลิตร และเนื้อกล้วยหอมสุก 100 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 15-20 วัน ตายอดที่เกิดขึ้นสมบูรณ์ มีลักษณะแข็งแรง คล้ายธรรมชาติมากกว่าวิธีที่ไม่เติมสารอินทรีย์เสริม

1.3. ชักนำให้ยอดยืดตัวโดยใช้อาหารสูตร WPM ที่เพิ่มธาตุเหล็ก 1 เท่า ร่วมกับ BAP 0.2 มก.ต่อลิตร และเนื้อมะเขือเทศ 150 กรัม เป็นเวลา 30วัน

1.4. การชักนำให้เกิดรากประสบผลสำเร็จโดยใช้อาหารสูตร WPM ที่เพิ่มธาตุเหล็ก 1 เท่าร่วมกับ NAA 1.0 มก.ต่อลิตร และเนื้อกล้วยหอมสุก 100 กรัมต่อลิตร

1.5. สภาพที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อคือ อาหารสูตร MS เพิ่มธาตุเหล็ก 1 เท่า เนื้อมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร เนื้อกล้วยหอมดิบ 100 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 150 มล.ต่อลิตร ผงถ่าน 0.3 กรัมต่อลิตร และน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร

2. ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสารภายในรากสะสมอาหารของพืชในแปลงทดลอง

2.1. การเจริญเติบโตของกวาวเครือขาวในสภาพธรรมชาติ พบว่าสามารถขึ้นได้ทั้งในสภาพแห้งแล้งและชุ่มชื้น ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำหรือสูง สภาพความเป็นกรดเล็กน้อยหรือเป็นกลาง โดยจะมีความแตกต่างทางขนาดของลำต้น ใบ ดอก และเมล็ดอย่างเห็นได้ชัด โดยกวาวเครือขาวที่ขึ้นในสภาพชุ่มชื้น ดินมีความอุดมสมบูรณ์สูงจะมีขนาดลำต้น ใบ ดอก และเมล็ดใหญ่กว่า

2.2. รากที่ได้จากการชักนำให้เกิดราก มีลักษณะไม่แตกต่างจากรากที่ได้จากการเพาะเมล็ด และสามารถเกิดรากสะสมอาหารภายในเวลา 3 เดือน ในสภาพแวดล้อมภายนอก

2.3. ปุ๋ยสูตรเสมอ และสูตรบำรุงราก ให้ผลไม่แตกต่างต่อการสร้างจำนวนรากสะสมอาหารรวมถึงน้ำหนักสดของรากสะสมอาหารกวาวเครือขาวในแปลงทดลอง

3. การศึกษาเปรียบเทียบเบื้องต้นของสารที่สะสมในรากสะสมอาหารที่ได้จากพืชในแปลงปลูกกับรากสะสมอาหารธรรมชาติ

ผลการศึกษาพบว่า การปลูกพืชในแปลงทดลอง ให้ผลคล้ายกับในสภาพธรรมชาติ แต่สารเคมีสะสมในรากมีความเข้มข้นน้อยกว่าสารที่ได้จากรากในสภาพธรรมชาติ