การเจริญในรอบปี (phenological cycle) และการจำแนกกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ด้วยโมเลกุลเครื่องหมาย

เกษร เมืองทิพย์[1] ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล[2] และยุวดี มานะเกษม[1*]

Kesorn Muangtip[1], Suchirat Sakuanrungsirikul[2] and Yuvadee Manakasem[1]. (2007).* **Phenological Cycle and Molecular Markers Classification of Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.).** *Suranaree J. Sci. Technol. 14(1):119-128.*

Received: Nov 1, 2006; Revised: Jan 11, 2007; Accepted: Jan 16, 2007

Abstract

Red Kwao Krua phenological cycle was examined every 15 days at Wangnumkeaw district, Nakhon Ratchasima from mid March 2004 to mid March 2005. Ten plants were selected to collect data. New stems and new leaves were flushed (100%) in early June. The changing in 1 unit of maximum temperature and rainfall from 32.93°C and 0 mm/day caused the changed in new stems and new leaves appearance by 9.98% and 12.52% respectively. Old leaves reached 100% in late September. Falling leaves reached 100% in early November. The changing in 1 unit of minimum temperature and relative humidity from 20.62°C and 89.87% caused the changed in leaves falling 22.40% and 5.49% respectively. Red Kwao Krua flowered 100% in late February. The changing in 1 unit of maximum-minimum temperature and relative humidity from 31.91°C, 19.02°C, and 79.13% caused the changed in flowering 10.36%, 8.94%, and 3.83% respectively. Podding reached 100% in mid March. The changing in 1 unit of maximum temperature from 30.94°C caused the changed in podding 8.31%. Using RAPD technique with 27 clones from Nakhon Ratchasima, Kalasin and Sakonnakhon with 40 primers, 693 positions were detected. The dendrogram showed 75 - 97% genetic relatedness among clones. Which fell in to five groups. These groups were in line with their sources. Botanical characteristics were related to seven DNA pair but could not be used to classify the differences among clones.

Keywords: Red Kwao Krua, phenological cycle, clones, RAPD, dendrogram, genetic relatedness

[1] *สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000 E-mail: yuvadee@g.sut.ac.th*

[2] *ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40000*

[*] *ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ*

บทคัดย่อ

ศึกษาการเจริญและพัฒนาในรอบปี (phenological cycle) ของกวาวเครือแดงที่อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา เริ่มจากกลางเดือนมีนาคม 2547 ถึงกลางเดือนมีนาคม 2548 โดยเก็บข้อมูลจากกวาวเครือแดง จำนวน 10 ต้น ทุก ๆ 15 วัน พบว่าต้นเดือนมิถุนายน กวาวเครือแดงแตกเครือเถาและใบอ่อนสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิสูงสุด และปริมาณน้ำฝนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 หน่วย จาก 32.93 องศาเซลเซียส และ 0 มิลลิเมตรต่อวัน ทำให้เปอร์เซ็นต์การแตกเครือเถาเพิ่มขึ้นหรือลดลง 9.98 เปอร์เซ็นต์ และ 12.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ใบแก่ 100 เปอร์เซ็นต์ปลายเดือนกันยายน และผลัดใบ 100 เปอร์เซ็นต์ต้นพฤศจิกายน อุณหภูมิต่ำสุด และความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 หน่วย จาก 20.62 องศาเซลเซียส และ 89.87 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบเพิ่มขึ้นหรือลดลง 22.40 เปอร์เซ็นต์ และ 5.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กวาวเครือแดงออกดอก 100 เปอร์เซ็นต์ปลายกุมภาพันธ์ อุณหภูมิต่ำสุด อุณหภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 หน่วย จาก 19.02 องศาเซลเซียส 31.91 องศาเซลเซียส และ 79.13 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.94 เปอร์เซ็นต์ 10.36 เปอร์เซ็นต์ และ 3.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การติดฝัก 100 เปอร์เซ็นต์กลางเดือนมีนาคม อุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 องศาเซลเซียส จาก 30.94 องศาเซลเซียส ทำให้เปอร์เซ็นต์การติดฝักเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.31 เปอร์เซ็นต์ ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยวิธี RAPD จำนวน 27 ต้น จากนครราชสีมา กาฬสินธุ์ และ สกลนคร โดยใช้ไพรเมอร์ 40 ตัว ตรวจจับดีเอ็นเอได้ 693 ตำแหน่ง มีความใกล้ชิดกันระหว่าง 75 - 97 เปอร์เซ็นต์ จากโครงสร้าง dendrogram สามารถแบ่งได้ 5 กลุ่ม ซึ่งสัมพันธ์กับแหล่งกระจายพันธุ์ ลักษณะทางพฤกษศาสตร์มีความสัมพันธ์กับลักษณะของดีเอ็นเอจำนวน 7 คู่ แต่ไม่สามารถนำลักษณะทางพฤกษศาสตร์มาแยกความแตกต่างของต้นได้

บทนำ

กวาวเครือแดงเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยาและอาหารเสริมสุขภาพ เช่น รักษาอาการอ่อนเพลีย บำรุงร่างกาย บำรุงสายตา บำรุงฮอร์โมนเพศชาย แหล่งที่พบกวาวเครือแดงที่เจริญเติบโตตามธรรมชาติ เช่น ที่จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดกาฬสินธุ์ และจังหวัดสกลนคร จากสภาพความแตกต่างของพื้นที่ และการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติ น่าจะมีผลต่อสายพันธุ์ของกวาวเครือแดง เพื่อเป็นการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของกวาวเครือแดง ทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม จึงได้ใช้เทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอในการจำแนกกวาวเครือแดง ใช้เทคนิค random amplified polymorphic DNA (RAPD) วิธีนี้สามารถนำมาจำแนก และศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืชได้อย่างรวดเร็ว รวมทั้งสามารถนำมาใช้เป็นเอกลักษณ์ (DNA fingerprint) ของพืชได้ (พรพันธ์ ภู่พร้อมพันธุ์, 2538) และได้มีการศึกษาปรากฏการณ์ในรอบปี (phenological cycle) เพื่อให้เข้าใจถึงการเจริญเติบโตของกวาวเครือแดง ทั้งนี้เพื่อนำมาปรับใช้ในการจัดการให้ต้นกวาวเครือแดงมีความอุดมสมบูรณ์ และให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ เช่นเดียวกับที่ได้มีการศึกษาในเงาะ (Manakasem, 1995) และมังคุด (Manakasem, 1995) นอกจากนี้การศึกษาถึงสภาพภูมิอากาศที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลง และ/หรือการเจริญเติบโตของกวาวเครือแดงจะสามารถนำมาปรับปรุงการปลูกกวาวเครือแดงได้ เช่นเดียวกับที่มีการศึกษาในกวาวเครือขาว (ประสาร ฉลาดคิด, 2546) การศึกษาต้นกวาวเครือแดงที่เจริญเติบโตตามสภาพธรรมชาติ เพื่อศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรม เป็นแนวทางในการจำแนกต้นโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย ร่วมกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของแต่ละต้น ยังไม่มีการศึกษาในระดับโมเลกุล หรือระดับดีเอ็นเอ และยังไม่มีการบันทึกลักษณะทาง

พฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดงมาก่อน ข้อมูลเหล่านี้จะเป็นพื้นฐานสำคัญสำหรับการวิจัยกวาวเครือแดงในอนาคต เช่นเดียวกับที่ได้มีการศึกษาในกวาวเครือขาว (Ditchaiwong *et al*., 2005)

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและอิทธิพลของสภาพภูมิอากาศที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกวาวเครือแดงในรอบปี และจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของกวาวเครือแดง

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

เลือกต้นกวาวเครือแดงที่มีอายุและขนาดใกล้เคียงกัน จำนวน 10 ต้น ติดหมายเลขต้นตามลำดับ เพื่อทำการสำรวจ และเก็บข้อมูล ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีสหสัมพันธ์ และรีเกรชชั่น และทำการรวบรวมต้นกวาวเครือแดงจาก 3 จังหวัด รวม 27 ต้น ได้แก่ นครราชสีมา 10 ต้น (N1-N10) กาฬสินธุ์ 11 ต้น (K1-K11) และสกลนคร 6 ต้น (SK1-SK6) เพื่อคัดแยกต้นด้วยโมเลกุลเครื่องหมายร่วมกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของแต่ละต้น การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

1. ศึกษาการเจริญเติบโตและพัฒนาในรอบปี ทำการสำรวจ และเก็บข้อมูลกวาวเครือแดงที่อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ที่มีอายุและขนาดใกล้เคียงกัน จำนวน 10 ต้น ทุก ๆ 15 วัน ตั้งแต่กลางเดือนมีนาคม 2547 ถึงกลางเดือนมีนาคม 2548 เพื่อศึกษาการแตกเครือเถาและใบอ่อน การเกิดใบแก่ การผลัดใบ การออกดอก และการติดฝัก โดยการประเมินด้วยสายตาแล้วนำมาเฉลี่ย

2. ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือแดง นำข้อมูลทางสภาพแวดล้อมคือ อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส) อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส) ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตรต่อวัน) และความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์) จากสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช นครราชสีมา มาหาความสัมพันธ์ (correlation) และวิเคราะห์ multiple linear regression กับเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของกวาวเครือแดงในตอนที่ 1

3. การจำแนกต้นกวาวเครือแดงด้วยเทคนิค randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) รวบรวมสายต้นกวาวเครือแดงจาก 3 จังหวัด รวม 27 ต้นคือ นครราชสีมา 10 ต้น บางต้นใช้ร่วมกับตอนที่ 1 และ 2 (N1-N10) กาฬสินธุ์ 11 ต้น (K1-K11) และสกลนคร 6 ต้น (SK1-SK6) ทำการคัดเลือกใบในแต่ละต้นในระยะใบเพสลาดมาสกัดดีเอ็นเอ โดยประยุกต์วิธีการของ Li and Midmore (Li and Midmore, 1999) ปฏิกิริยา polymerase chain reaction (PCR) ใช้ DNA ตั้งแต่ 10 - 40 ng ปฏิกิริยาประกอบด้วย 10X PCR buffer (20 mM Tris-HCl pH 8.0, 0.1 mM EDTA, 100 mM KCl, 50% glycerol, 1 μM DTT, 0.5% Tween 20, 0.5% Nondidet P-40) 1.2% Formamide, 200 mM dNTP, 1.5 mM $MgCl_2$ และ 0.9 U Tag DNA polymerase (promega) ไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยามี 40 ไพรเมอร์ คือ A01 A02 A11 B11 B20 C04 C05 C07 C08 C19 D03 D04 D08 D10 D13 18 D20 E01 E02 E06 E07 E14 E19 G03 G08 G10 G16 M05 P83 P85 P88 P2589 P2671 P2674 P2680 S05 S09 S11 S16 และ S19 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR จำนวน 45 รอบ คือ ที่ระดับอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และรอบที่ 46 สำหรับการสังเคราะห์ดีเอ็นเอให้สมบูรณ์ ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที แยกขนาดดีเอ็นเอด้วย agarose gel electrophoresis ใช้ 1% gel และ 0.5X TBE ย้อมด้วย ethidium bromide บันทึกข้อมูลการพบแถบดีเอ็นเอ ถ้าพบแถบดีเอ็นเอใช้สัญลักษณ์ " 1 " ในทุกตำแหน่ง ส่วนสายต้นที่ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันให้ใช้สัญลักษณ์ " 0 " เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมดของกวาวเครือแดงทุกต้น โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ NTSYSpc เวอร์ชั่น 1.10 ซึ่งโปรแกรมจะคำนวณความสัมพันธ์ของกวาวเครือแดงแต่ละต้น และสร้างเป็น Tree plot ที่เหมาะสม การบันทึกข้อมูลลักษณะทางพฤกษศาสตร์โดยการสังเกตด้วยสายตา แล้วใช้

สัญลักษณ์ “ 1 ” และ “ 0 ” ทั้ง 9 ลักษณะ คือรูปร่างใบ ฐานใบ ปลายใบ สีก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝักและเมล็ด โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ NTSYSpc เวอร์ชั่น 1.10 ในการคำนวณ เช่นเดียวกับลักษณะของดีเอ็นเอ

ผลการทดลองและอภิปรายผล

การเจริญเติบโตและพัฒนาของกวาวเครือแดงในรอบปี (phenological cycle)

กวาวเครือแดงจะมีการแตกเครือเถาและใบอ่อนเพียงชุดเดียว คือเริ่มแตกเครือเถาและใบอ่อนปลายเดือนพฤศจิกายน เครือเถาและใบอ่อนแตกเต็มที่ 100 เปอร์เซ็นต์ในต้นเดือนมิถุนายน ใบแก่เต็มที่ 100 เปอร์เซ็นต์ปลายเดือนกันยายน หลังจากนั้นกวาวเครือแดงเริ่มผลัดใบต้นเดือนตุลาคม และผลัดใบอย่างรวดเร็ว ผลัดใบ 100 เปอร์เซ็นต์กลางเดือนพฤศจิกายน เริ่มออกดอกต้นเดือนพฤศจิกายน ออกดอก 100 เปอร์เซ็นต์ปลายเดือนกุมภาพันธ์ ดอกเริ่มบานปลายเดือนธันวาคมและเริ่มติดฝักในต้นเดือนมกราคม หลังจากนั้นฝักจะเจริญและพัฒนาอย่างรวดเร็ว จนถึงระยะฝักแก่ 100 เปอร์เซ็นต์ในกลางเดือนมีนาคม (รูปที่ 1) ซึ่งลักษณะการเจริญและพัฒนาดังกล่าวใกล้เคียงกับกวาวเครือขาว (ประสาร ฉลาดคิด, 2546)

ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือแดง

การแตกเครือเถาและใบอ่อน

อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝน ต่างมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การแตกเครือเถาและใบอ่อน โดยแสดงค่าดรรชนีสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.418^{*} 0.356^{*} และ 0.517^{**} ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ multiple linear regression

$$Y = -423.243 + 9.982^{**}\ \text{max. temp} + (-3.862\ \text{min.}^{ns}\ \text{temp}) + 2.164^{ns}\ \text{rh} + 12.521^{*}\ \text{rainfall}$$

$$r^2 = 0.54^{*}$$

แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุด และปริมาณน้ำฝน มีอิทธิพลต่อการเจริญและพัฒนาของเครือเถาและใบอ่อนของกวาวเครือแดง 54 เปอร์เซ็นต์ และจากค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชชั่นของอุณหภูมิสูงสุด คือ $b = 9.982^{**}$ แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 องศาเซลเซียสจาก 32.93 องศาเซลเซียส (รูปที่ 2) ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การเจริญและพัฒนาของเครือเถาและใบอ่อนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 9.982 เปอร์เซ็นต์ และค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชชั่นของปริมาณน้ำฝนคือ $b = 12.521^{*}$ แสดงว่าปริมาณน้ำฝนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 มิลลิเมตรจาก 0 มิลลิเมตร ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การเจริญและพัฒนาของเครือเถาและใบอ่อนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 12.521 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิสูงสุด

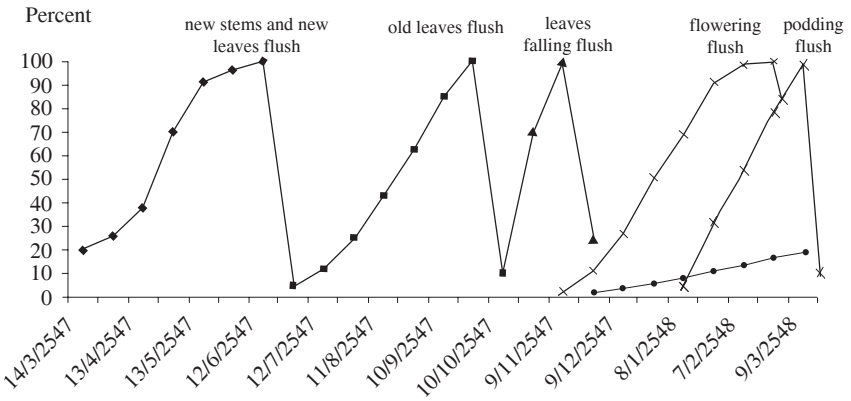

Figure 1. Red Kwao Krua phenological cycle

32.93 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำฝนประมาณ 0 มิลลิเมตร (รูปที่ 2) ทำให้กวาวเครือแดงเริ่มแตกเครือเถาและใบอ่อน เช่นเดียวกับการศึกษาของชรินทร์ วังใจ และ ยุทธนา สมิตะสิริ (2530) ที่กล่าวว่า ในสภาพแห้งแล้ง น้ำน้อย อุณหภูมิในกลางวัน 30 - 37 องศาเซลเซียส ลำต้นของกวาวเครือขาว จะยืดตัวอย่างรวดเร็ว

ใบแก่

อุณหภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์ต่างมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การแก่ของใบ โดยแสดงค่าดรรชนีสหสัมพันธ์เท่ากับ -3.331* และ 0.416* ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ multiple linear regression

$$Y = 121.750 + (-6.256^{ns} \text{ max. temp}) + (-0.123^{ns} \text{ rh}) + 4.943^{ns} \text{ min. temp} + 0.776^{ns} \text{ rainfall}$$

$$r^2 = 0.325^{ns}$$

แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุด ความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝนโดยรวม มีความสัมพันธ์กับการแก่ของใบกวาวเครือแดง

Table 1. The correlation between percentage of phenological cycle of Red Kwao Krua and maximum and minimum temperature (°C), relative humidity (%) and rainfall (mm/day) and r^2 of multiple linear regression

Climatic data (average ever 15 days)	% new stems and new leaves	% old leaves	% leaves falling	% flowering	% podding
Maximum temperature (°C)	0.418*	-0.331*	0.774ns	0.177ns	0.390*
Minimum temperature (°C)	0.356*	0.290ns	-0.878*	-0.481**	-0.070ns
Relative humidity (%)	0.166ns	0.416*	-0.936**	-0.244ns	-0.174ns
Rainfall (mm/day)	0.517**	0.320ns	-0.914*	-0.490**	-0.163ns
r^2	0.54*	0.325 ns	099*	0.534**	0.278*

ns = not significant
* = significant at 0.05 levels of probability
** = significant at 0.01 levels of probability

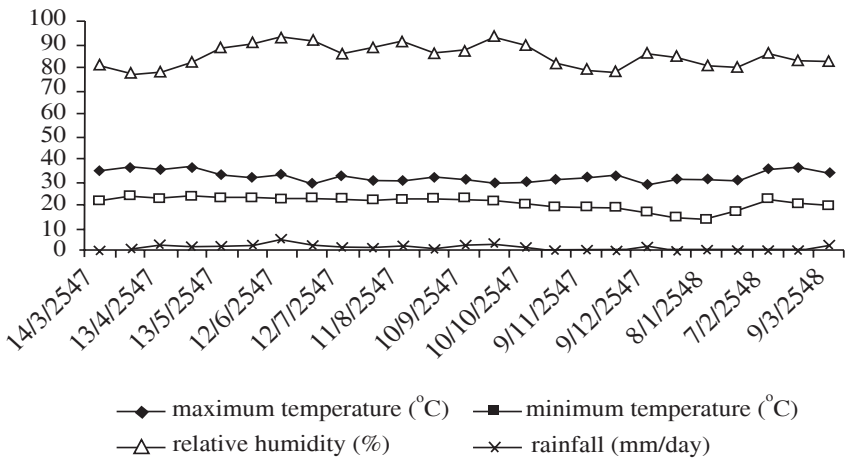

Figure 2. Microclimatic data

การผลัดใบ

อุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน ต่างมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การผลัดใบ โดยแสดงค่าดรรชนีสหสัมพันธ์เท่ากับ -0.878*, -0.936* และ -0.914* ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ multiple linear regression

$$Y = 647.911 + (-22.409^{*} \text{ min. temp}) + 9.810^{ns} \text{ max. temp} + (-5.494^{*} \text{ rh}) + 17.340^{ns} \text{ rainfall}$$

$$r^2 = 0.99^{*}$$

แสดงถึงอุณหภูมิต่ำสุด และความชื้นสัมพัทธ์มีอิทธิพลต่อการผลัดใบของกวาวเครือแดง 99 เปอร์เซ็นต์ จากค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชชั่นของอุณหภูมิต่ำสุดคือ b = -22.409* แสดงว่าอุณหภูมิต่ำสุดลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 องศาเซลเซียสจาก 20.62 องศาเซลเซียส (รูปที่ 2) ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบเพิ่มขึ้นหรือลดลง 22.409 เปอร์เซ็นต์ และค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชชั่นของความชื้นสัมพัทธ์ คือ b = -5.494* แสดงว่าความชื้นสัมพัทธ์ลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 เปอร์เซ็นต์จาก 89.87 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 2) ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบเพิ่มขึ้นหรือลดลง 5.494 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิต่ำสุดประมาณ 20.62 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 89.87 เปอร์เซ็นต์ กวาวเครือแดงเริ่มผลัดใบ (รูปที่ 2) สอดคล้องกับการผลัดใบของกวาวเครือขาว (ประสาร ฉลาดคิด, 2546) Satoh (1982) กล่าวว่า การชราภาพและการหลุดร่วงของใบในต้นไม้ผลัดใบเป็นกลไกที่หลีกเลี่ยงสภาพแวดล้อมที่ผันแปรไปอย่างรุนแรง เช่น สภาพอากาศหนาว แสงไม่เหมาะสม และ Gates (1955) รายงานว่าการขาดน้ำระยะสั้น ๆ สามารถเร่งการชราภาพของใบได้

การออกดอก และพัฒนาการของดอก

อุณหภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝนมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การออกดอกและพัฒนาการของดอกกวาวเครือแดง โดยแสดงค่าดรรชนีสหสัมพันธ์เท่ากับ -0.481* และ -0.490* ตามลำดับ (ตารางที่ 1) การวิเคราะห์ multiple linear regression

$$Y = -445.954 + (-8.948^{**} \text{ min. temp}) + 10.362^{*} \text{ max. temp} + (-8.973^{ns} \text{ rainfall}) + (3.838^{*} \text{ rh})$$

$$r^2 = 0.534^{**}$$

แสดงว่าอุณหภูมิต่ำสุด อุณหภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์ มีอิทธิพลต่อการออกดอกของกวาวเครือแดง ซึ่งมีความเป็นไปได้ถึง 53.4 เปอร์เซ็นต์ จากค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชชั่นของอุณหภูมิต่ำสุดคือ b = -8.948** แสดงว่าอุณหภูมิต่ำสุดลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 องศาเซลเซียสจาก 19.02 องศาเซลเซียส (รูปที่ 2) ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.948 เปอร์เซ็นต์ ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชชั่นของอุณหภูมิสูงสุดคือ b = 10.362* แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 องศาเซลเซียสจาก 39.91 องศาเซลเซียส (รูปที่ 2) ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 10.362 เปอร์เซ็นต์ และค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชชั่นของความชื้นสัมพัทธ์ คือ b = 3.838* แสดงว่าความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 เปอร์เซ็นต์จาก 79.13 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 3.838 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นสัมพัทธ์ 79.13 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิสูงสุด 31.91 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุด 19.02 องศาเซลเซียส (รูปที่ 2) จะทำให้กวาวเครือแดงออกดอก อุณหภูมิต่ำสุดมีผลต่อการชักนำให้เกิดตาดอกเช่นในมังคุด (Manakasem, 1995) เงาะ (Manakasem, 1995) และถ้าปริมาณน้ำฝนตกมากขึ้นจะทำให้การเกิดตาดอกและพัฒนาการของดอกลดลง เช่นเดียวกับเกิดในมังคุดและเงาะ Nobel (1988) กล่าวว่าอุณหภูมิสูงสุดที่เพิ่มขึ้นก็จะเร่งให้พืชแก่และชราภาพเร็วขึ้น

การติดฝัก

อุณหภูมิสูงสุด มีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของฝักกวาวเครือแดง โดยแสดงค่าดรรชนีสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.390* (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ multiple linear regression

$$Y = -358.772 + 8.317^{*} \text{ max. temp} + 3.137^{ns} \text{ min. temp} + 2.200^{ns} \text{ rh} + (-2.361^{ns} \text{ rainfall})$$

$$r^2 = 0.278^{*}$$

แสดงถึงอุณหภูมิสูงสุด มีอิทธิพลต่อการ

เจริญเติบโตของฝักกวาวเครือแดง 27.8 เปอร์เซ็นต์ และได้ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชชั่นของอุณหภูมิสูงสุด คือ b = 8.317* แสดงว่า เมื่ออุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 องศาเซลเซียสจาก 30.94 องศาเซลเซียส (รูปที่ 2) ทำให้เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของฝักเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.317 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิสูงสุด 30.94 องศาเซลเซียส (รูปที่ 2) จะทำให้กวาวเครือแดงเริ่มติดฝักและเจริญเติบโต Nobel (1988) กล่าวว่า อุณหภูมิสูงสุดที่เพิ่มขึ้นก็จะเร่งให้พืชแก่และชราภาพเร็วขึ้น ส่วนอุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์และถ้าปริมาณน้ำฝนไม่มีอิทธิพลต่อการติดฝักของกวาวเครือแดง อิทธิพลเหล่านี้จะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและใบมากกว่าการเจริญเติบโตของฝัก

ผลการจำแนกต้นกวาวเครือแดงด้วยเทคนิค randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)

พบว่าสามารถตรวจจับตำแหน่งดีเอ็นเอของกวาวเครือแดงได้ 693 ตำแหน่ง เป็นตำแหน่งที่คงที่ในทุกต้น (monomorphic) จำนวน 276 ตำแหน่ง คิดเป็น 39.8 เปอร์เซ็นต์ของตำแหน่งทั้งหมด และเป็นตำแหน่งที่มีความแตกต่างของต้น (polymorphic) จำนวน 417 ตำแหน่ง คิดเป็น 60.2 เปอร์เซ็นต์ของตำแหน่งทั้งหมด จากการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยการสร้าง dendrogram (รูปที่ 3) พบว่าตัวอย่างมีความใกล้ชิดกัน 97 - 75 เปอร์เซ็นต์ สามารถแบ่งได้ 5 กลุ่มใหญ่ ที่ระดับความใกล้ชิดประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มี 5 ต้น ประกอบด้วยต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ คือ K1 K2 K3 K4 และ K5 เป็นกลุ่มที่มีระดับความใกล้ชิดกันที่ระดับ 87 - 91 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะต้น K4 และ K5 มีระดับความใกล้ชิดมากที่สุดที่ระดับ 91 เปอร์เซ็นต์ และต้น K1 มีความแตกต่างจากต้นอื่น ๆ มากที่สุด

กลุ่มที่ 2 มี 6 ต้น ประกอบด้วยต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ คือ K6 K7 K8 K9 K10 และ K11 ต้นที่ K6 เป็นต้นที่มีความแตกต่างจากต้นอื่น ๆ มากที่สุด และต้นที่ K10 และ K11 มีความใกล้ชิดกันมากที่สุดที่ระดับ 94 เปอร์เซ็นต์

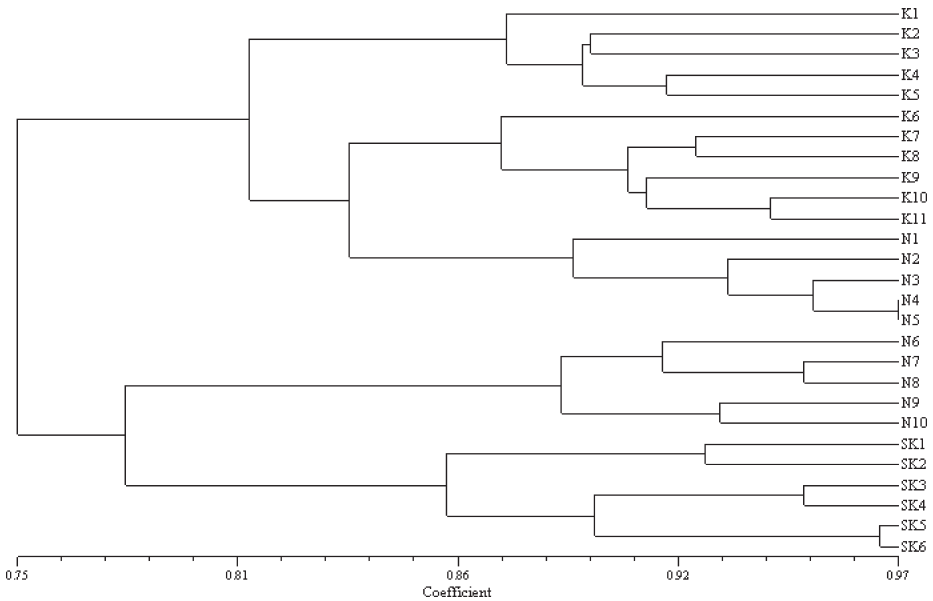

Figure 3. Dendrogram of 27 clones of Red Kwao Krua

กลุ่มที่ 3 มี 5 ต้น ประกอบด้วยต้นจากจังหวัดนครราชสีมา คือ N1 N2 N3 N4 และ N5 ต้นที่ N4 และ N5 เป็นต้นที่มีระดับความใกล้ชิดกันมากที่สุด คือ 97 เปอร์เซ็นต์ อาจเป็นไปได้ว่าเป็นต้นที่มาจากต้นพ่อและต้นแม่เดียวกัน ในขณะที่ต้นที่ N1 มีความแตกต่างจากต้นอื่น ๆ มากที่สุด

กลุ่มที่ 4 มี 5 ต้น ประกอบด้วยต้นจากจังหวัดนครราชสีมา คือ N6 N7 N8 N9 และ N10 ต้นที่มีระดับความใกล้ชิดกันมากที่สุดคือ N7 และ N8 ที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 5 มี 6 ต้น ประกอบด้วยต้นจากจังหวัดสกลนคร คือ SK1 SK2 SK3 SK4 SK5 และ SK6 ต้นในกลุ่มนี้มีความใกล้ชิดกันที่ระดับ 96 - 85 เปอร์เซ็นต์ แต่ต้น SK5 และ SK6 มีความใกล้ชิดกันมากที่สุดที่ระดับ 96 เปอร์เซ็นต์

จากการที่แบ่งกวาวเครือแดงออกเป็น 5 กลุ่ม ซึ่งสัมพันธ์กับแหล่งที่กวาวเครือแดงเจริญเติบโตหรือลักษณะภูมิประเทศ เป็นไปได้ว่าในบริเวณเดียวกัน หรือแหล่งเดียวกัน กวาวเครือแดงเหล่านั้นผสมพันธุ์จากต้นพ่อและแม่ที่มีความสัมพันธ์กัน และพัฒนาเป็นต้น พร้อมทั้งสภาพแวดล้อมได้ช่วยคัดเลือกต้นที่แข็งแรงไว้ ลักษณะพันธุกรรมจึงออกมาใกล้เคียงกันในแต่ละกลุ่มย่อย

การจัดกลุ่มกวาวเครือแดงโดยใช้ลักษณะทางพฤกษศาสตร์จำนวน 9 ลักษณะ ได้แก่ รูปร่างใบ ฐานใบ ปลายใบ สีก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝัก และเมล็ด พบว่าต้นที่มีลักษณะเหมือนกัน 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 2 ต้น มี 4 คู่ คือ คู่ที่ 1 คือ K2 และ K3 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ obtuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และเมื่อแก่มีสีน้ำตาล และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม คู่ที่ 2 คือ K4 และ K5 มีรูปร่างใบแบบ obovate ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ obtuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และเมื่อแก่มีสีน้ำตาล และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม คู่ที่ 3 คือ N2 และ N8 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบเฉพาะส่วนยอดอ่อนเท่านั้น รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และสีน้ำตาลเมื่อแก่ และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม และคู่ที่ 4 คือ SK5 และ SK6 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบส่วนที่ติดกับใบมีสีน้ำตาลอมม่วง เกิดเฉพาะใบที่เจริญเติบโตหลังใบเพสลาดไปแล้ว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และสีน้ำตาลเมื่อแก่ และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม และที่มีลักษณะเหมือนกัน 100 เปอร์เซ็นต์ ที่มีมากกว่า 2 ต้น แบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มี 8 ต้น ได้แก่ K1 K6 K7 K8 K9 K10 K11 และ N9 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ obtuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และสีน้ำตาลเมื่อแก่ และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม กลุ่มที่ 2 มี 6 ต้น ได้แก่ N1 N3 N4 N5 N6 และ N7 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และสีน้ำตาลเมื่อแก่ และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม และกลุ่มที่ 3 มี 5 ต้น ได้แก่ N10 SK1 SK2 SK3 และ SK4 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และสีน้ำตาลเมื่อแก่ และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม และลักษณะทางพฤกษศาสตร์มีความสัมพันธ์กับลักษณะของดีเอ็นเอจำนวน 7 คู่ การศึกษาระดับดีเอ็นเอ และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ในกวาวเครือแดงสอดคล้องกับการศึกษาในกวาวเครือขาว (Ditchaiwong *et al*., 2005)

ผลจาก dendrogram (รูปที่ 3) พบว่าตำแหน่งดีเอ็นเอที่แสดงถึงความแตกต่างของต้นกวาวเครือแดง ที่ระดับความใกล้ของดีเอ็นเอ 85 เปอร์เซ็นต์ แบ่งได้ 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มี 5 ต้นได้แก่ K1 K2 K3 K4 และ K5 กลุ่มที่ 2 มี 6 ต้น ได้แก่ K6 K7 K8 K9 K10 และ K11 กลุ่มที่ 3 มี 5 ต้น ได้แก่ N1 N2 N3 N4 และ N5 กลุ่มที่ 4 มี 5 ต้น ได้แก่ N6 N7

N8 N9 และ N10 และกลุ่มที่ 5 มี 6 ต้น ได้แก่ SK1 SK2 SK3 SK4 SK5 และ SK6 จัดว่ากวาวเครือแดงมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง หรือมีความหลากหลายทางพันธุกรรม เช่นเดียวกับกวาวเครือขาว (Ditchaiwong *et al*., 2005) ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกวาวเครือแดงมีความสัมพันธ์กับแหล่งกำเนิดของต้นกวาวเครือแดงที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ

บทสรุป

จากการทดลองนี้พบว่า การเจริญและพัฒนาในรอบปี (phenological cycle) ของกวาวเครือแดงแบ่งได้ 5 ระยะ คือ ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อนมีความสัมพันธ์กับอุณภูมิสูงสุด อุณภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝน ระยะใบแก่ มีความสัมพันธ์กับอุณภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์ระยะผลัดใบ มีความสัมพันธ์กับอุณภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน ระยะออกดอกมีความสัมพันธ์กับอุณภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝน และระยะติดฝักมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิสูงสุด ส่วนการจำแนกต้นกวาวเครือแดงจำนวน 27 ต้น พบว่าเทคนิค RAPD สามารถใช้ระบุต้นกวาวเครือแดงได้ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกวาวเครือแดงมีความสัมพันธ์กับลักษณะของ DNA จำนวน 7 คู่ แต่ไม่สามารถนำลักษณะทางสัณฐานวิทยามาใช้แยกความแตกต่างระหว่างต้นได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ได้สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2544 - 2546

เอกสารอ้างอิง

ชรินทร์ วังใจ และ ยุทธนา สมิตะสิริ. (2530). ชีววิทยาบางประการของกวาวขาว: 5) การเจริญของกวาวขาวในธรรมชาติ. ใน: เอกสารประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 13. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา, หน้า 476-477.

ประสาร ฉลาดคิด. (2546). อิทธิพลของสภาพแวดล้อมและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การออกดอก การติดฝักและเมล็ด และการสะสมสาร Daidzein และ Genistein ในหัวกวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Grah. Var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham). วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาเอก. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, 83 หน้า.

พรพันธ์ ภู่พร้อมพันธุ์. (2538). เทคนิคการจำแนกพันธุ์พืชด้วยวิธี Random Amplifiled Polymorphic DNA (RAPD) ในการตรวจแยกสายพันธุ์พืชด้วยการใช้ Isozyme pattern และ RAPD. เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการระหว่างวันที่ 24-28 กรกฎาคม 2538. ศูนย์ปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (วิทยาเขตกำแพงแสน), นครปฐม.

Ditchaiwong, C., Sakuanrungsirikul, S., Samitasiri, Y., Wongyai, S., Srijugawan, S., and Suwanbury, S. (2005). Clonal selection of *Pueraria mirifica* Airy Shaw and Suvatabandhu by using molecular markers. Agricultural Sci. J., 365-6(Suppl): 36(5–6):919-922.

Gates, C.T. (1955). The response of the young tomato plant to a brief period of water shortage. II: The individual leaves. Aust. J. Biol. Sci., 8:215-230.

Li, M., and Midmore, D.J. (1999). Estimating the genetic relationships of Chinese water chestnut (*E. dulcis* (Burm.f.) Hensch) cultivated in Australia, using RAPDs. J. of Hort. and Biotec., 74(2):224-231.

Manakasem, Y. (1995). Changes in apices and effect of microclimate on flora initiation of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Sursnaree J. Sci. Technol., 2(1):15-20.

Manakasem, Y. (1995). Changes in apices and effect of microclimate on flora initiation

of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Sursnaree J. Sci. Technol., 2(2):81-87.

Nobel, P.S. (1988). Environmental Biology of Agaves an Cacti. Cambridge: Cambridge University Press. NY, 270p.

Satoh, M. (1982). Effect of leaves retained at the tissue of harvest on regrowth and changes in their physiological activity in mulberry tree. JARQ., 15:266-271.

Stetter, K.O., Fiala, G., Huber, G., Huber. R., and Segerer, A. (1990). Hyperthermophillic Microorganisms. FEMS microbiol Rev., 75(38):117-124.