เกษร เมืองทิพย์ : พฤกษศาสตร์ พันธุ์ การเจริญเติบโตและการพัฒนา การติดฝักและเมล็ด และแอนโทไซยานินของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) (BOTANY, VARIETY, GROWTH AND DEVELOPMENT, PODDING, SEED SETTING AND ANTHOCYANIN IN RED KWAO KRUA [*Butea superba* Roxb.]) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี มานะเกษม, 127 หน้า.

กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) เป็นพืชสมุนไพรที่ขึ้นทะเบียนเป็นพืชสงวน รักษาอาการปวดเมื่อยตามร่างกาย บำรุงผิวพรรณ บำรุงฮอร์โมนเพศชาย ได้ทำการทดลอง 4 การทดลอง ในปี 2547-2549 เพื่อศึกษาการติดฝักและเมล็ด การเจริญเติบโตและการพัฒนา พันธุ์และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ และปริมาณแอนโทไซยานินของกวาวเครือแดง การทดลองที่ 1 อิทธิพลของ NAA และการให้น้ำต่อการติดฝักและเมล็ดของกวาวเครือแดง ที่ อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา วางแผนการทดลองแบบ 2^2 factorial in RCBD จำนวน 2 ซ้ำ พบว่าการให้น้ำทำให้ความยาวช่อดอกสูงสุด (36.53 ซม.) และจำนวนเมล็ดต่อฝักสูงสุด (1.15 เมล็ดต่อฝัก) การฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำ ให้จำนวนฝักต่อช่อดอกมากที่สุด (5.10 ฝักต่อช่อดอก) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกวาวเครือแดงที่ไม่ได้ฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับไม่ให้น้ำ และพบว่าเมล็ดที่สมบูรณ์ของกวาวเครือแดงมี embryo ขนาดใหญ่ ปลายยอด ปลายรากใหญ่ และกลุ่มเซลล์เด่นกว่าเมล็ดไม่สมบูรณ์ การทดลองที่ 2 ศึกษาการเจริญและการพัฒนาของกวาวเครือแดงในรอบปี ที่ อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา โดยเลือกกวาวเครือแดงจำนวน 10 ต้น ที่เจริญเติบโตอยู่ในระยะเดียวกัน มีความสูงและขนาดเท่า ๆ กัน พบว่ากวาวเครือแดงมีการเจริญและการพัฒนา 5 ระยะ คือ ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน ระยะใบแก่ ระยะผลัดใบ ระยะออกดอก และระยะติดฝัก โดยที่กวาวเครือแดงแตกเครือเถาและใบอ่อน 100%ต้นเดือนมิถุนายน ใบแก่ 100%ปลายเดือนกันยายน ผลัดใบ 100%ต้นเดือนพฤศจิกายน ออกดอก 100%ปลายเดือนกุมภาพันธ์ และฝักแก่ 100%กลางเดือนมีนาคม การเจริญและการพัฒนาของกวาวเครือแดงในรอบปีมีความสัมพันธ์กับสภาพภูมิอากาศ อุณหภูมิสูงสุด และปริมาณน้ำฝนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 หน่วย จาก 32.93°ซ และ 0 มม./วัน ทำให้เปอร์เซ็นต์การแตกเครือเถาและใบอ่อนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 9.98% และ 12.52% ตามลำดับ อุณหภูมิต่ำสุด และความชื้นสัมพัทธ์ลดลง หรือเพิ่มขึ้น 1 หน่วย จาก 20.62°ซ และ 89.87% ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบเพิ่มขึ้นหรือลดลง 22.40% และ 5.49% ตามลำดับ อุณหภูมิต่ำสุดลดลง หรือเพิ่มขึ้น 1 หน่วย จาก 19.02°ซ ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.94% อุณหภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 หน่วย จาก 31.91°ซ และ 79.13% ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 10.36% และ 3.83% ตามลำดับ อุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1°ซ จาก 30.94°ซ ทำให้เปอร์เซ็นต์การติดฝักเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.31% การทดลองที่ 3 การจำแนกสายพันธุ์

กวาวเครือแดงโดยเทคนิค RAPD ควบคู่กับลักษณะทางพฤกษศาสตร์จากกวาวเครือแดง 6 จังหวัด โดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่มจับ (random primer) 40 ชนิด พบว่าสามารถตรวจจับ DNA ได้ 888 ตำแหน่ง เป็น polymorphic loci 813 ตำแหน่ง คิดเป็น 91.55% ของตำแหน่งดีเอ็นเอทั้งหมด และเป็น monomorphic loci 75 ตำแหน่ง คิดเป็น 8.45% ของตำแหน่งดีเอ็นเอทั้งหมด ผลการคำนวณความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกวาวเครือแดงด้วยโปรแกรม NTSYSpc v. 2.10X คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (similarity coefficient) ด้วย Jaccard และจัดกลุ่ม dendrogram ด้วย unweighted pair group method using arithmetic means (UPGMA) ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ระดับความใกล้ชิด 32% สามารถแยกได้ 2 กลุ่มใหญ่อย่างชัดเจน กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มตัวอย่างของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ซึ่งสามารถแยกเป็นกลุ่มย่อยได้อีก 2 กลุ่มที่ coefficient 70% กลุ่มย่อยที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างจาก จ.กาฬสินธุ์ และนครราชสีมา กลุ่มย่อยที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างจาก จ.นครราชสีมา และสกลนคร กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มตัวอย่างของเถาพันซ้าย (*Spatholobus paeviflorus* [DC.] Kuntze) สามารถแยกได้อีก 3 กลุ่มย่อยที่ coefficient 84% ประกอบด้วยตัวอย่างจาก จ.ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และมหาสารคาม ตัวอย่างทั้งหมดที่นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้มีลักษณะที่ต่างกันทั้งสิ้น ยกเว้น C6 และ C7 ที่เหมือนกัน 100% ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่ coefficient 19% แยกได้ 2 กลุ่มใหญ่ กลุ่มที่ 1 กวาวเครือแดงประกอบด้วยตัวอย่างจาก จ.นครราชสีมา กาฬสินธุ์ และสกลนคร กลุ่มที่ 2 เถาพันซ้าย ประกอบด้วยตัวอย่างจาก จ.ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และมหาสารคาม การทดลองที่ 4 การตรวจหาปริมาณแอนโทไซยานินในรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง และรากเถาพันซ้ายที่เป็นตัวอย่างเดียวกันกับการจำแนกสายพันธุ์โดยเทคนิค RAPD มาสกัดและแยกองค์ประกอบบนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบผิวบางเคลือบด้วยเซลลูโลส และใช้เฟสเคลื่อนที่ 2 ชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริค:กรดฟอร์มิค:น้ำ ในสัดส่วน 25:24:51 และ 7:51:42 โดยปริมาตร มีค่า R_f เท่ากับ 0.12 และ 0.34 ตามลำดับ ตรวจสอบแอนโทไซยานินด้วยค่าการดูดกลืนแสง และเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีน้ำตาล เมื่อ pH เปลี่ยนจาก 1 เป็น 14 ซึ่งเป็นลักษณะของแอนโทไซยานิน จากการหาปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธี pH differential พบว่าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex) ของรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง มีสหสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานิน แต่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง และจำนวนวงที่เป็นสีแดงของเถาพันซ้ายไม่มีสหสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานิน กวาวเครือแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 69-144 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และเถาพันซ้ายมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 172-252 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด จากการศึกษาทั้งหมดสรุปได้ว่า การฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำทำให้การติดฝักต่อช่อดอกในกวาวเครือแดงเพิ่มมากขึ้น สภาพภูมิอากาศมีอิทธิพลต่อการ

เจริญและการพัฒนาของกวาวเครือแดง เทคนิค RAPD สามารถจำแนกสายต้นกวาวเครือแดงได้ และในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดงมีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
ปีการศึกษา 2549

ลายมือชื่อนักศึกษา เกษร เมืองทิพย์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

KESORN MUANGTIP: BOTANY, VARIETY, GROWTH AND DEVELOPMENT, PODDING, SEED SETTING AND ANTHOCYANIN IN RED KWAO KRUA (*Butea superba* Roxb.). THESIS ADVISOR : ASST. PROF. YUVADEE MANAKASEM, Ph.D., 127 PP.

Butea superba Roxb./NAA/PHENOLOGICAL CYCLE/RAPD/ANTHOCYANIN

Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) is a protected plant. It has been shown to improve the physical strength, treat the skin, and maintain male hormones. Four experiments were conducted during the years 2004 to 2006. The first experiment was to study the effect of NAA and watering on podding and seed setting of Red Kwao Krua at Wang Numkeaw district, Nakhon Ratchasima province. The experiment was a 2^2 factorial in RCBD with 2 replications. There were statistically significant differences in the inflorescence length and number of pods per inflorescence. Watering gave the highest inflorescence length (36.35 cm) and the highest seed number per pod (1.15 seeds per pod). NAA at 100 ppm with watering gave the highest number of pods per inflorescence (5.10 pods per inflorescence). From the study on the anatomy of complete seeds, it was found that the embryo and cells were bigger than the incomplete seeds. The second experiment was to study the phenological cycle of Red Kwao Krua at Wang Numkeaw district, Nakhon Ratchasima province. Ten similar plants at the same growth stage were selected to collect data. There were 5 stages of growth and development of Red Kwao Krua, which were new stems and new leaves, old leaves, leaves falling, flowering, and podding. New stems and new leaves were flushed (100%) in early June. Leaves were 100% old leaves in late September. Falling leaves reached 100% in early November.

Flowers were 100% flushed in late February. Podding reached 100% in mid March. A change of 1 unit of maximum temperature and rainfall from 32.93°C and 0 mm/day caused a change in emergence of new stems and new leaves 9.98% and 12.52% respectively. A change of 1 unit of minimum temperature and relative humidity from 20.62°C and 89.87% caused a change in initiation proportion of leaf falling 22.40% and 5.49% respectively. A change of 1 unit of minimum and maximum temperature, and relative humidity from 19.02°C, 31.91°C and 79.13% caused a change in flowering of 8.94%, 10.36% and 3.83% respectively. A change in 1 unit of maximum temperature from 30.94°C caused a change in podding of 8.31%. The third experiment was to study the genetic distinctiveness of accessions of Red Kwao Krua collected from 6 provinces using the RAPD technique coupled with comparison of botanical characteristics. Forty RAPD primers were used and 888 loci were detected altogether, comprising of 813 polymorphic loci (91.55%) and 75 monomorphic loci (8.45%). These loci were analysed by the NTSYSpc v. 2.10X program and the genetic similarity coefficient was calculated by Jaccard. The variables on the dendrogram were clustered with the unweighted pair group method using arithmetic means (UPGMA). It was found that the Red Kwao Krua accessions were clearly classified into two groups (subgenera) at 32% relatedness. 1) Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) included 2 subgroups at 70% coefficient. Subgroup 1 was Red Kwao Krua from Nakhon Ratchasima and Kalasin provinces. Subgroup 2 was Red Kwao Krua from Nakhon Ratchasima and Sakon Nakhon provinces. 2) Tao Pan Say (*Spatholobus parviflorus* [DC.] Kuntze) included 3 subgroups at 84% coefficient from Chaiyaphum, Burriram and Mahasarakham provinces. All of the samples were genetically different, except C6 and C7. C6 and C7 were genetically identical. The

dendrogram of botanical characteristics also showed 2 groups at 19% relatedness and were related to the classification by DNA markers. Group 1 was Red Kwao Krua from Nakhon Ratchasima, Kalasin and Sakon Nakhon provinces. Group 2 was Tao Pan Say from Chaiyaphum, Burriram and Mahasarakham provinces. The forth experiment was to determine the amount of anthocyanin in the tuberous roots of Red Kwao Krua and Tao Pan Say. Anthocyanin was determined from the extracted solution of the tuberous roots of Red Kwao Krua and Tao Pan Say with two mobile phases (HCl:formic acid: H_2O, 25:24:51 and 7:51:42 v/v) using TLC with R_f 0.12 and 0.34. The extracted solution of tuberous roots of Red Kwao Krua and Tao Pan Say absorbed wavelength at 519 nm and their color changed from red to brown if the pH changed from 1 in to 14 which is a characteristic of anthocyanin. The pH differential technique was used to determine the amount of anthocyanin. The diameter and cortex of tuberous roots of Red Kwao Krua were correlated with the amount of anthocyanin, but the diameter and the number of the rings of Tao Pan Say were not correlated with the amount of anthocyanin. Tuberous roots of Red Kwao Krua had anthocyanin between 69-144 µg/g in fresh weight. Tao Pan Say had anthocyanin between 172-252 µg/g in fresh weight. NAA at 100 ppm with watering increased the number of pods per inflorescence. The climate had an influence on the growth and development of Red Kwao Krua. The RAPD technique could separate the clones of Red Kwao Krua, and the tuberous roots of Red Kwao Krua contained anthocyanin.

School of Crop Production Technology — Student's Signature K. Muangtip

Academic Year 2006 — Advisor's Signature Y. Manakasem

Co-advisor's Signature P. Sriyotha

Co-advisor's Signature Kobkul Laluang