

พฤกษศาสตร์ พันธุ์ การเจริญเติบโตและการพัฒนา การติดฝักและเมล็ด  
และแอนโทไซยานินของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.)

นางสาวเกษร เมืองทิพย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี  
ปีการศึกษา 2549

**BOTANY, VARIETY, GROWTH AND DEVELOPMENT,  
PODDING, SEED SETTING AND ANTHOCYANIN IN  
RED KWAO KRUA (*Butea superba* Roxb.)**

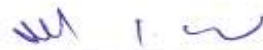
**Kesorn Mungtip**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for  
the Degree of Doctor of Philosophy of Science  
in Crop Production Technology  
Suranaree University of Technology**

พฤกษศาสตร์ พันธุ์ การเจริญเติบโตและการพัฒนา การติดฝักและเมล็ด  
และแอนโทไซยานินของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.)

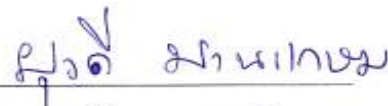
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ออนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาคุณวุฒิปบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



(อ. ดร. โสภณ วงศ์แก้ว)

ประธานกรรมการ



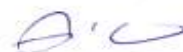
(ผศ. ดร. ยวดี มานะเกษม)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)



(รศ. ดร. พูนสุข ศรีโยธา)

กรรมการ



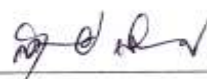
(ดร. สุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล)

กรรมการ



(รศ. ดร. เสาวณีย์ รัตนพานิช)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ



(ผศ. ดร. สุเวทย์ นิงสานนท์)

คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

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.) เป็นพืชสมุนไพรที่ขึ้นทะเบียนเป็นพืชสงวนรักษาอาการปวดเมื่อยตามร่างกาย 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 ร่วมกับการให้น้ำ และพบว่าเมล็ดที่สมบูรณ์ของกวาวเครือแดงมี embryo ขนาดใหญ่ ปลายยอด ปลายรากใหญ่ และกลุ่มเซลล์เต่งกว่าเมล็ดไม่สมบูรณ์ 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  $32.93^{\circ}\text{ซ}$  และ 0 มม./วัน ทำให้เปอร์เซ็นต์การแตกเครือเถาและใบอ่อนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 9.98% และ 12.52% ตามลำดับ อุณหภูมิต่ำสุด และความชื้นสัมพัทธ์ลดลง หรือเพิ่มขึ้น 1 หน่วย จาก  $20.62^{\circ}\text{ซ}$  และ 89.87% ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบเพิ่มขึ้นหรือลดลง 22.40% และ 5.49% ตามลำดับ อุณหภูมิต่ำสุดลดลง หรือเพิ่มขึ้น 1 หน่วย จาก  $19.02^{\circ}\text{ซ}$  ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.94% อุณหภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 หน่วย จาก  $31.91^{\circ}\text{ซ}$  และ 79.13% ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 10.36% และ 3.83% ตามลำดับ อุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง  $1^{\circ}\text{ซ}$  จาก  $30.94^{\circ}\text{ซ}$  ทำให้เปอร์เซ็นต์การติดฝักเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.31% การทดลองที่ 3 การจำแนกสายพันธุ์

กวาวเครือแดงโดยเทคนิค RAPD ควบคุมกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์จากกวาวเครือแดง 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 กลุ่มใหญ่ อย่างชัดเจน 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 เป็นกลุ่มตัวอย่างของเถาพันช้าย (*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 เถาพันช้าย ประกอบด้วยตัวอย่างจาก จ.ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และมหาสารคาม การทดลองที่ 4 การตรวจหาปริมาณแอนโทไซยานินในรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง และรากเถาพันช้ายที่เป็นตัวอย่างเดียวกันกับการจำแนกสายพันธุ์โดยเทคนิค RAPD มาสกัดและแยกองค์ประกอบบนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบผิวบางเคลือบด้วยเซลลูโลส และใช้เฟสเคลื่อนที่ 2 ชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริก:กรดฟอร์มิก: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 พบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex) ของรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง มีสหสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานิน แต่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง และจำนวนวงที่เป็นสีแดงของเถาพันช้ายไม่มีสหสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานิน กวาวเครือแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 69-144 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และเถาพันช้ายมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 172-252 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด จากการศึกษาทั้งหมดสรุปได้ว่า การฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำทำให้การติดฝักต่อช่อดอกในกวาวเครือแดงเพิ่มมากขึ้น สภาพภูมิอากาศมีอิทธิพลต่อการ

เจริญและการพัฒนาของกวางเครือแดง เทคนิค RAPD สามารถจำแนกสายต้นกวางเครือแดงได้  
และในรากสะสมอาหารของกวางเครือแดงมีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช  
ปีการศึกษา 2549

ลายมือชื่อนักศึกษา เกษร เมืองทิพย์  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ปวงค์ วัฒนาเกษม  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม สมยศ ธรรม  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อ.ค

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<sup>2</sup> 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, Buriram 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, Buriram 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<sub>2</sub>O, 25:24:51 and 7:51:42 v/v) using TLC with R<sub>f</sub> 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

Academic Year 2006

Student's Signature K. Muangtip

Advisor's Signature Y. Manakasem

Co-advisor's Signature P. Srijotha

Co-advisor's Signature Kulnith Salayal

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบุคคลต่างๆ ที่ได้ช่วยเหลือและสนับสนุนให้การดำเนินการวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ผศ. ดร.ยูวดี มานะเกษม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. ดร.พูนสุข ศรีโยธา และ ดร.ศุภรัตน์ สงวนรังศิริกุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้โอกาสและให้คำปรึกษาในด้านวิชาการ และการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

อาจารย์ในสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชทุกท่านที่ช่วยให้คำปรึกษาทางด้านวิชาการ คุณนวลปรางค์ อุทัยดา และ คุณสมยง พิมพ์พรหม เจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เครื่องมือที่ช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณนักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ที่ให้การช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ในการปฏิบัติงานและเป็นกำลังใจ ขอขอบคุณเป็นพิเศษ คุณสุพินญา บุญมานพ คุณบุญธรรม คิคคำ คุณพรทิพย์ จันทร์ราช คุณจารุจินันท์ หล้ากวันวัน คุณวิโรจน์ เชาววิเศษ คุณจุฬาลักษณ์ ทวีบุตร คุณพรพรรณ อุสุวรรณ คุณชัยวิช จารุทรศน์ ที่ช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา ขอขอบคุณ คุณพัฒนา สมนิยาม นักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยาสิ่งแวดล้อม

สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมาที่เอื้อเพื่อข้อมูลและคำแนะนำเกี่ยวกับสภาพภูมิอากาศ

สถานีทดลองเกษตรชลประทานที่ 3 (ห้วยบ้านยาง) อ.เมือง จ.นครราชสีมาที่เอื้อเพื่อข้อมูลและคำแนะนำเกี่ยวกับสภาพภูมิอากาศ

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณครอบครัวเมืองทิพย์ที่ให้โอกาสในการศึกษาต่อพร้อมทั้งช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีที่ทำให้ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการศึกษาและการดำเนินชีวิตตลอดมา

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	ข
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ

## บทที่

### 1 บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้.....	3
รายการอ้างอิง.....	4

### 2 ปรัชญาวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....6

### 3 อิทธิพลของ NAA และการให้น้ำต่อการติดฝักและเมล็ดของกวาวเครือแดง

#### *(Butea superba Roxb.)*

บทคัดย่อ.....	30
บทนำ.....	31
วิธีดำเนินการวิจัย.....	31
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	33
สรุปผลการวิจัย.....	39
รายการอ้างอิง.....	40

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
<b>4 การเจริญและการพัฒนาของกวางเครือแดง (<i>Butea superba</i> Roxb.) ในรอบปี (Phenological cycle)</b>	
บทคัดย่อ.....	42
บทนำ.....	43
วิธีดำเนินการวิจัย.....	43
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	44
สรุปผลการวิจัย.....	53
รายการอ้างอิง.....	54
<b>5 การจำแนกสายพันธุ์กวางเครือแดง (<i>Butea superba</i> Roxb.) โดยเทคนิค RAPD</b>	
บทคัดย่อ.....	56
บทนำ.....	57
วิธีดำเนินการวิจัย.....	59
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	62
สรุปผลการวิจัย.....	82
รายการอ้างอิง.....	83
<b>6 ปริมาณแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ในรากสะสมอาหารกวางเครือแดง (<i>Butea superba</i> Roxb.)</b>	
บทคัดย่อ.....	85
บทนำ.....	86
วิธีดำเนินการวิจัย.....	87
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	92
สรุปผลการวิจัย.....	102
รายการอ้างอิง.....	103
<b>7 บทสรุปและข้อเสนอแนะ</b> .....	105
ภาคผนวก.....	108
ประวัติผู้เขียน.....	127

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	โครงสร้างของแอนโทไซยานินดิน.....19
2.2	การเปลี่ยนแปลงสีของกะหล่ำปลีสีแดง (red cabbage) .....20
3.1	แสดงการจัดพหุคูณทดลองแบบ $2^2$ Factorial in RCBD.....32
4.1	ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของกวางเครือแดงต่ออุณหภูมิสูงสุด – ต่ำสุด (องศาเซลเซียส) ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร) และความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์) .....50
5.1	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวางเครือแดงกลุ่มที่ 1.1.....63
5.2	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวางเครือแดงกลุ่มที่ 1.2.....64
5.3	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวางเครือแดงกลุ่มที่ 1.3.....65
5.4	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวางเครือแดงกลุ่มที่ 1.4.....66
5.5	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวางเครือแดงกลุ่มที่ 1.5.....67
5.6	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเถาพันช้าย กลุ่มที่ 2.1.....69
5.7	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเถาพันช้าย กลุ่มที่ 2.2.....70
5.8	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเถาพันช้าย กลุ่มที่ 2.3.....71
5.9	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวางเครือแดง และเถาพันช้ายจำนวน 10 ลักษณะ.....74
6.1	ลักษณะรากสะสมอาหารกวางเครือแดง และปริมาณแอนโทไซยานิน.....93
6.2	ลักษณะรากเถาพันช้าย และปริมาณแอนโทไซยานิน.....95
6.3	แสดงสหสัมพันธ์ เส้นผ่าศูนย์กลาง จำนวนวงปี และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex) ของรากสะสมอาหารกวางเครือแดง จากจังหวัดนครราชสีมา กาฬสินธุ์ และ สกลนคร.....97
6.4	แสดงสหสัมพันธ์ เส้นผ่าศูนย์กลาง และจำนวนวงที่เป็นสีแดงของเถาพันช้าย จาก จังหวัดชัยภูมิ บุรีรัมย์ และมหาสารคาม.....97
<b>ตารางภาคผนวกที่</b>	
1	ผลของ NAA และน้ำ ต่อความยาวช่อดอก และจำนวนฝักต่อช่อดอกกวางเครือแดง.....109
2	ผลของ NAA และน้ำ ต่อจำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ดกวางเครือแดง.....109
3	ผลของ NAA และน้ำ ต่อความยาวช่อดอก และจำนวนฝักต่อช่อดอกกวางเครือแดง.....110

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
4 ผลของ NAA และน้ำ ต่อดำเนินการเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักเมล็ด 100เมล็ดถั่วเขียวแดง.....	110
5 ไพโรเมอร์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR.....	111
6 ค่าวิเคราะห์ดินในบริเวณที่พบถั่วเขียวแดงในพื้นที่ต่างๆ.....	112

## สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 การเจริญและพัฒนาของกวางเครือขาวในรอบปี.....	10
2.2 การดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินที่ pH 1 และ 4.5.....	20
3.1 ความยาวช่อดอก .....	35
3.2 จำนวนฝักต่อช่อดอก.....	35
3.3 จำนวนเมล็ดต่อฝัก.....	36
3.4 น้ำหนัก 100 เมล็ด.....	36
3.5 โครงสร้างของเมล็ดสมบูรณ์.....	37
3.6 โครงสร้างของเมล็ดสมบูรณ์.....	37
3.7 โครงสร้างของเมล็ดไม่สมบูรณ์.....	38
3.8 โครงสร้างของเมล็ดไม่สมบูรณ์.....	38
4.1 การเจริญเติบโตในรอบปีของกวางเครือแดง.....	39
4.2 อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน.....	49
4.3 จำนวนชั่วโมงแสงแดดต่อวันโดยเฉลี่ยในเดือน พ.ย. 2547-ก.พ. 2548.....	50
4.4 ต้นกวางเครือแดงที่เจริญเติบโตตามธรรมชาติ.....	51
4.5 ระยะแตกเครือเถา ใบอ่อนของกวางเครือแดง และระยะผลัดใบ.....	51
4.6 ระยะใบแก่กวางเครือแดง.....	51
4.7 ระยะออกดอกของกวางเครือแดง.....	52
4.8 ระยะออกติดฝักของกวางเครือแดง.....	52
5.1 การจัดสายต้นของกวางเครือแดงโดยลักษณะ DNA ที่แตกต่างกันจำนวน 888 ตำแหน่ง แสดงการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกวางเครือแดง และเถาพันช้าย ที่จำแนกด้วยความแตกต่างของ DNA fragment ซึ่งวิเคราะห์ ด้วยวิธีRAPD.....	73
5.2 การจัดกลุ่มสายต้นกวางเครือแดง และเถาพันช้าย โดยใช้ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 10 ลักษณะ.....	81
6.1 สูตรโครงสร้างของแอนโทไซยานิน.....	86
6.2 การสกัดสารแอนโทไซยานินในรากสะสมอาหารกวางเครือแดง.....	89

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
6.3	ค่า $R_f$ ของสารสกัดแอนโทไซยานินบนแผ่นโครมาโทกราฟี (กรดไฮโดรคลอริก กรดฟอร์มิก และน้ำ ในสัดส่วน 7: 51: 42) .....98
6.4	ค่า $R_f$ ของสารสกัดแอนโทไซยานินบนแผ่นโครมาโทกราฟี (กรดไฮโดรคลอริก กรดฟอร์มิก และน้ำ ในสัดส่วน 25:24:51) .....98
6.5	สเปกตรัมของสารสกัดแอนโทไซยานินที่ 519 nm.....99
6.6	สเปกตรัมแอนโทไซยานินมาตรฐาน.....99
6.7	การเปลี่ยนสีของสารสกัดแอนโทไซยานินที่ pH 1-14.....100
6.8	สเปกตรัมของสารสกัดแอนโทไซยานินที่ pH 1.0 และ 4.5.....100
<b>ภาพภาคผนวกที่</b>	
1	ความเหมือนของแบบแผนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยพีซีอาร์.....113
2	ความเหมือนของแบบแผนลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....115
3	แสดงความแตกต่างของแบบแผนดีเอ็นเอของกวาวเครือแดงที่ได้จากการทำ RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ A01.....117
4	แสดงความแตกต่างของแบบแผนดีเอ็นเอของกวาวเครือแดงที่ได้จากการทำ RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ A01.....118
5	แสดงความแตกต่างของแบบแผนดีเอ็นเอของเถาพันช้ายที่ได้จากการทำ RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ P2589.....119
6	แสดงความแตกต่างของแบบแผนดีเอ็นเอของกวาวเครือแดงและเถาพันช้ายที่ได้จากการทำ RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ S16.....120
7	แสดงความแตกต่างของแบบแผนดีเอ็นเอของกวาวเครือแดงและเถาพันช้ายที่ได้จากการทำ RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ A01.....121
8	การ spot สารสกัดกวาวเครือแดงเป็นแถบ.....122
9	สารสกัดกวาวเครือแดงที่ขูดจากแผ่น TLC.....122
10	รากสะสมอาหารกวาวเครือแดง.....123
11	เมล็ดกวาวเครือแดง.....123
12	รากสะสมอาหารกวาวเครือแดง.....124



## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพภาคผนวกที่	หน้า
13 การเจริญเติบโตของเถาพันธุ์ในธรรมชาติ .....	124
14 รากเถาพันธุ์.....	125
15 ฝักเถาพันธุ์.....	125
16 เมล็ดเถาพันธุ์.....	126

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านไทยชนิดหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจจากประชาชนเป็นอย่างมาก ในปี พ.ศ. 2542 ได้มีการประกาศให้ กาวเครือแดง และ กาวเครือขาวเป็นพืชสงวน (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ,2542 ) เพื่อเป็นการป้องกันการสูญพันธุ์ และป้องกันการส่งออกไปขายยังต่างประเทศ เช่น ประเทศเยอรมัน ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา

กาวเครือแดงเป็นหนึ่งในสี่ประเภทของกาวเครือ ซึ่งได้แก่ กาวเครือขาว กาวเครือ แดง กาวเครือดำ และกาวเครือมอ (อนุสารสุนทร, 2472) มีสรรพคุณในการรักษาอาการ อ่อนเพลีย ผอมแห้งแรงน้อย กินไม่ได้นอนไม่หลับ (เพ็ญญา ทรัพย์เจริญ, 2541) นอกจากนี้ยัง พบว่ากาวเครือแดงใช้เป็นสมุนไพรบำรุงเส้นผมให้ดกดำ, บำรุงสายตา, บำรุงผิวพรรณให้เต่งตึง, บำรุงฮอร์โมนเพศชาย และบำรุงกำลัง ธนาธิป รักศิลป์ (2537) พบว่ารากสะสมอาหารกาวเครือ แดงมีสาร steroid, steroid glycoside, flavonoid, flavonoid glycoside และ amino acid กาวเครือแดงเมื่อได้รับบาดเจ็บหรือหั่นบริเวณราก จะมียางสีแดงไหลออกมา ลักษณะยางสีแดง เป็นคุณสมบัติชนิดหนึ่งของแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งแอนโทไซยานิน จัดเป็นสารชนิด หนึ่งในกลุ่ม flavonoid (วันดี กฤษณพันธ์, 2536)

anthocyanins จะทำให้เกิดสารสีแดง และสีน้ำเงิน จัดเป็นสาร antioxidant ที่มีคุณสมบัติ เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยทั่วไปแล้วมีหน้าที่ในการลดการอุดตันของหลอดเลือดหัวใจ (Bridle and Timberlake, 1996) ช่วยทำให้การมองเห็นดีขึ้น (Timberlake and Henry, 1988) ป้องกัน การเกิดโรคมะเร็ง (Karaivanova *et al.*, 1990) ป้องกันโรคข้ออักเสบ การเสื่อมสภาพของเซลล์ และความชรา ฯลฯ การเกิดโรคเหล่านี้มีสาเหตุมาจากการเพิ่มของอนุมูลอิสระ การเพิ่มของปฏิกิริยา ออกซิเดชัน และการลดลงของสารต่อต้านอนุมูลอิสระหรือแอนติออกซิแดนท์ (National Center for Genetic Engineering and Biotechnology at Kasetsart University, 2546)

ส่วนการออกดอกและการติดฝักในกาวเครือแดง ซึ่งเป็นพืชที่อยู่ในตระกูลเดียวกันกับ กาวเครือขาวมีปัญหาเดียวกันคือการติดฝักและเมล็ดน้อยจากการศึกษาการติดฝักในกาวเครือขาว ของ ประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่ากาวเครือขาวติดฝักน้อยมาก และยุทธนา สมิตะสิริ และ ชรินทร์ วัจใจ (2529) รายงานว่าปัญหาในการติดฝักของกาวเครือขาวคือการหลุดร่วงของดอกเป็น

จำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในกวาวเครือแดงพบว่าติดฝักน้อย และแต่ละฝักของ กวาวเครือแดงมีเมล็ดสมบูรณ์เพียงหนึ่งเมล็ด (อรดี สหวัชรินทร์, 2541 และ สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคล กุล, 2545) การติดฝักและเมล็ดน้อยมีผลต่อการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด

การขยายพันธุ์ตามธรรมชาติของกวาวเครือแดง เป็นการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ยังไม่มีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม แต่พบว่ามี ความแตกต่างในลักษณะของใบ และก้านใบ

จากปัญหาการติดฝักและเมล็ดน้อย และความต้องการรากสะสมอาหารกวาวเครือแดงเพื่อใช้เป็นยาสมุนไพร จึงได้ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การติดฝักและเมล็ด การเจริญและการพัฒนาที่เกิดขึ้นในรอบปี การจำแนกสายต้น (clone) และวิเคราะห์หาปริมาณของสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ของกวาวเครือแดง เพื่อเป็นข้อมูลการผลิตรากสะสมอาหารกวาวเครือแดงให้มีประสิทธิภาพ และนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพต่อไป

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาอิทธิพลของ NAA และการให้น้ำต่อการติดฝัก และเมล็ดของกวาวเครือแดง
2. เพื่อศึกษาการเจริญและการพัฒนาที่เกิดขึ้นในรอบปี (phenological cycle) และความสัมพันธ์กับสภาพแวดล้อมของกวาวเครือแดง
3. เพื่อศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดงพร้อมการคัดแยกสายพันธุ์โดยเทคนิค random amplified polymorphic DNA (RAPD)
4. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ anthocyanin ในรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง

### ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาอิทธิพลของ NAA และการให้น้ำต่อการติดฝัก และเมล็ด ศึกษาการเจริญและการพัฒนาที่เกิดขึ้นในรอบปี ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดงในธรรมชาติ การคัดแยกสายพันธุ์กวาวเครือแดงโดยใช้เทคนิค RAPD และวิเคราะห์ปริมาณสาร anthocyanin ในกวาวเครือแดง

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

### 1. ด้านพื้นฐาน

- 1.1 ได้ทราบถึงอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิด ต่อการติดฝัก และเมล็ด และลักษณะทางกายวิภาคของเมล็ด
- 1.2 ได้ข้อมูลการเจริญเติบโตและการพัฒนาที่เกิดขึ้นในรอบปี (phenological cycle) และความสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมของกวางเครือแดงที่เจริญเติบโตตามธรรมชาติ
- 1.3 ได้ข้อมูลการคัดแยกสายพันธุ์ของกวางเครือแดงที่เจริญเติบโตในธรรมชาติ
- 1.4 ได้ข้อมูลแอนโทไซยานินในแต่ละสายพันธุ์ของกวางเครือแดง

### 2. ด้านประยุกต์

- 2.1 เป็นแนวทางในการผลิตเมล็ดพันธุ์กวางเครือแดงเพื่อใช้ประโยชน์ในการขยายพันธุ์
- 2.2 เป็นแนวทางในการเลือกสายพันธุ์กวางเครือแดงที่ให้ได้สารแอนโทไซยานินสูง

## หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้

1. หน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้องกับการผลิตพืชสมุนไพร
2. เกษตรกรผู้สนใจการปลูกพืชสมุนไพร
3. สถาบันการศึกษาที่ทำการศึกษาค้นคว้าวิจัยด้านสมุนไพร
4. บริษัทเอกชนที่ให้ความสนใจด้านสมุนไพร
5. ประชาชนผู้สนใจทั่วไป

## รายการอ้างอิง

- จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. (2542). จุฬาฯ ผลักดันให้กวาวเครือขาว และกวาวเครือแดงเป็นพืชสงวน [ออนไลน์]. ได้จาก <http://www.chula.ac.th/curel/1999/apr-16-1999/cusoc.html>
- ธนาธิป รักศิลป์. (2537). องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ประสาร ฉลาดคิด. (2546). อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การ ออกดอก การติดฝักและเมล็ด และการสะสมสาร Daidzein และ Genistein ในหัวกวาวเครือ ขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช. มหาวิทยาลัย เทคโนโลยีสุรนารี.
- เพ็ญภา ทรัพย์เจริญ. (2541). การใช้กวาวเครือในแพทย์แผนไทยและแผนพื้นบ้าน. เอกสาร ประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ. กรุงเทพฯ. สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ หน้า 1-8 อนุสารสุนทร หลวง. (2472). “กวาวเครือ” สมุนไพร ครอบจักรวาล. วารสารเคหการเกษตร. 23(3): 127-135.
- ยุทธนา สมิตะสิริ และวัชรินทร์ วัจใจ. (2529). ชีวิตวิทยาบางประการของกวาวเครือขาว: ดอก ฝัก และเมล็ด. ในเอกสารการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีครั้งที่ 12. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่พบในพื้นที่แตกต่างกันสองพื้นที่ ต่อ ภาวะสืบพันธุ์ พฤติกรรมการสืบพันธุ์ และการ แข็งตัวของอวัยวะเพศในหนูขาวเพศผู้ (*Rattus norvegicus*) วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- อรดี สหวัชรินทร์. (2541). แนวทางการคัดเลือกพันธุ์ ขยายพันธุ์ และการปลูกกวาวเครือ เอกสาร ประกอบการประชุมสัมมนากวาวเครือ ณ สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 44 หน้า.
- Bridle, P. and Timberlake, C.F. (1996). Anthocyanins as natural food colors selected aspects. Food chem. 58: 103-109.
- Kamei, H., Kojima, T., Hasegawa, M., Koide T., Umeda, T., Yukawa, T., and Terabe, K. (1995). Suppression of tumor cell growth by anthocyanins in vitro. *Cancer Invest.* 13: 590-594.

Karaivanova, M., Drenska, D. and Ovcharov, R. (1990). A modification of the toxic effects of platinum complexes with anthocyanins. *Eksp. Med Morfol.* 29: 19-24.

Markarkis, P. (1982). Stability of anthocyanins in food In P. Markarkis(ed.), *Anthocyanina as Food Colors*, pp 163-178. NewYork: Academic Press.

National Center for Genetic Engineering and Biotechnology at Kasetsart University. 2546 [On-line].

Available: [http://dna.kps.ku.ac.th/rice\\_files/news/Black%20Rice%20Shampoo.htm](http://dna.kps.ku.ac.th/rice_files/news/Black%20Rice%20Shampoo.htm).

Timberlake, C.F. and Henry, B.S., (1988). Anthocyanins as natural food colorants. *Prog. Clin. Biol. Res.* 280: 107-121.

## บทที่ 2

### ปรีทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กวางเครือแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Butea superba* Roxb. อยู่ในวงศ์ Leguminosae อนุวงศ์ Papilionadeae

ชื่อท้องถิ่นของกวางเครือแดงได้แก่ กวางเครือ (พายัพ) จานเครือ (อีสาน) ตานจอมทอง (ชุมพร) โพ้ตะกู หรือโพตะกู (กะเหรี่ยง กาญจนบุรี) โป่มือ (กะเหรี่ยง แม่ฮ่องสอน) (เต็ม สมิตินันท์, 2523; ชาวลิต นิยมธรรม, 2538 และวุฒิ วุฒิชัยธรรมเวช, 2540)

ลำต้น กวางเครือแดงเป็นไม้เถาขึ้นต้น ขนาดใหญ่ ในธรรมชาติลำต้นจะเลื้อยพันตามต้นไม้ อื่น เนื้อไม้แข็ง และผลัดใบ ในสภาพกลางแจ้งลำต้นค่อนข้างตรง และเป็นพุ่มแทนการเลื้อยพัน (ชาวลิต นิยมธรรม, 2538 และวุฒิ วุฒิชัยธรรมเวช, 2540)

ราก เป็นรากสะสมอาหาร (tuberous roots) ที่แตกหัวออกจากบริเวณโคนต้น แต่ละหัวมีลักษณะเรียวยาวคล้ายหัวมันสำปะหลัง หนึ่งหัวอาจจะยาวถึงห้าฟุต เมื่อเกิดบาดแผลจะมียางสีแดง ซึมออกมาคล้ายเลือด (ชาวลิต นิยมธรรม, 2538; โสภณ เรืองสำราญ และคณะ, 2543 และสิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล, 2545)

ใบ เป็นใบประกอบแบบฝ่ามือ ชนิดมีใบย่อยสามใบ ใบกลางมีปลายใบโค้งมน โคนใบเรียว ผิวด้านบนเรียบ ด้านล่างมีขนอ่อนสั้น ๆ ใบย่อยมีลักษณะเป็นรูปไข่ มีเส้นใบข้างละห้าถึงเจ็ดเส้น ใบแข็งและหนา มีหลายขนาดตั้งแต่ขนาดเล็กถึงขนาดใหญ่ ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของดิน และสภาพป่า (สมบุญ เศษะภิญญาวัฒน์, 2537 และชาวลิต นิยมธรรม, 2538)

ดอก เป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) มีช่อดอกเป็นแบบอินดิเทอร์มินาท (indeterminate inflorescence) ชนิดราซิม (raceme) เกิดจากตาโคนใบที่ร่วงแล้ว ก้านดอกย่อยมีขนหนา ดอกที่อยู่ล่างสุดจะบาน และแก่ก่อนดอกที่อยู่เหนือขึ้นไป ก้านดอกย่อย (pedicel) ยาวใกล้เคียงกัน ดอกมีลักษณะคล้ายดอกแค มีสีส้ม มีเกสรตัวผู้ (stamen) สิบอัน มีก้านเชื่อมติดกัน มีรังไข่ (ovary) เป็นชนิด superior ซึ่งจะวางอยู่เหนือฐานรองดอก (receptacle) ภายในรังไข่มีห้อง (locule) มีไข่ (egg) ตั้งแต่หนึ่งอันขึ้นไป ดอกของกวางเครือแดงจะออกตามซอกกิ่งในระยะผลัดใบ (สมบุญ เศษะภิญญาวัฒน์, 2537; ชาวลิต นิยมธรรม, 2538; วุฒิ วุฒิชัยธรรมเวช, 2540 และสิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล, 2545)

ฝัก ฝักแบนรูปขอบขนานมีขนปกคลุม ฝักอ่อนมีสีเขียวเมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ฝักยาวประมาณ 10-15 ซม. แต่ละฝักมีเมล็ดสมบูรณ์หนึ่งเมล็ด (อรดี สหวัชรินทร์, 2541 และสิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล, 2545)

### การเจริญเติบโตและการพัฒนาของฝักและเมล็ด

ปัจจัยสำคัญในการติดฝักขึ้นอยู่กับความสามารถในการงอกของละอองเกสรตัวผู้และ ความสามารถในการปฏิสนธิภายในรังไข่ ความสามารถในการงอกของละอองเกสรตัวผู้ขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ ความเข้ากันได้ระหว่างเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย สัดส่วนเพศ ดอก ธาตุอาหารพืช อาหารสะสมภายในต้นพืช ถ้าต้นพืชมีอาหารสมบูรณ์โอกาสที่จะติดผลย่อมมี มาก แม้จะไม่มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตก็ตาม การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกับต้น พืชที่มีความสมบูรณ์สูงก็จะมีโอกาสประสบความสำเร็จมากกว่าการใช้กับพืชต้นที่ไม่สมบูรณ์ (พีร เดช ทองอำไพ, 2537) Loss (1997) พบว่า การขาดน้ำในช่วงสืบพันธุ์ของถั่วแห้ง (dry beans) ทำให้ จำนวนดอก จำนวนฝัก และจำนวนเมล็ดต่อฝักลดลง Kato (1964); Westgate and Peterson (1993) พบว่าการขาดน้ำ ในช่วงการออกดอกที่ทำให้อัตราการเหี่ยวของดอกพืชเพิ่มมากขึ้น

### การฝ่อและการหลุดร่วงของดอก ฝัก เมล็ด (reproductive abortion)

สาเหตุของการฝ่อและการหลุดร่วงของดอก ฝัก และเมล็ด

1. การขาดแคลนอาหารเลี้ยงดอกและผล การขาดแคลนอาหาร อาจเกิดจากการแข่งขันกัน ภายในต้นพืช อาจเป็นระหว่างดอก ผล และเมล็ดด้วยกันเอง หรือแข่งขันกับใบอ่อน รากอ่อน และ กิ่งอ่อน หรืออาจเกิดจากสภาพแวดล้อม เช่น การขาดน้ำ และแร่ธาตุอาหาร ช่วงใดก็ตามที่มีความเครียด จากสาเหตุประการใดประการหนึ่งเกิดขึ้นการหลุดร่วงหรือการฝ่อก็จะเกิดขึ้นด้วย (วันชัย จันทรประเสริฐ, 2537) Ober *et al.*, (1991); Westgate *et al.*, (1996) กล่าวว่าในสภาพแห้งแล้ง พืชจะสังเคราะห์ abscisic acid (ABA) มากขึ้น ทำให้มีการติดฝักและเมล็ดน้อยลง Mwanamwenge *et al.*, (1999); Wein *et al.*, (1973) กล่าวว่าในสภาวะแห้งแล้งทำให้พืชบางสายพันธุ์ มีจำนวนดอกลดลงถึง 47% และดอกอาจฝ่อถึง 21-65% นอกจากนี้พบว่า ถั่วเหลืองขาดน้ำใน ระยะกำลังสร้างฝัก และการสะสมน้ำหนักแห้ง จะทำให้เมล็ดเล็กลง อภิพรธม พุกภักดี และคณะ (2533) และ จวงจันทร ควงพัตรา (2529) ได้ให้ความเห็นสอดคล้องกันว่า ในระหว่างการติดเมล็ด และการเจริญเติบโตของคัพภะ และรังไข่ ความชื้น และอุณหภูมิในดินเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุด หาก มีการผสมเกสรและการปฏิสนธิเกิดขึ้นแล้วพืชขาดน้ำหรืออุณหภูมิอยู่ในระดับสูงหรือต่ำเกินไป เมล็ดจะไม่มีพัฒนา และไม่ติดเมล็ด



2. สอร์โมน ผลที่ร่วงส่วนใหญ่จะเป็นผลที่ไม่เกิดการผสมเกสร เนื่องจากผลเหล่านี้ขาด สอร์โมนที่สร้างขึ้นในเมล็ด การหลุดร่วงของอวัยวะไม่ว่าจะเป็น ใบ ดอก ผล เกิดขึ้นเนื่องจาก เอทิลีน (ethylene) และ ABA (abscisic acid) ที่สร้างขึ้นในผลได้ตามปกติ แต่ไม่สามารถแสดง บทบาทได้อย่างเด่นชัด เนื่องจากถูกควบคุมโดยออกซิน ที่มีหน้าที่ยับยั้งการเกิดรอยแยกของเนื้อเยื่อ บริเวณขั้วผล หรือกล่าวได้ว่าออกซินยับยั้งการทำงานของเอทิลีน (ethylene) และ ABA (นภดล จรัสสัมฤทธิ์, 2537) Medhi and Borbora. (2002). พบว่าการฉีดพ่นสารละลาย NAA ความเข้มข้น 10 และ 15 มก./ล. กับต้น french bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ทำให้การออกดอกและการติดฝัก เพิ่มขึ้น และยับยั้งการหลุดร่วงของฝักได้ Begum and Takeshi (2002) ศึกษาการใช้สาร figaron ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ประเภท NAA ต่อผลผลิตของถั่วเหลือง 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ *Fukushirome* และ *Miyagishirome* พบว่าการให้ figaron ความเข้มข้น  $100 \text{ mg l}^{-1}$  มีจำนวนเมล็ดต่อต้นมากที่สุด ในขณะที่ให้ figaron ความเข้มข้น  $200 \text{ mg l}^{-1}$  มีเมล็ดไม่เต็มฝักมากที่สุด และที่ความเข้มข้น  $100 \text{ mg l}^{-1}$  มีเมล็ดที่ไม่เต็มฝักน้อย และไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับ นภดล จรัสสัมฤทธิ์ (2537) พบว่าการใช้สารละลาย NAA ความเข้มข้น 100-200 ppm ฉีดพ่นช่อดอกมะม่วง น้ำดอกไม้ทะวายทำให้การติดผลเพิ่มสูงขึ้น ประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่า การพ่น daminozide ทำให้จำนวนฝักต่อช่อดอกสูงกว่าต้นกวาวเครือขาวที่ไม่ได้รับ daminozide ไปยับยั้ง auxin ที่ดอกสร้างขึ้นไม่ให้เคลื่อนที่ไปยังจุดอื่น จึงทำให้มีการสะสม auxin มากขึ้นที่บริเวณดอก การหลุดร่วงของ ดอกลดลง และมีการติดฝักของกวาวเครือขาวมากขึ้น เช่นเดียวกับพีรเดช ทองอำไพ (2537) พบว่าการใช้สาร TIBA (2,3,5-triiodobenzoic acid) สามารถช่วยในการติดฝักของถั่วเหลืองได้ สาร TIBA มีคุณสมบัติยับยั้งการเคลื่อนที่ของออกซินในต้นพืช การให้สารเหล่านี้กับพืชในระยะที่พืช กำลังออกดอก จะมีผลยับยั้งออกซินที่ดอกสร้างขึ้นไม่ให้เคลื่อนที่ไปยังจุดอื่น จึงเกิดการสะสมของ ออกซินภายในดอกมากขึ้นและติดผลได้ดีขึ้น

### ลักษณะพื้นที่และภูมิอากาศที่พบกวาวเครือแดง

สภาพพื้นที่ที่เป็นภูเขา มีความลาดชันไม่เกิน 20 องศา มีเนินเขาและที่ราบสลับกันกระจาย อยู่ทั่วไป อยู่เหนือระดับน้ำทะเลประมาณ 300-700 เมตร (อานันท์ กาญจนพันธุ์ และ มิ่งสรรพ์ ขาวสะอาด, 2538) ดินเป็นดินร่วนปนทราย อากาศหนาวเย็นในฤดูหนาว และร้อนจัดในฤดูร้อน อุณหภูมิเฉลี่ยต่อปีประมาณ 26 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยต่อปีประมาณ 955.2 มิลลิเมตร ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 88.16 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ลักษณะดังกล่าวจะพบกวาวเครือแดงอยู่ทั่วไป (สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช, 2542 อ้างโดย อธิพงษ์ มานะเสถียร, 2545) แหล่งที่พบกวาวเครือแดง เช่น จังหวัดกาฬสินธุ์ สกลนคร นครราชสีมา ชัยภูมิ ขอนแก่น ลำปาง และแพร่ เป็นต้น

## การเจริญเติบโตและการพัฒนาในรอบปี (phenological cycle) ของกวางเครือแดง

การเจริญเติบโตและพัฒนาของกวางเครือแดงในรอบปี ยังไม่มีการศึกษามาก่อน จากการศึกษาของ ประสาร ฉลาดคิด (2546) ที่ทำการศึกษาในกวางเครือขาว ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ และอนุวงศ์เดียวกันกับกวางเครือแดง ที่อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา พบว่ากวางเครือขาวมีการเจริญเติบโต และพัฒนาในรอบปี (phenology) ดังนี้

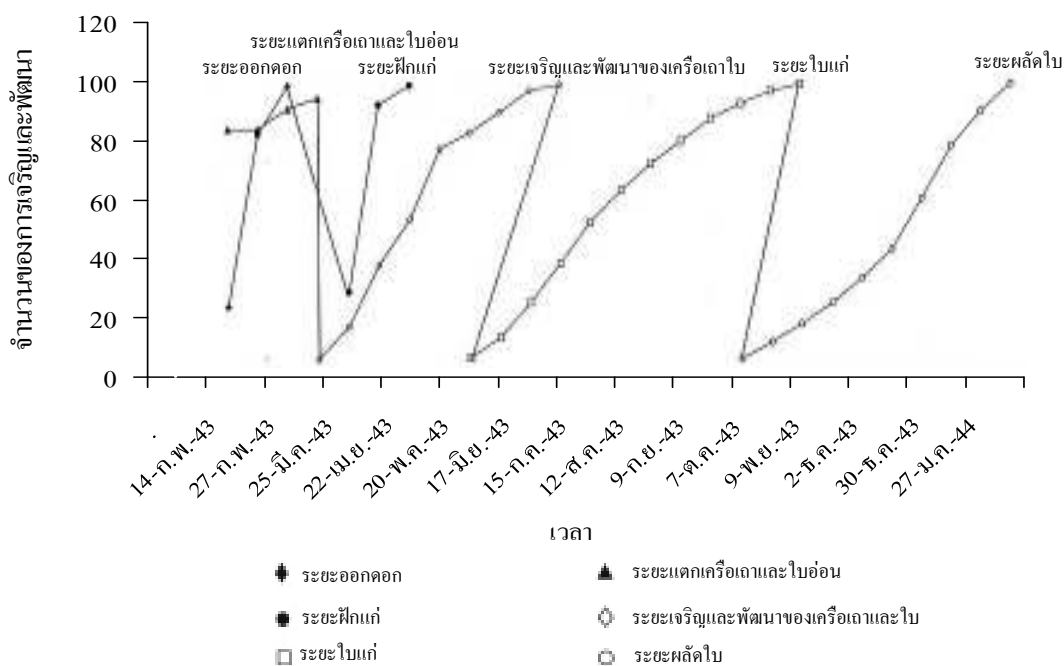
1. ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน ในเดือนกุมภาพันธ์ ถึงมีนาคม โดยที่เครือเถาใหม่เกิดจากเครือเถาเดิมในระยะที่กวางเครือขาวผลัดใบทั้งต้น เครือเถาจะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และเกิดใบอ่อนที่บริเวณข้อ โดยที่ใบอ่อนจะเพิ่มขึ้นถึง 90-100% ในเดือนเมษายน

2. ระยะการเจริญและพัฒนาของเครือเถาและใบ หลังจากเกิดใบอ่อนและมีการพัฒนาอย่างรวดเร็วในเดือนมีนาคม ถึงเมษายน และใบเจริญและพัฒนาเต็มที่ 100% ในเดือนกรกฎาคม

3. ระยะใบแก่ ใบกวางเครือขาวจะเริ่มแก่ในเดือนมิถุนายน และเพิ่มขึ้นจนถึง 100% ใบแก่ในเดือนพฤศจิกายน

4. ระยะผลัดใบ กวางเครือขาวเริ่มผลัดใบในเดือนตุลาคม จากนั้นเปอร์เซ็นต์การผลัดใบจะเพิ่มขึ้นถึง 50% ในเดือนธันวาคม หลังจากนั้นกวางเครือขาวจะผลัดใบอย่างรวดเร็ว และผลัดใบ 100% ในเดือนกุมภาพันธ์

5. การเจริญและพัฒนา การออกดอกและการติดฝักและเมล็ดของกวางเครือขาว จากการศึกษาของ ประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่า ต้นกวางเครือขาวที่สุ่มเลือกเป็นตัวอย่าง จำนวน 40 ต้น ไม่มีการออกดอก แต่จากการสำรวจต้นกวางเครือขาวที่ปลูกในบริเวณใกล้เคียงในพื้นที่ที่ทำการศึกษพบว่า มีต้นกวางเครือที่กำลังออกดอก จำนวน 3 ต้น เริ่มออกดอกในเดือนกุมภาพันธ์ ดอกเริ่มบานและติดฝักในเดือนมีนาคม หลังจากนั้นฝักจะเจริญและพัฒนาจนถึงระยะฝักแก่ในเดือนเมษายนรวมระยะตั้งแต่ออกดอกจนถึงฝักแก่ประมาณ 3 เดือน ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 การเจริญและพัฒนาของกวางเครือขาวในรอบปี

### การคัดแยกสายพันธุ์พืช

ในสมัยโบราณการจำแนกพืชยึดถือหลักเกณฑ์ง่าย ๆ และความเป็นประโยชน์เป็นหลักสำคัญ เริ่มตั้งแต่สมัยของ Aristotle ได้แบ่งพืชออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ไม้ล้มลุก ไม้พุ่ม และไม้ยืนต้น โดยอาศัยลักษณะโครงสร้างภายนอกและขนาดของพืช ต่อมา Theophrastus ได้จัดหมวดหมู่ของพืชตามประโยชน์ที่ได้รับจากพืช เช่น พืชที่นำมาใช้เป็นอาหาร ใช้ก่อสร้าง และเป็นยารักษาโรค ต่อมาถึงยุคของ John Ray ในปี ค.ศ. 1629-1750 ได้จัดจำแนกพืชเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และพืชใบเลี้ยงคู่ และเป็นคนแรกที่ใช้คำว่าสปีชีส์ (species) ซึ่งเป็นหน่วยพื้นฐานในการจัดหมวดหมู่ของสิ่งมีชีวิต เมื่อถึงสมัยของ Carolus Linnaeus ที่ถือว่าเป็นคนแรกที่ใช้ชื่อวิทยาศาสตร์ โดยนำชื่อสกุลหรือจิ้นัส (genus) และชื่อชนิดหรือสปีชีส์โดยพิจารณาโครงสร้างภายในเซลล์ องค์ประกอบระดับโมเลกุล และองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ รวมทั้งอแกเนลล์ต่างๆ ตลอดจนสารเคมีที่พืชสร้างขึ้น ซึ่งมีความสัมพันธ์กับทางด้านพันธุกรรมของพืชมาใช้เป็นหลักในการจำแนกพืช (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2537)

เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์ (2531) พบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่พืชแสดงออกมาในธรรมชาติและปรากฏให้เห็นความแตกต่างในสายพันธุ์ มีความแตกต่างกันในด้านชีวเคมี โดยพืชต่างสายพันธุ์กันไม่จำเป็นต้องมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันในทุกกรณี จึงมีการศึกษาการใช้ไอโซไซม์ (isozyme) ในการตรวจสอบสายพันธุ์พืชด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis)

ซึ่งสามารถชี้ให้เห็นถึงความแตกต่างของพันธุ์ หรือสายพันธุ์พืชในระดับสปีชีส์ได้ พรพันธ์ ภูพร้อมพันธุ์ (2538) รายงานว่าสามารถใช้การตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของเมล็ดพันธุ์ลูกผสมโดยใช้เอนไซม์และโปรตีนได้ แต่ในการตรวจสอบมีข้อจำกัดอยู่บ้างเนื่องจากเอนไซม์ และโปรตีนเป็นผลจากการแสดงกิจกรรมของยีน ดังนั้นสภาพแวดล้อมและสภาพในเนื้อเยื่อของพืชเองมีอิทธิพลต่อการแสดงออก ทำให้การตรวจสอบมีความแปรปรวนหรือมีข้อผิดพลาดอยู่บ้าง เช่นเดียวกับ มลิวรรณ นาคขุนทด (2543) พบว่าจะต้องอาศัยประสบการณ์อย่างมาก ต้องใช้เวลาาน สภาพแวดล้อมและระยะเวลาเจริญเติบโตมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะทางสัณฐานวิทยา และเอนไซม์ตลอดจนความใกล้ชิดทางพันธุกรรมซึ่งอาจก่อให้เกิดความผิดพลาดได้ง่าย ถ้าพันธุ์พืชที่ศึกษานั้นมีแหล่งพันธุกรรมใกล้ชิดกันมากหรือมีความแปรปรวนหรือมีความหลากหลายทางพันธุกรรมแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย จะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการศึกษาความสัมพันธ์ หรือการจำแนกพันธุ์ ปัจจุบันจึงนิยมใช้เทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้ในการจำแนกพันธุ์พืช (พรพันธ์ ภูพร้อมพันธุ์, 2538)

การจำแนกพันธุ์พืชโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) เป็นเทคโนโลยีสมัยใหม่ที่ใช้ตรวจสอบความแตกต่างของจีโนม (genome) ของสิ่งมีชีวิตได้อย่างรวดเร็วและครอบคลุมอย่างกว้างขวาง เป็นการเปรียบเทียบดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคต่างๆ ทางชีวโมเลกุล เนื่องจากดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตที่มีความจำเพาะสำหรับสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจึงเป็นลักษณะเฉพาะในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ซึ่งสามารถบอกลักษณะความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้เป็นอย่างดี และไม่เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2536)

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ หรือ DNA fingerprinting มีการนำมาใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1985 โดย Jeffreys *et al.*, (1985) เพื่อตรวจสอบเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมโดยใช้ดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิต ดีเอ็นเอเป็นส่วนประกอบหลักในโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) 4 ชนิด คือ dATP, dCTP, dGTP และ dTTP ซึ่งนิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 ชนิดนี้ จะมาต่อกันเป็นเส้นสายดีเอ็นเอ ซึ่งลายพิมพ์ดีเอ็นเอจะแตกต่างกันในสิ่งมีชีวิต ส่วน DNA fingerprinting คือลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแต่ละคนมีความแตกต่างกันจึงจะเห็นได้จากทางราชการทั้งในอดีต และปัจจุบันก็ยังมีการใช้ลายนิ้วมือเป็นตัวแบ่งลักษณะของแต่ละคน

การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอสามารถแบ่งออกได้ 2 วิธีใหญ่ ๆ คือ วิธีที่ต้องตรวจสอบโดยการทำให้ไฮบริดไลเซชัน (hybridization) และวิธีที่ใช้เทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ หรือพีซีอาร์ (polymerase chain reaction, PCR) ซึ่งทั้งสองวิธีนี้มีการประยุกต์เป็นแบบต่างๆ อีก จึงทำให้มีการเรียกชื่อใหม่ ๆ เป็นจำนวนมาก (ยุคลธร สถาปนศิริ, 2542) ดังนี้

1. เทคนิค polymerase chain reaction เป็นเทคนิคสำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยอาศัยหลักการ DNA replication ซึ่งเป็นการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอสายใหม่ จากดีเอ็นเอต้นแบบในหลอด

ทดลองภายในระยะเวลาอันสั้น และได้ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้นเป็นล้านเท่า จุดเด่นของเทคนิค PCR คือ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างเฉพาะเจาะจงโดยมีขั้นตอนการทำงานน้อยและใช้เวลาสั้น จนถึงปัจจุบันนี้เทคนิค PCR ได้รับการปรับปรุงและพัฒนาในหลายๆ ด้านจนกระทั่งได้รับการยอมรับว่าเป็นเทคโนโลยีที่สำคัญมากต่องานด้านอณูชีวโมเลกุล สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งกับงานวิจัยทางชีวโมเลกุลและพันธุวิศวกรรม เช่น การเพิ่มปริมาณยีน (gene cloning) การวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน (gene sequencing) การสร้างดีเอ็นเอติดตาม (DNA probe) และการวิจัยประยุกต์ เช่น การศึกษาการแสดงออกของยีนจาก mRNA การสร้างยีนกลายพันธุ์ (in vitro mutagenesis) การบ่งชี้ตำแหน่งกลายพันธุ์บนยีน (point mutations and deletions) เป็นต้น

### หลักการของ PCR

ใช้หลักการพื้นฐานในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่จากสายดีเอ็นเอ ที่เป็นต้นแบบหนึ่งสายด้วยเอนไซม์ DNA polymerase ปฏิกิริยา PCR มี 3 ขั้นตอน

ขั้นที่ 1 denaturing เป็นการแยกสายดีเอ็นเอ ที่เป็นต้นแบบจากสภาพที่เป็นเส้นคู่ ให้เป็นเส้นเดี่ยวโดยใช้อุณหภูมิสูง 92-95 องศาเซลเซียส

ขั้นที่ 2 annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงและจัดให้ไพรเมอร์ (primer) ซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายสั้น ๆ ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจับคู่กัน ซึ่งนิยมใช้อุณหภูมิในช่วง 40-60 องศาเซลเซียส

ขั้นที่ 3 extension เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่โดยสังเคราะห์ต่อจากส่วนปลาย 3' ของไพรเมอร์ ตามข้อมูลบนดีเอ็นเอ ที่เป็นต้นแบบแต่ละสายโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลิเมอร์เรส (DNA polymerase) ซึ่งเอนไซม์นี้สามารถทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 72-73 องศาเซลเซียส เอนไซม์ดีเอ็นเอโพลิเมอร์เรสที่ใช้ควรจะมีคุณสมบัติอยู่ได้ภายใต้สภาวะของปฏิกิริยา ตลอดทั้งสามขั้นตอน

### เทคนิคที่อาศัยหลักการของ PCR

1.1 เทคนิค random amplified polymorphic DNA (RAPD) หรือที่เรียกสั้น ๆ ว่า rapid ได้ถูกนำมาใช้ในการตรวจสอบดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตหลายชนิดไพรเมอร์ที่นิยมใช้เป็น oligonucleotide สายสั้นๆ มีความยาวประมาณ 10 base เป็นตัวเชื่อมจับกับดีเอ็นเอต้นแบบที่จะทำการศึกษาในปฏิกิริยา polymerase chain reaction (PCR) ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ได้หลังจากการทำปฏิกิริยาในสภาพที่เหมาะสมจะถูกนำมาทำอิเล็กโตรโฟรีซิส เพื่อตรวจสอบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ วิธีการนี้สามารถนำมาใช้จำแนกและศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืชได้อย่างสะดวก

รวดเร็ว รวมทั้งสามารถนำมาใช้เป็นเอกลักษณ์ (DNA fingerprint) ของพันธุ์พืชได้อีกด้วย (พรพันธ์ ภูพร้อมพันธุ์, 2538)

ตัวอย่างการใช้เทคนิค RAPD ในการตรวจสอบและจำแนกสายพันธุ์พืช มีดังนี้

การใช้เทคนิค RAPD ในการตรวจสอบพันธุ์ของเชื้อ *Fusarium oxysporum* ของดอกการ์เนชั่น โดย Manulis. *et al.*, (1993) จากการใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 30 ชนิด ส่วนประกอบในการทำ PCR ทั้งหมด 25 ไมโครลิตรต่อหนึ่งปฏิกิริยา ซึ่งประกอบด้วยจีโนมดีเอ็นเอ 50 ng, MgCl<sub>2</sub> 2 mM, dATP dCTP dGTP และ dTTP อย่างละ 100 μM ตามลำดับ และ Tris- HCl pH 9.0 จำนวน 10 mM, KCl จำนวน 50 mM และ Triton-X 100 จำนวน 0.1 เปอร์เซ็นต์ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเริ่มจากอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และเพิ่มดีเอ็นเออีก 40 รอบที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จากการทำ RAPD พบว่าได้ชิ้นดีเอ็นเอมีขนาดอยู่ในช่วง 0.5-2.5 กิโลเบส และมีไพรเมอร์ที่เห็นแถบดีเอ็นเอชัดเจน 22 ไพรเมอร์ และจาก 22 ไพรเมอร์ที่เห็นแถบดีเอ็นเอชัดเจน มีเพียง 17 ชนิดที่ทำให้เกิดโพลิมอร์ฟิซึม ส่วนอีก 5 ไพรเมอร์ พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้ไม่แตกต่างกัน

Yu and Nguyen (1994) ใช้เทคนิค RAPD ในการตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยทำการสกัดดีเอ็นเอจากใบข้าวในระยะที่มีใบ 6 ใบ ซึ่งมีหลักการในการทำ PCR ต่อหนึ่งปฏิกิริยา ที่ใช้ 25 ไมโครลิตร มีดังนี้ Tris-HCL pH 8.3 10mM, KCL 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 2.0 mM, dATP dCTP dGTP และ dTTP อย่างละ 50 mM ใช้ Taq DNA polymerase จำนวน 2 ยูนิต จีโนมดีเอ็นเอ 25 นาโนกรัม และใช้ไพรเมอร์ 10 นาโนกรัม โดยทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 45 รอบ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ซึ่งพบว่าจากการใช้ไพรเมอร์จำนวน 42 ไพรเมอร์ ทำให้เกิดชิ้นดีเอ็นเอ 260 ชิ้น และ 80 เปอร์เซ็นต์ของชิ้นดีเอ็นเอ แสดงการเป็น polymorphism และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

Katzir *et al.*, (1996) ใช้เทคนิค RAPD ในการจำแนก และจัดกลุ่มหญ้าไม้กวาด จำนวน 5 ชนิด โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 31 ไพรเมอร์ ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์ พบว่าได้แถบดีเอ็นเอ 86 แถบ สามารถจัดกลุ่มหญ้าไม้กวาดได้ 2 กลุ่ม

พรรณราย จันทร์รักษา (2541) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมในระหว่างกลุ่มของข้าวเหนียวด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ข้าวเหนียว 17 สายพันธุ์ ใช้ไพรเมอร์ขนาดความยาว 10 นิวคลีโอไทด์ และทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ส่วนผสมในปฏิกิริยา 50 ไมโครลิตร ประกอบด้วย Tris-HCl pH 8.3 จำนวน 10 mM, KCl จำนวน 50 mM, dNTP จำนวน 0.2 mM, MgCl<sub>2</sub> จำนวน 1.5 mM ใช้ไพรเมอร์ 0.2 μM ดีเอ็นเอจากจีโนมข้าวเหนียว จำนวน 20 นาโนกรัม

และ Taq polymerase จำนวน 1 ไมโครลิตร โดยเริ่มจากอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที เป็นจำนวน 35 รอบ และรอบที่ 36 สำหรับการสังเคราะห์ดีเอ็นเอให้สมบูรณ์ ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ผลการทดลองพบว่ารูปแบบของแถบดีเอ็นเอมีความแตกต่างกันในบางแถบเมื่อเปรียบเทียบกันภายในกลุ่ม หรือระหว่างกลุ่ม

Koller *et al.*, (1992) จำแนกสายพันธุ์แอปเปิลจำนวน 11 สายพันธุ์ และตัดแปลงการสกัดดีเอ็นเอของ Dellaporta และคณะ (1983) โดยการเติมกลอโรฟอร์ม และไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ อัตราส่วน 24:1 และใส่เอนไซม์ RNase และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยมีส่วนผสมของปฏิกิริยา ดังนี้ ดีเอ็นเอจีโนม 5 นาโนกรัม  $MgCl_2$  2.5 mM, dATP, dCTP, dGTP และ dTTP อย่างละ 100  $\mu M$ , Tris-HCl pH 8.3 จำนวน 10 mM, KCl จำนวน 50 mM, ไพรมเมอร์ 0.28  $\mu M$  และ Taq DNA polymerase 1 ยูนิต อุณหภูมิที่ใช้ในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ โดยเริ่มจากอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จำนวน 2 รอบ และอีก 20 รอบ เริ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 20 วินาที อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 90 วินาที และที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 20 วินาที อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที เกิดขึ้นเป็นจำนวน 19 รอบ หลังจากนั้นตามด้วยอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ผลที่ได้พบว่า แถบดีเอ็นเอของแอปเปิลที่ได้มีความแตกต่างกันทั้ง 11 สายพันธุ์

Yamamoto *et al.*, (1994) ใช้เทคนิค RAPD ในการจำแนกพันธุ์ข้าว (*Oryza sativa* L.) และกะหล่ำปลี (*Lactuca sativa* L.) โดยใช้ไพรมเมอร์จำนวน 21 ไพรมเมอร์ พบว่ามี 13 ไพรมเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอที่แสดง polymorphism ในข้าว 50 เปอร์เซ็นต์ และในกะหล่ำปลี 47 เปอร์เซ็นต์ สามารถสร้างแผนภูมิทางพันธุกรรมได้ขึ้นดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค RAPD บางส่วนที่จะเพาะต่อบางพันธุ์สามารถใช้เป็น genetic marker หรือ RAPD marker ในการคัดเลือกพันธุ์ต่อไปได้

1.2 เทคนิค DNA amplification fingerprinting หรือ DAF ซึ่ง Caetano และคณะ (1991) นำมาใช้ครั้งแรกโดยใช้ ไพรมเมอร์ขนาดสั้นเพียง 5-8 นิวคลีโอไทด์ และใช้โปรแกรมการเพิ่มปริมาณโดยใช้อุณหภูมิเพียง 2 ระดับ แล้วแยกชิ้นส่วนดีเอ็นเอโดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส บน โพลีอะครีลาไมด์เจล และย้อมด้วย silver stain

1.3 เทคนิค SSR (simple sequence repeat) เป็นเทคนิคที่อาศัยการกระจายตัวของเบสซ้ำในสิ่งมีชีวิต เป็นการสร้างไพรมเมอร์ที่จำเพาะกับส่วนต้นและส่วนปลายของเบสซ้ำนั้น แล้วทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งจะพบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการมิซุดซ้ำไม่เท่ากัน เช่น Jain and Bhalla (1999) ได้นำเทคนิค SSR และ RAPD มาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ

*Pandorea jasminoides* จำนวน 5 สายพันธุ์ และ *Pandore pandorana* 8 สายพันธุ์ จากการคัดเลือกไพรเมอร์ พบว่ามีเพียง 6 ไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่าง และในการความสัมพันธ์ของทั้ง 13 สายพันธุ์ เลือกใช้ไพรเมอร์ที่ดีที่สุด จำนวน 3 ไพรเมอร์ โดยใช้ไพรเมอร์จากเทคนิค SSR 1 ไพรเมอร์ และเทคนิค RAPD 2 ไพรเมอร์ ผลจากแถบดีเอ็นเอ 513 แถบ สามารถจำแนกความสัมพันธ์ของ *Pandorea jasminoides* และ *Pandore pandorana* ได้ 2 กลุ่ม

1.4 เทคนิค AFLP (amplified fragment length polymorphism) เป็นเทคนิคที่รวมเอาหลักการ RFLP และ RAPD มารวมไว้ด้วยกัน โดยมีกรดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด แล้วต่อเข้ากับ adapter ของเอ็นไซม์ทั้งสอง และมีการเพิ่มปริมาณด้วยการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับ adapter นั้นๆ เช่น Sharma, *et al.*, (1996) ได้ศึกษาวิวัฒนาการของถั่วฝักยาว เป็นพันธุ์ปลูก 26 ตัวอย่าง และเป็นพันธุ์ป่า 28 ตัวอย่าง ใช้ไพรเมอร์ 4 คู่ พบว่าเทคนิค AFLP สามารถแบ่งแยกความหลากหลายของถั่วฝักยาวสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้

1.5 เทคนิค ISSR (inter-simple sequence repeat) เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถแยกในระดับชนิด (species) ของสิ่งมีชีวิตจนถึงภายในชนิด โดยใช้วิธี PCR ที่ใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสซ้ำ ๆ (Microsatellite primer) เช่น  $(AG)_6$ ,  $(TC)_8$  หรือ  $(ACG)_4$  ค่าใช้จ่ายในการศึกษาไม่สูงนัก ขั้นตอนไม่ยุ่งยากซับซ้อน

2. เทคนิคที่ตรวจหาคด้วยวิธีไฮบริไดเซชัน (hybridization) มีเพียงเทคนิคเดียว คือ RFLP (restriction fragment length polymorphism)

RFLP (restriction fragment length polymorphism) เป็นเทคนิคที่ศึกษาความแตกต่าง หรือความหลากหลายของขนาดดีเอ็นเอที่เกิดจากการตัดด้วยเอ็นไซม์จำเพาะบางชนิด เรียกว่าเป็น polymorphism วิธีการตรวจสอบ RFLP คือ การนำ genomic DNA มาย่อยด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) แล้วนำไปแยกขนาดใน agarose แล้วถ่ายลงสู่แผ่นเมมเบรน และตรวจสอบด้วยการ hybridization กับ probe ที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสี ผลของการตรวจสอบแสดงถึงชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดต่าง ๆ กัน แถบที่แตกต่างกันจะเกิดจากการกลายที่ตำแหน่งตัดด้วยเอ็นไซม์ หรือมีการเพิ่ม หรือการขาดหายไปของดีเอ็นเอระหว่างตำแหน่งตัดสองตำแหน่ง เช่น Cui *et. al.*, (1995) ได้ตรวจสอบความหลากหลายของข้าวฟ่าง จำนวน 53 สายพันธุ์ จากแหล่งต่าง ๆ เช่น แอฟริกา เอเชีย อเมริกา ซึ่งเป็นพันธุ์ป่า และพันธุ์ปลูก โดยใช้ดีเอ็นเอที่เป็น single copy ของข้าวฟ่างจำนวน 62 โคลนเป็นโพรบ พบว่ามีอัลลีลทั้งหมด 340 อัลลีล และที่พบทั้งในพันธุ์ป่าและพันธุ์ปลูก 240 อัลลีล จากการพิจารณา phylogenetic tree พบว่าแบ่งได้ 7 กลุ่ม



### พันธุ์กวางเครือแดง

สายพันธุ์กวางเครือแดงยังไม่มีการศึกษาถึงลักษณะพันธุ์ แต่จากการศึกษากวางเครือขาว Ditchaiwong, et. al., (2005) ได้จำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย โดยวิธี randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าวิธี RAPD สามารถใช้ระบุพันธุ์ หรือสายต้นกวางเครือขาวได้ ส่วนลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่สามารถนำมาใช้แยกความแตกต่างระหว่างสายต้นได้

### สรรพคุณของกวางเครือแดง

กวางเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) มีสรรพคุณต่างๆ ไป ตามที่หอมพื้นบ้านเล่าสืบต่อกันมา เช่นป็นผงกวางเครือแดงเป็นก้อนขนาดเท่าเมล็ดพริกไทย แล้วแบ่งกินสองในสามส่วน สามารถรักษาอาการอ่อนเพลีย ผอมแห้งแรงน้อย กินไม่ได้นอนไม่หลับ นอกจากนี้ เพ็ญญา ทรัพย์เจริญ (2541) ได้กล่าวถึงสรรพคุณกวางเครือแดงเพิ่มเติมว่าใช้เป็นสมุนไพรรักษาแก้ปวดเมื่อยตามกล้ามเนื้อของร่างกาย บำรุงเส้นผมให้ดกดำ บำรุงสายตา บำรุงผิวพรรณให้เต่งตึง บำรุงฮอร์โมนเพศชาย และบำรุงกำลัง ธนาธิป รักศิลป์ (2537) ได้ทำการวิจัยพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของหัวกวางเครือแดงประกอบไปด้วย steroid, steroid glycoside, flavonoid, flavonoid glycoside และ amino acid สำหรับ flavonoid ที่พบในหัวกวางเครือแดงอาจเป็นไปได้ว่าเป็นแอนโทไซยานิน เนื่องจากที่หัวกวางเครือแดงเมื่อได้รับบาดเจ็บจะมียางสีแดงไหลออกมา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Markarkis (1982) กล่าวว่าสารแอนโทไซยานินจะมีสีส้ม สีแดง และสีน้ำเงิน anthocyanins เป็น antioxidant มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ การเสื่อมสภาพของเซลล์ และความชรา ฯลฯ มีสาเหตุและกลไกเนื่องมาจากการเพิ่มของอนุมูลอิสระ การเพิ่มของปฏิกิริยาออกซิเดชัน และการลดลงของสารต่อต้านอนุมูลอิสระหรือแอนติออกซิเดนต์ (National Center for Genetic Engineering and Biotechnology at Kasetsart University, 2546) นอกจากนี้ กวางเครือแดงช่วยในการบำรุงประสาท ยับยั้งอาการมึนงง มึนงงอก ทำให้ในปัจจุบันมีการผลิตสมุนไพรออกมาในรูปแบบผลิตภัณฑ์เพื่อจำหน่าย เช่น ยาแคปซูลสมุนไพรกวางเครือแดงซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์รักษาอาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศในเพศชาย และเจลสำหรับสุขภาพบุรุษ PowerUp Gel ซึ่งเป็นเจลบำรุงสมรรถภาพอวัยวะเพศชาย (วิชัย เชิดชีวิตศาสตร์, 2547)

โพลิน สิทธิวิเชียรวงศ์ (2542) พบว่าสาร 3,7,3-trihydroxy-4-methoxyflavone (ฟลาโวนอยด์) ในรากกวางเครือแดงที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP-phosphodiesterase (cyclic adenosine 3,5-monophosphate phosphodiesterase) ได้สูงกว่าไม่ใช้สารนี้ 50 เปอร์เซ็นต์ และอาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศของผู้ชายเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ (cAMP-phosphodiesterase) เอนไซม์นี้จะไปยับยั้งการแข็งตัวขององคชาติ โดยทำให้

เลือดไหลเข้าสู่อกขาดได้ไม่เต็มที่ โสภณ เริงสำราญ และคณะ (2543) ได้ศึกษา การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP-phosphodiesterase ของสาร 3,7,3-trihydroxy-4-methoxyflavone และสาร 3,3-dihydroxy-4-methoxyflavone-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside ในรากกวาวเครือแดง พบว่า สารทั้งสองมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP-phosphodiesterase ได้ที่ระดับของค่า inhibitory concentration 50% (IC<sub>50</sub>) = 190 และ 58 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล (2545) ได้ทำการศึกษาผลของรากกวาวเครือแดงที่พบในพื้นที่แตกต่างกันสองพื้นที่ ต่ออวัยวะสืบพันธุ์ พฤติกรรมการสืบพันธุ์ และการแข็งตัวของอวัยวะเพศในหนูขาวเพศผู้ โดยให้หนูขาวกินผงกวาวเครือแดงปนขนาด 5 มิลลิกรัม/ครั้ง/วัน เป็นเวลานาน 21 วัน พบว่า น้ำหนักตัว และปริมาณอสุจิของหนูขาวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และความยาวขององคชาติของหนูขาวเพิ่มขึ้นและแข็งตัวนานขึ้น นอกจากนี้ Smith and Wood (1992) พบว่าสารที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP-phosphodiesterase สามารถทำหน้าที่กระตุ้นการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง และกระตุ้นการทำหน้าที่ของเซลล์ได้ และยังช่วยลดความรุนแรงของโรคร้ายได้หลายโรค เช่น โรคเบาหวาน (Hemington *et al.*, 1973) และ โรคมะเร็ง (Emmelot and Bos, 1971)

### องค์ประกอบทางเคมีในรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง

รากสะสมอาหารกวาวเครือแดงประกอบด้วย

#### 1. $\beta$ -sitosterol

$\beta$ -sitosterol เป็น sterol ชนิดหนึ่งที่พบในพืชบางชนิด เช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันรำข้าว น้ำมันถั่วลิสง rye germ oil ซึ่ง Miettinen and Vanhanen (1994) และ Miettinen, Tilvis and Kesaniemi (1990) พบว่า  $\beta$ -sitosterol ช่วยในการลด cholesterol ซึ่ง Lowe and Ku (1996) กล่าวว่า การบริโภคน้ำมัน  $\beta$ -sitosterol ปริมาณ 500 มิลลิกรัม และ 10 กรัม/วัน สามารถลดระดับของ cholesterol ในเลือดได้ การบริโภคน้ำมันปริมาณ 60 มิลลิกรัม และ 130 มิลลิกรัม/วัน ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งต่อมลูกหมากชนิด benign prostatic hyperplasia ซึ่งสอดคล้องกับ วิทย์ เทียง บูรณะธรรม (2540) ที่พบว่า  $\beta$ -sitosterol ใช้ในการรักษาโรค type II hyperlipoproteinemia เพราะช่วยในการดูดซึม cholesterol และใช้เป็นยาลดระดับ cholesterol ในโลหิตได้

#### 2. stigmasterol

stigmasterol เป็นสารกลุ่มไขมันพืช ที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์ steroid hormone ที่สามารถแสดงฤทธิ์ต่อระบบสืบพันธุ์ โดยใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาคุมกำเนิด

### 3. flavonoids

flavonoids ประกอบด้วยสารหลายชนิดรวมทั้ง anthocyanin เป็นสารที่ทำให้เกิดสารสีน้ำเงิน-แดง โพลิน สัททวิเชียรวงษ์ (2542) กล่าวว่าสาร flavonoids ที่พบในกวาวเครือแดง คือ 3,7,3-trihydroxy-4-methoxy flavone สารชนิดนี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP phosphodiesterase ได้สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ คุณสมบัติของเอนไซม์ชนิดนี้จะไปยับยั้งการแข็งตัวขององคชาติ โดยทำให้เลือดไหลเข้าสู่องคชาติได้ไม่เต็มที่ และสาร 3,3-dihydroxy-4-methoxyflavone-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP-phosphodiesterase ได้เช่นกัน

### 4. steroids glycosides

สารในกลุ่มนี้ประกอบด้วย  $\beta$ -sitosterol-1-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside และ stigmasteryl-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (ชนาธิป รักศิลป์, 2537)

## Antioxidant

Antioxidant เป็นสารต่อต้านหรือลดอนุมูลอิสระทำหน้าที่ปกป้องอันตรายจากอนุมูลอิสระซึ่งไมตรี สุทธิจิตต์ และคณะ (2545) พบว่า มะเร็ง เอคส์ การเสื่อมสภาพของเซลล์ ความชรา โรคข้ออักเสบ มีสาเหตุและกลไกเนื่องมาจากการเพิ่มของอนุมูลอิสระ การเพิ่มของปฏิกิริยาออกซิเดชัน และการลดลงของสารต่อต้านอนุมูลอิสระหรือแอนติออกซิแดนท์ Julie et al., (1998) รายงานว่า coumestrol มีฤทธิ์เป็น antioxidant ซึ่ง coumestrol เป็นสารที่พบในกวาวเครือขาว ที่ช่วยยับยั้งการเกิดกระบวนการ lipid peroxidation ที่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อ และเป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง และหลอดเลือดหัวใจตีบ

อนุมูลอิสระ (free-radicals) เป็นสารที่มีอะตอมหรือหมู่อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (singlet) อาจเกิดจากการขาดหรือการเกินของอิเล็กตรอน อนุมูลอิสระมีฤทธิ์ออกซิไดซ์ที่ว่องไวมาก คือมักทำปฏิกิริยากับอะตอมของธาตุอื่นเสมอ ตัวอย่างอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ และอนุมูลไฮดรอกซิล ซึ่งสามารถออกซิไดซ์สารชีวโมเลกุลได้แทบทุกชนิดให้มีการทำลายและสูญเสียโครงสร้างทางเคมี หน้าที่ทางชีวภาพของเซลล์เกิดการเสื่อมสภาพและทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อในด้านประโยชน์ทางชีวภาพในเม็ดเลือดขาวมีอนุมูลอิสระในการทำลายสารแปลกปลอมและเชื้อโรค แต่ถ้าอนุมูลอิสระมีปริมาณมากเกินไป ก็อาจเป็นโทษต่อเซลล์ได้ เช่น ทำให้มีการอักเสบและเซลล์ตาย หลังจากที่มีการติดเชื้อแล้ว เป็นต้น หรือเกิดความเป็นพิษเรื้อรังและพยาธิสภาพได้ทีหลัง เช่น ผนังเส้นเลือดแข็งตัว โรคหัวใจขาดเลือด และโรคต่อกระจุกตา

(ไมตรี สุทธิจิตต์ และคณะ, 2545) สารที่จัดว่าเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระได้แก่ แอนโทไซยานิน เบต้ากลูแคน และวิตามินซี

### Anthocyanin

Anthocyanin เป็นแอนติออกซิแดนท์ (antioxidant) และเป็น flavonoids ชนิดหนึ่ง โดยทั่วไปแล้วมีหน้าที่ในการลดการอุดตันของหลอดเลือดหัวใจ (Bridle and Timberlake, 1996) ทำให้การมองเห็นดีขึ้น (Timberlake and Henry, 1988) ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (Karaivanova *et al.*, 1990; Kamei *et al.*, 1995) แอนโทไซยานินจัดเป็นรงควัตถุที่มีสีช่วงสีแดงถึงสีน้ำเงิน พบในผลไม้ ผัก ดอกไม้ และพืชหัวหลายชนิด เช่น องุ่น ดอกอัญชัน กระเจี๊ยบแดง เป็นต้น โมเลกุลประกอบด้วย แอนโทไซยานิดิน หรือเรียกว่า aglycone ซึ่งจับกับน้ำตาลด้วยพันธะ  $\beta$ -glycosidic แอนโทไซยานิดิน ที่พบมากในธรรมชาติมีอยู่ 6 ชนิด ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 โครงสร้างของแอนโทไซยานิดิน (ดัดแปลงจาก Markakis, 1982)

ชนิดของแอนโทไซยานิดิน	R <sub>3</sub>	R <sub>5</sub>	$\lambda_{max.}(nm)$	สี
Pelargonidin	H	H	520	ส้ม-แดง
Cyanidin	OH	H	535	น้ำเงิน-แดง
Delphinidin	OH	OH	544	น้ำเงิน-แดง
Peonidin	OCH <sub>3</sub>	H	532	ส้ม
Petunidin	OCH <sub>3</sub>	OH	543	ส้ม-แดง
Malvidin	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	542	น้ำเงิน-แดง

### การหาปริมาณ Anthocyanin

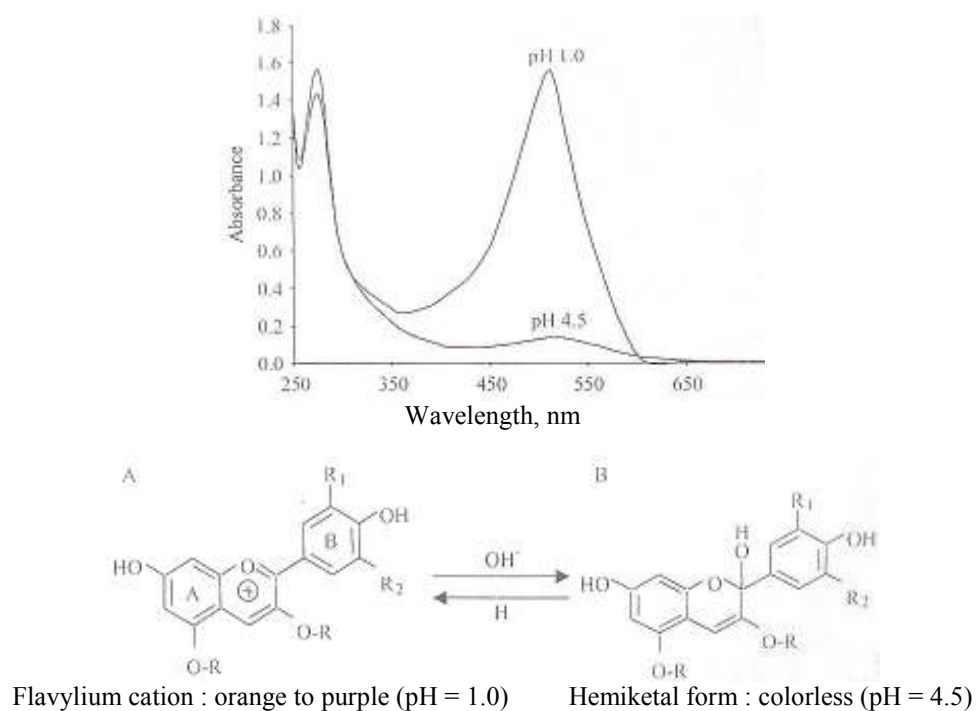
Anthocyanin มีคุณสมบัติในการดูดกลืนแสง ช่วง 510-540 นาโนเมตร Adrian, *et al.*, (2004) และ Markakis (1982) พบว่าอยู่ในช่วง 520-544 นาโนเมตร สีของแอนโทไซยานินเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นกับความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลายคือ แอนโทไซยานินจะมีสีแดงเข้มในสถานะที่อยู่ในสารละลายที่เป็นกรดและมีสีเหลืองในสภาพที่เป็นเบส ดังเช่นการเปลี่ยนแปลงของสีของกะหล่ำปลีสีแดง (red cabbage) (นิรนาม ม.ป.ป.) ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 การเปลี่ยนแปลงสีของกะหล่ำปลีสีแดง (red cabbage)

Red Cabbage Indicator Colors and Acidity Values														
Color	red		violet		purple		blue			green		yellow		
pH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	Strong acidic		Moderate acid		Weak acid		Neutral			Moderate base		Strong base		

anthocyanin ที่พบใน น้ำเซอรัลค่า pH ต่อการเปลี่ยนแปลงของสีก็จะแตกต่างกันบ้าง เช่น pH=2.5 ให้ค่าสีแดง (red) pH=4.5 ให้ค่าสีส้ม (orange) pH=7 ให้ค่าสีน้ำตาล (brown) และ pH=10 ให้ค่าสีเขียว (green) (นิรนาม, ม.ป.ป.)

ความเป็นกรด ต่างมีผลต่อสีของแอนโทไซยานิน ทำให้สามารถศึกษาหาปริมาณของสารชนิดนี้ได้ด้วยการดูดกลืนแสง ที่เรียกว่า pH differential ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว แอนโทไซยานินมีการเปลี่ยนฟอร์มของโครงสร้างเมื่อ pH เปลี่ยนแปลงมีผลทำให้ absorbance spectra เปลี่ยนไป เช่นการเปลี่ยนแปลงของสีที่ pH 1.0 และ pH 4.5 ทำให้ค่าของการดูดกลืนแสงต่างกัน (Wrolstad, *et al.*, 2005) ภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 การดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินที่ pH 1 และ 4.5

Fuleki and Francis (1968) หาปริมาณแอนโทไซยานิน pH 1.0 และ pH 4.5 ในการหาปริมาณแอนโทไซยานิน ในน้ำผลแครนเบอร์รี่ (cranberry) โดยใช้หลักการ pH differential method โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง KCl- HCl ที่ pH 1.0 และ CH<sub>3</sub>COONa-HCl ที่ pH 4.5 ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร แล้วคำนวณปริมาณแอนโทไซยานิน การคำนวณ ค่าการดูดกลืนแสงของ diluted sample (Wrolstad, *et al.*, 2005) ดังนี้

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานิน} = (A \times MW \times DF \times 1000) / (\epsilon \times l)$$

การคำนวณความเข้มข้นของ โมโนเมอร์ริคแอนโทไซยานิน (mg/ liter) จากสมการค่าการ

$$\text{ดูดกลืนแสง คำนวณจาก A} = (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH 1.0}} - (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH 4.5}}$$

$$MW = \text{น้ำหนักโมเลกุล 449.2}$$

$$DF = \text{dilution factor (เช่น ตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร เจือจางได้}$$

ปริมาตร 7 มิลลิลิตร, DF = 35 )

$$\epsilon = \text{molar absorptivity (26,900)}$$

Wada and Ou (2002). สกัดแอนโทไซยานินจากผลเบอร์รี่ 5 ชนิด คือ ผลแครนเบอร์รี่ (cranberry) ราสพ์เบอร์รี่ (raspberries) มาเรียนเบอร์รี่ (marionberries) เอเวอริกรีนแบล็คเบอร์รี่ (evergreen blackberries) และบอยเซ็นเบอร์รี่ (boysenberries) โดยการบดผลเบอร์รี่จำนวน 0.5 กรัม สกัดด้วยเมทานอล กับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1% เขย่าบน shaker ด้วยความเร็ว 400 รอบต่อนาที นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารสกัดไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 5900 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ดูดส่วนใส และนำสารละลายที่ได้กรองอีกครั้งด้วย cellulose syringe filter ขนาด 0.45  $\mu\text{m}$  และทำการหาปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธี pH differential method คือวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ pH 1 และ pH 4.5

Fuleki และ Francis (1968) สกัด anthocyanin จากผลแครนเบอร์รี่ (cranberries) ด้วยเอทานอลกับไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.5 N ในสัดส่วน 85:15 โดยปริมาตร โดยปั่นใน waring blender ด้วยความเร็วสูงสุดนาน 20 วินาที เก็บสารสกัดไว้ในที่มืดนาน 30 นาที แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง และล้างกากด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และกรองสารละลายที่ได้อีกครั้งด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 วัดปริมาตรสารละลายที่ได้ (TEV) จากนั้นเปิดสารละลายที่กรองได้ (SV) ใส่ในขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร (DV) จากนั้นเจือจางสารสกัดด้วยตัวทำละลาย เพื่อให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.3-0.8 แล้วเก็บไว้ในที่มืดนาน 2 ชั่วโมง เพื่อให้ forms ต่างๆ ของ แอนโทไซยานินอยู่ในสภาพสมดุล หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร

Nakamura *et al.*, (1990) ศึกษาแอนโทไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus rosasinensis* L.) โดยสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดง ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 0.01 ในเมทานอล และนำมาไฮโดรไลส์ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 N เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่ความร้อน 100 องศาเซลเซียส ทำให้แยกได้แอนโทไซยานิดิน ซึ่งเป็น aglycone และน้ำตาล การหาชนิดของ aglycone โดยการทำให้ paper chromatography ใช้ตัวทำละลาย 3 ระบบ คือ กรดไฮโดรคลอริก:กรดอะซิติก:น้ำ (HAW) ในอัตราส่วน 3:30:10 กรดฟอร์มิก:กรดไฮโดรคลอริก:น้ำ (FHW) ในอัตราส่วน 5:2:3 และกรดไฮโดรคลอริก: กรดอะซิติก:น้ำ (HAW) ในอัตราส่วน 1:5:5 แล้วหาค่า  $R_f$  ของ aglycone เทียบกับ  $R_f$  ของ cyanidin ที่ใช้เป็น standard

## รายการอ้างอิง

- จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. (2542). จุฬาฯ ผลักดันให้กวางเครือขาว และกวางเครือแดง เป็นพืชสงวน [ออนไลน์]. ได้จาก <http://www.chula.ac.th/curel/1999/apr-16-1999/cusoc.html>
- จวงจันทร์ ดวงพัตรา. (2529). เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 210 หน้า.
- ชวลิต นิยมธรรม. (2538). กวางเครือ. อนุกรมวิธานพืช อักษร ก. ราชบัณฑิตยสถาน. เพื่อนพิมพ์. 495 หน้า.
- เต็ม สมิตินันท์. ( 2523). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย: ชื่อพฤกษศาสตร์- ชื่อพื้นเมือง. กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ. 379 หน้า.
- มลิวรรณ นาคขุนทด. (2543). การใช้เทคนิค RAPD ในการตรวจหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชในวงศ์ Myrtaceae บางชนิด. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. ไมตรี สุทธิจิตต์, ปกฤษฎาภรณ์ แก้วสุริยะ, ศิริวรรณ สุทธิจิตต์ และอุดมภักดิ์ ขาลสุวรรณ.(2545). แอนด็อกซิแคนท์และสารสำคัญในพืชสมุนไพรไทย. วารสารเภสัชศาสตร์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ3 (มกราคม-มิถุนายน) : 254-260.
- ธนธิป รักศิลป์. (2537). องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวางเครือแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ (เคมี ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นภดล จรัสสัมฤทธิ์. (2537). ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. โรงพิมพ์ สหมิตรออฟเซต. กรุงเทพฯ. 128 หน้า.
- นिरนาม. (ม.ป.ป.) [ออนไลน์]. ได้จาก [http://faculty.dbcc.cc.fl.us/swansoj/Acidity\\_Determination\\_Using\\_Indicators.htm](http://faculty.dbcc.cc.fl.us/swansoj/Acidity_Determination_Using_Indicators.htm).
- ประสาร นลาดคิด. (2545). สิ่งแวดล้อมกับการเจริญเติบโตรอบปีของกวางเครือขาว. การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาของประเทศไทย ครั้งที่ 3 วันที่ 18-19 กรกฎาคม 2545 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- ประสาร นลาดคิด. (2546). อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การออกดอก การติดฝักและเมล็ด และการสะสมสาร Daidzein และ Genistein ในหัวกวางเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.



- พีรเดช ทองอำไพ. (2537). สอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 196 หน้า.
- เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. (2541). การใช้กาวเครือในแพทย์แผนไทยและแผนพื้นบ้าน. เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกาวเครือ. กรุงเทพฯ. สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ หน้า 1-8.
- ไพลิน สิทธิวิเชียรวงศ์. (2542). การคัดกรองสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชสมุนไพรโดยวิธียับยั้งไซคลิกเอเอ็มพีฟอสโฟไดเอสเทอร์ส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ (เทคโนโลยีทางชีวภาพ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พรพันธ์ ภู่อ้อมพันธุ์. (2538). เทคนิคการจำแนกพันธุ์พืชด้วยวิธี Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) ในการตรวจแยกสายพันธุ์พืชด้วยการใช้ Isozyme pattern และ RAPD. เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการระหว่างวันที่ 24-28 กรกฎาคม 2538. ศูนย์ปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (วิทยาเขตกำแพงแสน). นครปฐม.
- เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์. (2531). เทคนิคทางอิเล็กโตรโฟรีซิสในการจำแนกพันธุ์ ในเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสในการจำแนกพันธุ์พืช. เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการ ศูนย์ปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (วิทยาเขตกำแพงแสน). นครปฐม.
- พรรณราย ชันชรักรา. (2541). ความแปรปรวนทางพันธุกรรมในระหว่างกลุ่มของข้าวเหนียวเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอาร์เอฟดี วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาพันธุศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ภวานา อัสวะประภา. (2544). คู่มือการปลูกพืชสมุนไพร. กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ. 45 หน้า.
- ยุคลธร สถาปนศิริ. (2542). การวิเคราะห์จีโนมของพืชบางชนิดในสกุล *Garcinia* โดยเทคนิคเอเอฟแอลพี วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาพันธุศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- วันชัย จันทร์ประเสริฐ. (2537). สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 213 หน้า.
- วิชัย เชิดชูชีวิต. (2547). ผลิตภัณฑ์เพิ่มสมรรถภาพทางเพศสำหรับท่านชาย [ออนไลน์]. ได้จาก [http://www.siamnana.com/X\\_man.htm#Jell](http://www.siamnana.com/X_man.htm#Jell)
- วิทย์ เทียงบูรณะธรรม และ เกษม เทียงบูรณะธรรม. (2537). พจนานุกรมโรคและการบำบัด. รวมสารัน (1997). กรุงเทพฯ. 1339 หน้า.
- วิทย์ เทียงบูรณะธรรม. (2540). พจนานุกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กรุงเทพฯ. 1036 หน้า.

- วุฒิ วุฒิชัยธรรมเวช. (2540). สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 92 หน้า.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. (2537). พฤกษศาสตร์. รั้วเขียว, กรุงเทพฯ. 277 หน้า.
- สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวางเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่พบในพื้นที่แตกต่างกันสองพื้นที่ ต่ออวัยวะสืบพันธุ์ พฤติกรรมการสืบพันธุ์ และการแข็งตัวของอวัยวะเพศในหนูขาวเพศผู้ (*Rattus norvegicus*) วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. (2536). พันธุศาสตร์เบื้องต้น. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 258 หน้า.
- โสภณ เรืองสำราญ และคณะ. (2543). ฟลาโวนอยด์ และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ จากกวางเครือแดง และฤทธิ์ต่อต้านไซคลิกเอเอ็มพีฟอสโฟไดเอสเทอเรส. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 25(1): 169-176.
- อานันท์ กาญจนพันธุ์ และ มิ่งสรรพ์ ขาวสอาด. (2538). วิวัฒนาการของการบุกเบิกที่ดินทำกินในเขตป่า: กรณีศึกษาภาคเหนือตอนบน. กรุงเทพฯ. มูลนิธิสถาบันวิจัยเพื่อการพัฒนาประเทศ 13. หน้า.
- อรดี สหวัชรินทร์. (2541). แนวทางการคัดเลือกพันธุ์ ขยายพันธุ์ และการปลูกกวางเครือ เอกสารประกอบการประชุมสัมมนา กวางเครือ ณ สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 44 หน้า.
- อนุสารสุนทร หลวง. (2472). “กวางเครือ” สมุนไพรครอบจักรวาล. วารสารเคหการเกษตร. 23(3): 127-135.
- อชิพงษ์ มานะเสถียร. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวางเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่พบในพื้นที่แตกต่างกันสองแห่ง ต่อ หัวใจ ตับ ไต ต่อมหมวกไต และองค์ประกอบของเลือดในหนูขาวเพศผู้ (*Rattus norvegicus*) วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- อภิพรธ พุกภักดี โกวิท ชีวีโรจน์ อินทรัดน เสดาดี และสมบุญ ชัยแก้ว. (2533). การตอบสนองของสายพันธุ์ถั่วเหลืองต่อการขาดน้ำในระยะเจริญพันธุ์ รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานวิจัยถั่วเหลืองครั้งที่ 3 วันที่ 21-23 กุมภาพันธ์ 2533 ณ โรงแรมเชียงใหม่ พลาซ่า จังหวัดเชียงใหม่. หน้า 275-288.
- Adrian, A., Franke, L.J., Custer, C.A. and Suzanne, P. (2004). Vitamin C and Flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii Journal of food composition and analysis 17: 1-35.

- Anthony, M.S., Clarkson, T.B. and Hughes, C.L. (1996). Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without effecting the reproductive system of peripuberal rhesus monkeys. *J.Nutrition*. 126 (1): 43-50.
- Bangerth, F. (1989). Dominance among fruits/sinks and the search for correlative signal. *Physiol. Plant*. 76: 608-614.
- Begum, S.N. and Takeshi, L. (2002). Effect of different concentrations of figaron on production and abscission of reproductive organs, growth, and yield in soybean (*Glycine max* L.) *Field Crops Research*. 78: 41-50.
- Bridle, P. and Timberlake, C.F. (1996). Anthocyanins as natural food colors selected aspects. *Food chem*. 58: 103-109.
- Caetano, A.G., Bassam, B.J. and Gresshoff, P.M. (1991). DNA Amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Bio/ Technology* 9: 553-557 .
- Cui, Y.X., Xu, G.W., Magill, C.W. and Hart, G.E. (1995). RFLP-Based Assay of *Sorghum bicolor* L. Moench genetic diversity. *Theor. Appl. Genet*. 90: 787-796.
- Dewick, M.P. (1994). Isoflanoides. In J.B. Harborn (ed.) *The Flavonoid Advances in Research Since 1986*. Chapman London.
- Ditchaiwong,C. Sakuanrungsirikul, S. Smitasiri, Y. Wongtai, S. Srijugawan, S. and Suwanbutr, S. (2005). Clone Selection of *Pueraria mirifica* Airy Shaw and Suvatabanhu by Using Molecular Markers. *Agricultural Sci. J*. 36 5-6 (Suppl): 919-966.
- Emmelot, P. and Bos, C.J. (1971). *Biochem. Biophys. Acta*, 285.
- Hemington, J.G., Chenoweth, M. and Dunn, A.B. (1973). *Biophys. Acta*. 552.
- Fuleki, T. and Francis, F.J. (1968). Quantitative methods for anthocyanin. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. *Journal of Food Science* 33: 72-77.
- Fuleki, T. and Francis, F.J. (1968). Quantitative methods for anthocyanin. 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. *Journal of Food Science* 33:78-83.
- Hodgson, J.M., Puddey, I.B., Burke, V., Beilin, L.J. and Jordan, N. (1999). Effects on blood pressure of drinking green and black tea. *Journal of Hypertension*. 17 (4): 457-463.

- Jain, A., C. Apparanda and P.L. Bhalla. (1999). Evaluation of genetic diversity and genome fingerprint of *Pandorea* (Bignoniaceae) by RAPD and inter – SSR PCR. *Genome* 42: 714- 719.
- Jeffreys, A.J., Wilson, V. and Thein, S.L. (1985). Individual specific fingerprints of human DNA. *Nature* 316: 76-79.
- Julie, H.M., Garner, P.T., Mephail, D.B., Morrice, P.C., Collin, A. R., and Duthei, G.G. (1998). Antioxidant efficiency of phytoestrogen in chemical and biology model system. *Biochemistry and biophysic.* 361:142-148.
- Kamei, H., Kojima, T., Hasegawa, M., Koide T., Umeda, T., Yukawa, T., and Terabe, K. (1995). Suppression of tumor cell growth by anthocyanins in vitro. *Cancer Invest.* 13 : 590-594.
- Karaivanova, M., Drenska, D., and Ovcharov, R. (1990). A modification of the toxic effects of platinum complexes with anthocyanins. *Eksp. Med Morfol.* 29: 19-24.
- Katzir, N., V. Potnoy, G. Tsurii, M. Castejon- Munoz and D.M. Joel. (1996). Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in the study of the parasitic weed *Orobancha*. *Theor. Appl. Genet.* 93: 367-372.
- Koller, B., Lehmann, A., McDermott, J.M., and Gessler, C. (1992). Identification of apple cultivars using RAPD marker. *Theor. Appl. Genet.* 85: 901-904.
- Larry, O. C., and McDonald, M. B. (1995). *Seed Science and Technology*. United States of American. 409 page.
- Lowe F.C. and Ku J.C. (1996). Phytotherapy in treatment of benign prostatic hyperplasia: A critical review. *Urology.* 48 (1) : 12-20.
- Loss S.P and Siddique K.H.M. (1997). Adaptation of faba bean (*Vicia faba* L.) to dry land Mediterranean type environment. I. Seed yield components. *Field Crops Research.* 54: 17-28.
- Manulis, S., Kogan, N., Reuven, M., and Yephet Y. B . (1993). Use of the RAPD technique or identification of *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Dianthi* from canation. *Amer. Phytopathol. Soc.* 84: 98- 101 page.

- Markarkis,P. (1982). Stability of anthocyanins in food In P. Markarkis(ed.), Anthocyanina as Food Colors, pp 163-178. NewYork: Academic Press.
- Medhi, A. K., and Borrnora, T. K. (2002) Effect of Growth Regulators on the Dry Matter Productoin, Flower Initiation and Setting of French Bean (*Phaseolus vulgaris* L. Res. On Crops.3 (1)) : 119-122.
- Miettinen, T.A. and Vanhanen H. (1994). Dietary sitostanol related to absorption, synthesis and serum level of cholesterol in different apolipoprotein E phenotypes. *Atherosclerosis*. 105: 217-226.
- Miettinen, T.A., Tilvis, R.S. and Kesaniemi, Y.A. (1990). Serum plant sterol and cholesterol precursors reflect chlolesterol absorption and synthesis in volunteers of randomly selected male population. *American Journal of Epidemiology*. 131: 20-31
- Morgant, M. (1994). Application of Molecular Markers in Plant Genetics and Breeding. Proc. of IPBA. Rogla, Slovenia. 139-145 page.
- Mwanamwenge, J., Joss, S.P., Siddique, K.H.M., and Cocks, P.S. (1999). Effect of water stress during floral initiation flowering and podding on the growth and yield of Faba bean (*vicia faba* L.) *European Journal of Agronomy*, 11: 1-11.
- Nakamura, Y., Hidaka, M., Masaki, H., Seto, H., and Uozumi, T. (1990). Major anthocyanin of the flowers of Hibiscus (*Hibiscus rosa – sinensis* L. ). *Agriculture and Biological Chemistry* 54: 3345-3346.
- National Center for Genetic Engineering and Biotechnology at Kasetsart University. 2546  
[on-line] Avaivable:  
[http://dna.kps.ku.ac.th/rice\\_files/news/Black%20Rice%20Shampoo.htm](http://dna.kps.ku.ac.th/rice_files/news/Black%20Rice%20Shampoo.htm)
- Nooden, L. D. and Nooden, S. M.. (1985). Effects of morphactin and other auxin transport inhibitors in soybean senescense and pod development. *Plant Physiol*. 78:263-265 .
- Ober, E.S., Setter, T. L., Madison J. T., Thompson J. F., and Shapiro, P. S. (1991). Influence of water deficit on maize endosperm development. Enzyme activities and RNA transcripts of starch and zein synthesis, abscisic acid, and cell division. *Plant physiology*. 97: 154-164.
- Sherma, J., Fried, B.(2003). *Handbook of Thin-Layer Chromatography*. Marcel Dekker, USA. 1104 page.

- Sharma, S.K., Knox, M.R. and Ellis, T.H.N. (1996). AFLP analysis of the diversity and phylogeny of *Lens* and its comparison with RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.* 93: 751-758.
- Smith, C. A. and Wood, E. J. (1992). *Molecular and Cell Biochemistry: Cell Biology*, Chapman and Hall, London, 209 page.
- Smith, F.W., Jackson, W.A., and Vandenberg, P. J. (1990). International Phosphorus flows during development of phosphorus stress in *Stylosanthes hamata* Aust. J. Plant Physiol. 17: 451-464.
- Southern, E.M (1975 ) Detection of specific sequences among DNA fragment separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.* 98: 503-527.
- Timberlake, C.F. and Henry, B.S. (1988). Anthocyanins as natural food colorants. *Prog. Clin. Biol. Res.* 280: 107-121.
- Wein, H.C., Sandsted, R.F., Wallace, D.H. (1973). The influence of flower removal on growth and seed yield of *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 98:45-49.
- Wrolstad, R. E., Robert, W. D., and Jungmin, L. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in food science and technology.* 16: 423-428.
- Wrolstad, R.E., Hong, V., Noyles, M.J., and Durst, R.W. (1995). Use of anthocyanin pigment analysis for detecting adulteration in fruit juices. In *Methods to Detect Adulteration in Fruit Juice and Beverages*, Vol. I (S. Nagy and R.L. Wade, ed.). AgScience Inc., Auburndale, Fla.
- Yamamoto, T., Nishikawa, A. and Oeda, K. (1994). DNA polymorphism in *Oryza sativa* L. and *Lactuca sativa* L. amplified by arbitrary primed PCR. *Euphytica* 78: 143-148.
- Yu, L.-X and Nquyen, H.T. ( 1994 ). Genetic variation detected with RAPD markers among upland and lowland rice (*Oryza sativa* L. ) *Theor. Appl. Genet.* 87 : 668-672.

**บทที่ 3**  
**อิทธิพลของ NAA และการให้น้ำต่อการติดฝักและเมล็ด**  
**ในกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.)**

**บทคัดย่อ**

กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการติดฝัก และติดเมล็ดน้อย เป็นอุปสรรคต่อการขยายพันธุ์ ได้ทำการทดลองเพื่อศึกษาอิทธิพลของ NAA การให้น้ำ ต่อการติดฝัก และการติดเมล็ดของกวาวเครือแดง ทำการทดลองที่ อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา ในปี 2547-2548 วางแผนการทดลองแบบ  $2^2$  factorial in RCBD 2 ซ้ำ (1 ซ้ำ มี 40 sub sampling) มี 2 ปัจจัยคือ 1) NAA ให้ NAA ที่ความเข้มข้น 100 ppm และไม่ให้น้ำ 2) น้ำ ให้น้ำ และไม่ให้น้ำ พบว่า การให้น้ำทำให้กวาวเครือแดงมีความยาวช่อดอกสูงสุด (36.35 เซนติเมตร) และจำนวนเมล็ดต่อฝักสูงสุด (1.15 เมล็ดต่อฝัก) การฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำ ให้จำนวนฝักต่อช่อดอกมากที่สุด (5.10 ฝักต่อช่อดอก) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกวาวเครือแดงที่ไม่ได้ฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการไม่ให้น้ำ (1.00 ฝักต่อช่อดอก) การฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำไม่มีผลต่อน้ำหนัก 100 เมล็ด การฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำ ทำให้การติดฝักและเมล็ดในกวาวเครือแดงเพิ่มมากขึ้น จากการเปรียบเทียบลักษณะทางกายวิภาคภายนอกของเมล็ดสมบูรณ์และเมล็ดไม่สมบูรณ์ที่ได้จากการสุ่ม และจากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด พบว่าเมล็ดสมบูรณ์มีผิวเปลือกเมล็ดค่อนข้างเรียบ embryo มีขนาดใหญ่ ปลายยอด และปลายรากมีขนาดใหญ่ กลุ่มเซลล์มีลักษณะเต่ง มีอาหารสะสมเต็มเซลล์ ส่วนเมล็ดไม่สมบูรณ์ มีผิวเปลือกเมล็ดไม่เรียบ embryo มีขนาดเล็ก ปลายยอดและปลายรากไม่สมบูรณ์ กลุ่มเซลล์เหี่ยวแบน มีอาหารสะสมน้อย การเลือกเมล็ดกวาวเครือแดงที่สมบูรณ์ไปขยายพันธุ์น่าจะให้ได้ต้นอ่อนที่มีประสิทธิภาพและแข็งแรง

## บทนำ

กวางเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่ได้รับความสนใจจากประชาชน แก้อาการอ่อนเพลีย ผอมแห้งแรงน้อย กินไม่ได้นอนไม่หลับ แก้ปวดเมื่อยตามกล้ามเนื้อของร่างกาย บำรุงเส้นผม บำรุงร่างกาย บำรุงฮอร์โมนเพศชาย (ธนารักษ์ รักศิลป์, 2537) ปัจจุบันมีการผลิตกวางเครือแดงออกมาจำหน่ายในรูปของผลิตภัณฑ์ต่าง เช่น ยาแคปซูลสมุนไพร และอยู่ในรูปเจล ในปี พ.ศ. 2542 ได้มีการประกาศให้กวางเครือแดงเป็นพืชสงวน (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2542) เพื่อเป็นการป้องกันการสูญพันธุ์ และการส่งกวางเครือแดงออกไปขายยังต่างประเทศ เช่น ประเทศเยอรมัน ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา มีการขุดหัวกวางเครือแดงที่มีอยู่ตามธรรมชาติมากขึ้น และมีการแผ้วถางพื้นที่ป่าเพื่อการเกษตรมากขึ้น กวางเครือแดงที่เจริญเติบโตอยู่ในธรรมชาติจึงลดน้อยลงอย่างรวดเร็ว กวางเครือแดงติดฝักน้อย และติดเมล็ดต่อฝักน้อย เป็นปัญหาต่อการขยายพันธุ์ อุณหภูมิ และความชื้นในดินเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดต่อการเจริญเติบโตของรังไข่ กัททะ หากมีการผสมเกสร และการปฏิสนธิเกิดขึ้น แต่พืชมีการขาดน้ำ เมล็ดจะไม่มีการพัฒนา ทำให้ไม่ติดเมล็ด (จงจันทร์ ดวงพัตรา, 2529) การฉีดพ่นช่อดอกมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วย NAA 100-200 ppm ทำให้การติดผลเพิ่มมากขึ้น (นภดล จรัสสัมฤทธิ์, 2537) Medhi and Borbora (2002) พบว่าการฉีด French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ด้วย NAA 10 และ 15 มก./ล. ทำให้มีการติดฝักเพิ่มขึ้นในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาอิทธิพลของ NAA และการให้น้ำต่อการติดฝัก และการติดเมล็ดของกวางเครือแดง เพื่อการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ปลูกเป็นพืชเศรษฐกิจต่อไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

1. อิทธิพลของ NAA และการให้น้ำต่อการติดฝักในกวางเครือแดง ทำการทดลองที่ อำเภอรังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา โดยใช้ต้นกวางเครือแดงที่เจริญเติบโตอยู่ในธรรมชาติ เลือกต้นที่มีอายุ และลักษณะใกล้เคียงกันมากที่สุด วางแผนการทดลองแบบ  $2^2$  factorial in RCBD 2ซ้ำ (1 ซ้ำ มี 40 subsampling) มี 2 ปัจจัยคือ 1) NAA พ่น NAA ที่ความเข้มข้น 100 ppm และไม่ให้ NAA 2) น้ำ ให้น้ำ และไม่ให้ น้ำ จัดเป็น 4 ทริตเมนต์ ฉีด NAA 3 ครั้ง คือ ครั้งแรกวันที่ 24 พฤศจิกายน 2547 ครั้งที่ 2 วันที่ 15 ธันวาคม 2547 และครั้งที่ 3 วันที่ 24 ธันวาคม 2547 การให้น้ำ จะให้น้ำตามทริตเมนต์จับกลุ่ม โดยให้วันเว้นวัน ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2547 ถึงเดือน มีนาคม 2548



เก็บข้อมูลแบบตัวอย่างย่อย (subsampling) จำนวน 2 บล็อก 2 ต้น/ บล็อก และหาค่าเฉลี่ยของแต่ละบล็อก โดยเก็บข้อมูลดังนี้

- 1) นับจำนวนฝักต่อช่อดอก โดยการสุ่มช่อดอก 40 ช่อ
- 2) วัดความยาวช่อดอก โดยการสุ่มช่อดอก 40 ช่อ
- 3) นับจำนวนเมล็ดต่อฝัก โดยการสุ่มช่อดอก 40 ช่อ
- 4) น้ำหนัก 100 เมล็ด สุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ด 100 เมล็ดจากแต่ละต้นมาชั่งน้ำหนัก

การวิเคราะห์ว่าเรียนซ์ ANOVA โดยใช้โปรแกรม spss version 13.00 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

ตารางที่ 3.1 แสดงการจัดทรีตเมนต์ทดลองแบบ  $2^2$  Factorial in RCBD

ทรีตเมนต์	วิธีการทดลอง
ทรีตเมนต์ 1	(T1) กลุ่มควบคุม (ไม่ให้ NAA + ไม่ให้น้ำ)
ทรีตเมนต์ 2	(T2) ไม่ให้ NAA100 ppm + ให้น้ำ
ทรีตเมนต์ 3	(T3) ให้ NAA100 ppm + ไม่ให้น้ำ
ทรีตเมนต์ 4	(T4) ให้ NAA100 ppm + ให้น้ำ

## 2. เปรียบเทียบลักษณะทางกายวิภาคเมล็ดกวาวเครือแดงที่สมบูรณ์ และเมล็ดไม่สมบูรณ์

ทำการทดลองห้องปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (F1) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทำการทดลอง เดือนมีนาคม- เดือนสิงหาคม 2548 โดยรวบรวมเมล็ดกวาวเครือแดงที่เจริญเติบโตตามธรรมชาติ สุ่มตัวอย่างเมล็ด และแบ่งเมล็ดออกเป็น 2 ซ้ำ ๆ 50 เมล็ด ปล่อยให้เมล็ดแห้ง นำเมล็ดที่ได้จากการสุ่มมาคัดแยกเมล็ดสมบูรณ์ และไม่สมบูรณ์ ออกจากกัน โดยสังเกตจากลักษณะภายนอกของเมล็ด ขนาดเมล็ด ผิวเปลือกเมล็ด นำเมล็ดที่สมบูรณ์ และไม่สมบูรณ์ ไปผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ โดยการผ่าเมล็ดออกเป็น 2 ซีก แล้วบันทึกภาพลักษณะของ embryo ปลายยอด และปลายราก นำตัวอย่างเมล็ดกวาวเครือที่ใช้ในการบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (ตัวอย่างเดิม) มาเตรียมตัวอย่างใหม่เพื่อดูลักษณะของเซลล์สะสมอาหารภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscope : SEM) และบันทึกภาพ โดยการตัดส่วนของเมล็ด ให้มีขนาด 0.5 ตารางเซนติเมตร นำไปทำ critical point drying (CPD) ด้วย  $\text{CO}_2$  เก็บตัวอย่างไว้ในตู้ดูดความชื้น นำตัวอย่างติดบน stub ฉาบผิวตัวอย่างด้วย

ทอง (Au) นาน 2 นาที เพื่อป้องกันการ charge up นำตัวอย่างที่ได้ไปถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด นำภาพที่ได้เปรียบเทียบกับลักษณะของเซลล์สะสมอาหารระหว่างเมล็ดสมบูรณ์ และเมล็ดไม่สมบูรณ์

## ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

### 1 อิทธิพลของNAA และการให้น้ำต่อการติดฝัก และการติดเมล็ดของกวางเครือแดง

#### 1.1 ความยาวช่อดอก

NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำทำให้ความยาวช่อดอกยาวที่สุด (36.35 เซนติเมตร) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับไม่ฉีดNAA 100 ppm ร่วมกับการไม่ให้น้ำ และการฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการไม่ให้น้ำ มีความยาวช่อดอกสั้นที่สุด (26.9 เซนติเมตร) และ (27.1 เซนติเมตร) ตามลำดับ (ภาพที่ 3.1) ดังเช่นการศึกษาของ Ruhi *et al.*, (2006) พบว่าการให้น้ำทำให้ช่อดอกของ แกลดิโอลัสยาวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

#### 1.2 จำนวนฝักต่อช่อดอก

การฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำทำให้จำนวนฝักต่อช่อดอกสูงสุด (5.1 ฝักต่อช่อดอก) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ กับกวางเครือแดงที่ไม่ได้ฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการไม่ให้น้ำ และฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการไม่ให้น้ำ ซึ่งมีจำนวนฝักต่อช่อดอกเท่ากับ 1.0 ฝักต่อช่อดอก และ 2.0 ฝักต่อช่อดอก ตามลำดับ (ภาพที่ 3.2) สอดคล้องกับการศึกษาของ Begum and Takeshi (2002) ที่พบว่าการพ่น figaron ความเข้มข้น  $100\text{mg l}^{-1}$  ซึ่งเป็น NAA ทำให้ถั่วเหลือง 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ *Fukushirome* และ *Miyagishirome* มีจำนวนฝักต่อต้นสูงกว่ากลุ่มควบคุม และกวางเครือแดงที่ไม่ได้ฉีด NAA ร่วมกับการให้น้ำ มีจำนวนช่อดอกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ กับกวางเครือแดงที่ไม่ได้ฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการไม่ให้น้ำ คือมีจำนวนฝักต่อช่อดอกเท่ากับ 4.25 และ 1.0 ฝักต่อช่อดอก ตามลำดับ (ภาพที่ 3.2) Egli and Yu (1991) พบว่าถั่วเหลืองที่ออกดอกในสภาพแห้งแล้ง ทำให้จำนวนฝักลดลง Xia, (1997) and Loss (1997) พบว่าการขาดน้ำในช่วงสืบพันธุ์ของถั่วแห้ง (dry beans) ทำให้ จำนวนฝักลดลง พีรเดช ทองอำไพ (2537) รายงานไว้ว่าปัจจัยที่มีความสำคัญ และมีบทบาทมากในการควบคุมการติดผลของพืช คืออาหารสะสมในต้นพืช ถ้าต้นพืชมีความสมบูรณ์โอกาสติดผลก็มีมาก และถ้ามีการให้สารควบคุมการเจริญเติบโตควบคู่กับต้นพืชที่มีความสมบูรณ์สูง ก็จะประสบผลสำเร็จมากกว่าต้นพืชที่ไม่สมบูรณ์ ฉะนั้นน้ำเป็นปัจจัย

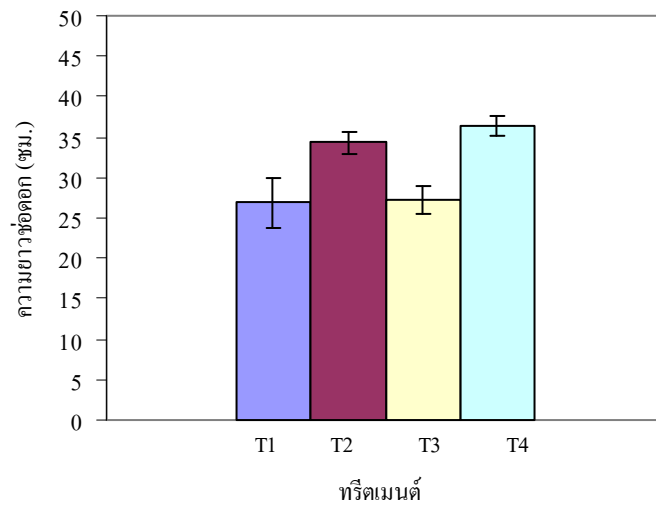
สำคัญในการละลายธาตุอาหารในดินเพื่อการดูดนำไปใช้ของพืชในการเจริญเติบโต และพัฒนาการของพืช รวมทั้งการติดฝักด้วย

### 1.3 จำนวนเมล็ดต่อฝัก

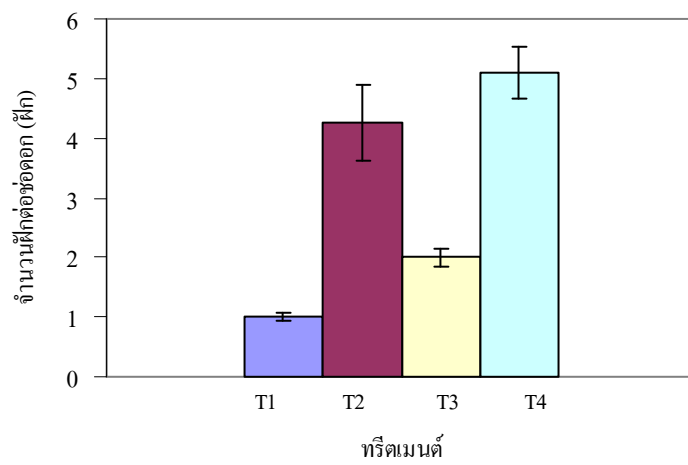
การฉีด NAA 100 ppm ไม่มีผลต่อจำนวนเมล็ดต่อฝัก แต่การให้น้ำมีผลต่อจำนวนเมล็ดต่อฝัก การฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับให้น้ำ มีเมล็ดต่อฝักเฉลี่ยสูงสุด (1.15 เมล็ดต่อฝัก) (ภาพที่ 3.3) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับการฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับไม่ให้น้ำ (0.93 เมล็ดต่อฝัก) และไม่ฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับไม่ให้น้ำ (0.97 เมล็ดต่อฝัก) (ภาพที่ 3.3) จวงจันทร์ ดวงพัตรา (2529) รายงานว่า ในระหว่างการติดเมล็ดและการเจริญเติบโตของคัพภะ และรังไข่ ความชื้นในดินเป็นปัจจัยที่สำคัญ หากมีการผสมเกสร และการปฏิสนธิเกิดขึ้นแล้วพืชขาดน้ำ หรืออุณหภูมิสูง หรือต่ำเกินไปเมล็ดจะไม่มีการพัฒนา มีผลทำให้ไม่ติดเมล็ด การฝ่อและการหยุดเจริญของเมล็ด เกิดขึ้นในขณะใดก็ได้ในระหว่างการพัฒนาของเมล็ด ซึ่งจะปรากฏเป็นเม็ดเล็กๆในโพรงเมล็ดของฝักในพืชตระกูลถั่ว ในกรณีที่เมล็ดฝ่อและเมล็ดหยุดการเจริญ พบว่าแนวโน้มน้ำหนักเมล็ด หรือออรูลที่อยู่ในตำแหน่งใกล้ขั้วฝัก มีโอกาสฝ่อมากที่สุด (วันชัย จันทร์ประเสริฐ , 2542 ) Kato, (1964); Westgate and Peterson, (1993) พบว่าการขาดน้ำของพืชถือเป็นปัจจัยสำคัญ โดยเฉพาะในช่วงการออกดอก จะทำให้อัตราการฝ่อเมล็ดของพืชเพิ่มมากขึ้น

### 1.4 น้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ด

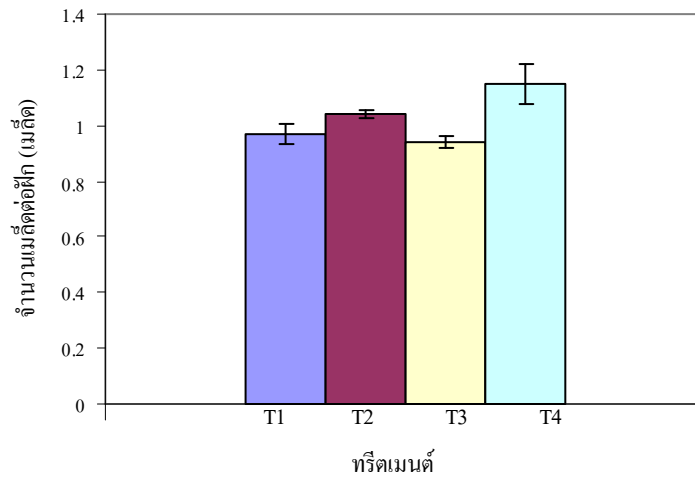
การฉีดพ่น NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำกับกวางเครือแดง ไม่มีผลต่อน้ำหนัก 100 เมล็ด ทุกการทดลองให้น้ำหนัก 100 เมล็ดอยู่ในช่วงระหว่าง 146.8-140.2 กรัม (ภาพที่ 3.4) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่พบว่าทริตเมนต์ที่ให้น้ำมีแนวโน้มน้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ดสูงสุด (146.8 g) สอดคล้องกับ Abelardo (2004) ที่พบว่าถั่วแฉะ (*Phaseolus vulgaris* L.) ที่เจริญเติบโตในสภาวะเครียด จะมีขนาดเมล็ด และน้ำหนักเมล็ดลดลง



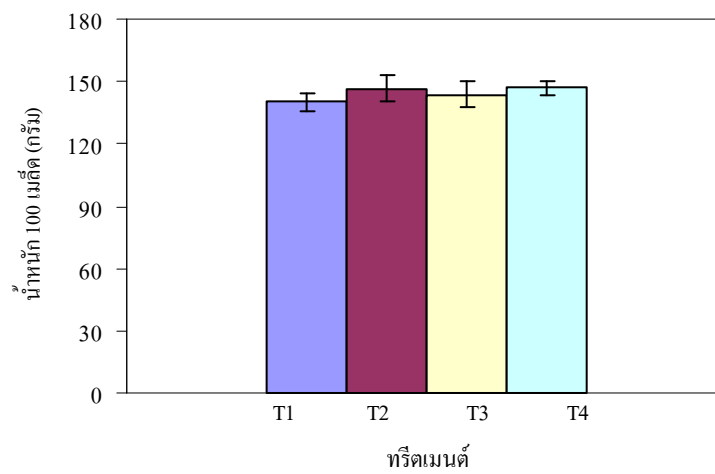
ภาพที่ 3.1 ความยาวช่อดอก (I= SD)



ภาพที่ 3.2 จำนวนฝักต่อช่อดอก (I= SD)



ภาพที่ 3.3 จำนวนเมล็ดต่อผล (I= SD)



ภาพที่ 3.4 น้ำหนัก 100 เมล็ด (I= SD)

## 2. เปรียบเทียบลักษณะทางกายวิภาคของเมล็ดถั่วเขียวที่เมล็ดสมบูรณ์ และเมล็ดไม่สมบูรณ์

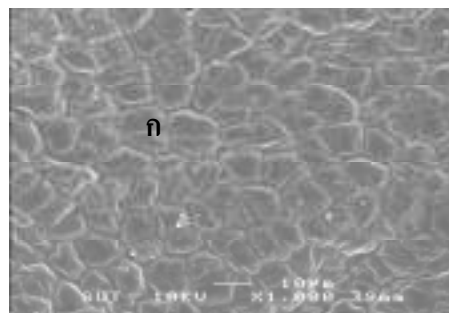
จากการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของเมล็ดที่สมบูรณ์และเมล็ดไม่สมบูรณ์ ได้แก่ ผิวเปลือกของเมล็ด embryo ปลายยอด และปลายราก ศึกษาจากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ และลักษณะของกลุ่มเซลล์ ศึกษาจากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ดังนี้

### 2.1 เมล็ดสมบูรณ์

เมล็ดสมบูรณ์ คือ เมล็ดใหญ่ ก่อนข้างเต่ง ลักษณะผิวภายนอกของเมล็ดค่อนข้างเรียบ เมื่อศึกษาโครงสร้างภายในเมล็ดจากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ พบว่า embryo มีขนาดใหญ่ ส่วนของปลายยอด และปลายรากมีขนาดใหญ่สมบูรณ์สังเกตเห็นได้ชัดเจน (ภาพที่ 3.5) และจากการศึกษาภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด พบว่ากลุ่มเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบในใบเลี้ยง (cotyledon) มีลักษณะเต่ง สมบูรณ์ มีอาหารสะสมเต็มเซลล์ (ภาพที่ 3.6)



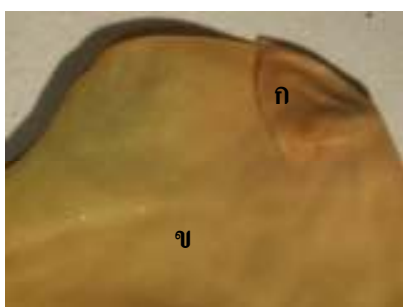
ภาพที่ 3.5 โครงสร้างของเมล็ดสมบูรณ์  
(ก) embryo (ข) cotyledon



ภาพที่ 3.6 โครงสร้างของเมล็ดสมบูรณ์  
(ก) กลุ่มเซลล์สะสมอาหาร

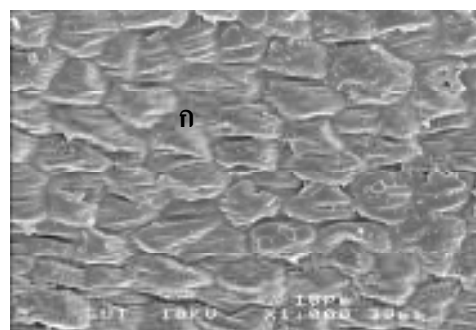
## 2.2 เมล็ดไม่สมบูรณ์

เมล็ดไม่สมบูรณ์ คือ เมล็ดเล็ก สิบ ลักษณะผิวภายนอกของเมล็ดไม่เรียบ เมล็ดเหี่ยวยุบมาก เมื่อศึกษาโครงสร้างภายในเมล็ดจากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ พบว่า embryo มีขนาดเล็ก มีรอยยุบ ส่วนของปลายยอด และปลายรากไม่สมบูรณ์ ไม่เต่ง (ภาพที่ 3.7) และจากการศึกษาภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด พบว่ากลุ่มเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบในใบเลี้ยง (cotyledon) มีลักษณะเหี่ยว มีอาหารสะสมน้อยไม่เต็มเซลล์ (ภาพที่ 3.8)



ภาพที่ 3.7 โครงสร้างของเมล็ดไม่สมบูรณ์

(ก) embryo (ข) cotyledon



ภาพที่ 3.8 โครงสร้างของเมล็ดไม่สมบูรณ์

(ก) กลุ่มเซลล์สะสมอาหาร

## สรุปผลการวิจัย

การฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำ ทำให้มีจำนวนฝักต่อช่อดอกมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ฉีด NAA และไม่ให้น้ำ โดยเฉพาะการให้น้ำทำให้มีความยาวช่อดอกสูงสุด และการฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำ มีจำนวนเมล็ดต่อฝักสูงสุด จากการศึกษากายวิภาคของเมล็ดสมบูรณ์พบว่า มีผิวเปลือกเมล็ดค่อนข้างเรียบ embryo มีขนาดใหญ่ กลุ่มเซลล์สะสมอาหารแต่ง แตกต่างกับเมล็ดไม่สมบูรณ์ที่มีผิวเปลือกเมล็ดไม่เรียบ embryo มีขนาดเล็ก กลุ่มเซลล์ห่อหุ้ม ดังนั้นน้ำจึงเป็นปัจจัยสำคัญต่อการติดฝักและเมล็ดของกวางเครือแดง จึงควรศึกษาอิทธิพลของน้ำต่อความสมบูรณ์ของเมล็ด เพื่อการผลิตเมล็ดกวางเครือแดงให้มีประสิทธิภาพต่อไป



## รายการอ้างอิง

- จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. (2542). จุฬาฯ ผลักดันให้กวางเครือขาว และกวางเครือแดง เป็นพืชสงวน [ออนไลน์]. ได้จาก <http://www.chula.ac.th/curel/1999/apr-16-1999/cusoc.html>
- จวงจันทร ดวงพัตรา. (2529). เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 210 หน้า.
- ธนาริป์ รักศิลป์. (2537). องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวางเครือแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ (เคมี). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นภดล จรัสสัมฤทธิ์. (2537). สอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. โรงพิมพ์ สหมิตรออฟเซต. กรุงเทพฯ. 128 หน้า.
- พีรเดช ทองอำไพ. (2537). สอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 196 หน้า.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ. (2547). สถิติแผนการทดลองและการวิเคราะห์. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. (2544). สรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วันชัย จันทรประเสริฐ. (2542). เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืชไร่. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 213 หน้า.
- Adrian, A., Franke, L.J, Custer, C.A. and Suzanne, P. (2004). Vitamin C and Flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii Journal of food composition and analysis 17: 1-35.
- Abelardo, N.B. (2004). [On-line]: Available: <http://www.Scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S0103-90162005000100004&In>.
- Begum, S.N. and Takeshi, L. (2002). Effect of different concentrations of figaron on production and abscission of reproductive organs, growth, and yield in soybean (*Glycine max* L.) Field Crops Research. 78: 41-50.
- Carlson, D.R., Dyer, D.J., Cotterman, C.D. and Durley ,R.C. (1987). The physiological basis for cytokinin induced increases in pod set in IX 93-100 soybeans. Plant Physiol. 84:233-239.

- Hopkin, W.G. (1999). Introduction of plant physiology. 2<sup>nd</sup> e. The University of Western Ontario. USA.
- Kato, I. (1964). Histological and embryological studies on fallen flowers, pods and abortive seeds in soybean, (*Glycine max* L.). Tokai- Kinki Natl. Agric. Exp. Stn. Bull. 11: 1-52.
- Liu, F., Andersen, M.N. and Jensen C.R. (2003). Loss of pod set caused by drought stress is associated with water status and ABA content of reproductive structures in soybean. *Functional Plant Biology*. 30: 271-280.
- Loss, S.P and Siddique, K.H.M. (1997). Adaptation of faba bean (*Vicia faba* L.) to dry land Mediterranean type environment. I. Seed yield components. *Field Crops Research*. 54: 17-28.
- Medhi, A.K. and Borbora, T.K. (2002). Effect of Growth Regulators on the Dry Matter Production, Flower Initiation and Setting of French Bean (*Phaseolus vulgaris* L. Res. On Crops.3 (1): 119-122
- Raper, C.D. and Kramer, P.J. (1987). In Kokubun, M., Shimada, S. and Takahashi, M. (2001). Flower abortion caused by preanthesis water deficit is not attributed to impairment of pollen in soybean. *crop science*. 41: 1517-1521.
- Ober, E.S., Setter, T.L, Madison, J.T., Thompson, J.F. and Shapiro, P.S. (1991). Influence of water deficit on maize endosperm development. Enzyme activities and RNA transcripts of starch and zein synthesis, abscisic acid, and cell division. *Plant physiology*. 97: 154-164.
- Ruhi, B., Osman, K.A., Koksai, A. and Dursun, B. (2006). The effects of drip irrigation on flowering and flower quality of glasshouse gladiolus plant. *Agricultural water management* 81 (1-2):132-144.
- Westgate, M.E. and Peterson. C.M. (1993). Flower and pod development in water- deficient soybeans (*Glycine max* L. Merr.). *J. Exp. Bot*. 258: 109-117.
- Westgate, M.E., Passioura, J.B. and Munns, R. (1996). Water status and ABA content of floral organs in drought stress wheat. *Australian Journal of Plant Physiology*. 23: 763-772.
- Xia, M.Z. (1997). Effect of soil drought during the generative development phase on seed yield and nutrient uptake of faba bean (*Vicia faba* L.) *Australian Journal of Agricultural Research*. 48: 447-451.

## บทที่ 4

### การเจริญและการพัฒนาของกวางเครือแดง (*Butea superba* Roxb.)

#### ในรอบปี (phenological cycle)

#### บทคัดย่อ

กวางเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) เป็นพืชที่เจริญเติบโตในสภาพพื้นที่ที่เป็นภูเขา มีความลาดชันไม่เกิน 20 องศา หรือเป็นเนินเขาและที่ราบสลับกันอยู่ทั่วไป ที่อยู่เหนือระดับน้ำทะเล ประมาณ 300-700 เมตร การศึกษาทางด้านการเจริญเติบโตและการพัฒนาของกวางเครือแดงในรอบปี (phenological cycle) โดยมาหาความสัมพันธ์กับสภาพภูมิอากาศ จะเป็นประโยชน์ต่อการปลูกกวางเครือแดงเป็นพืชเศรษฐกิจ การศึกษาการเจริญและการพัฒนาของกวางเครือแดงที่เกิดขึ้นในรอบปี ทำการทดลองโดยคัดเลือกต้นกวางเครือแดง ที่ อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา จำนวน 10 ต้น ที่มีการเจริญเติบโตในระยะเดียวกัน เริ่มศึกษาจากกลางเดือนมีนาคม 2547 ถึงกลางเดือนมีนาคม 2548 และนำระยะการเจริญและพัฒนามาหาความสัมพันธ์กับสภาพภูมิอากาศ พบว่ากวางเครือแดง มีการเจริญและการพัฒนา 5 ระยะ คือ ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน ระยะใบแก่ ระยะผลัดใบ ระยะออกดอก และระยะติดฝัก โดยกวางเครือแดงแตกเครือเถาและใบอ่อนปลายเดือนพฤศจิกายน ถึงต้นเดือนกุมภาพันธ์ ใบอ่อนพัฒนาเต็มที่ 100% ในต้นเดือนมิถุนายน ใบแก่เต็มที่ 100% ในปลายเดือนกันยายน หลังจากนั้นเริ่มผลัดใบในต้นเดือนตุลาคม และผลัดใบ 100% กลางเดือนพฤศจิกายน เริ่มออกดอกต้นเดือนพฤศจิกายน ออกดอก 100% ปลายเดือนกุมภาพันธ์ และฝักแก่ 100% กลางเดือนมีนาคม จากการนำการเจริญและการพัฒนาของกวางเครือแดง มาสัมพันธ์กับสภาพภูมิอากาศ พบว่าอุณหภูมิสูงสุด และปริมาณน้ำฝนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 หน่วย จาก 32.93 °ซ และ 0 มม./วัน ทำให้เปอร์เซ็นต์การแตกเครือเถาเพิ่มขึ้นหรือลดลง 9.98% และ 12.52% ตามลำดับ อุณหภูมิต่ำสุด และความชื้นสัมพัทธ์ลดลงหรือเพิ่มขึ้น 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% สภาพภูมิอากาศมีความสัมพันธ์กับการเจริญและการพัฒนาในรอบปีของกวางเครือแดง

## บทนำ

กวางเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) เป็นไม้เถาขึ้นต้นขนาดใหญ่ พบได้ทั่วไปในป่าเบญจพรรณทางภาคเหนือ ตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (เต็ม สมิตินันท์, 2523) อธิพงษ์ มานะเสถียร, (2545) พบว่ากวางเครือแดงที่ อ.สูงเม่น จ.แพร่ เจริญอยู่ในที่ดอน อยู่เหนือระดับน้ำทะเล 300–700 เมตร อากาศเย็นในฤดูหนาว และร้อนจัดในฤดูร้อน อุณหภูมิเฉลี่ยรายปี 26 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝน 1300 มิลลิเมตร/ปี การศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของกวางเครือแดงในแต่ละระยะ เช่น ระยะออกดอกกับสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ มีผลต่อการออกดอก ดังในเงาะ และในมังคุด (Manakasem, 1995) ประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่า กวางเครือขาวแตกเครือเถาและใบอ่อนเริ่มตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม ระยะเจริญและพัฒนาของเครือเถาและใบตั้งแต่เดือนมีนาคม-กรกฎาคม ผลัดใบในเดือนตุลาคม-กุมภาพันธ์ กวางเครือขาวเริ่มออกดอกตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ และเข้าสู่ระยะติดฝักจนพัฒนาเป็นเมล็ดในเดือนเมษายน ปริมาณน้ำฝนมีความสัมพันธ์กับการแก่ของฝัก อุณหภูมิสูงสุดมีความสัมพันธ์กับการเจริญและพัฒนาของใบ และความชื้นสัมพัทธ์มีความสัมพันธ์กับการผลัดใบ การศึกษาการเจริญและพัฒนาของกวางเครือแดงในธรรมชาติในรอบปี (phenological cycle) และทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงทางการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของกวางเครือแดงกับสภาพภูมิอากาศจะเป็นประโยชน์ต่อการเขตรกรรมกวางเครือแดงต่อไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

คัดเลือกต้นกวางเครือแดงที่อยู่ในธรรมชาติ ที่ อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา จำนวน 10 ต้น การเจริญเติบโตในระยะเดียวกัน ศึกษาการเจริญและการพัฒนาที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติของกวางเครือแดงในระยะเวลาหนึ่งปี

1 ศึกษาการเจริญเติบโตและการพัฒนาที่ระยะต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในรอบปี จากต้นกวางเครือแดงที่คัดเลือกและติดหมายเลขไว้ โดยศึกษาทุก ๆ 15 วัน ตั้งแต่กลางเดือนมีนาคม 2547 ถึง กลางเดือนมีนาคม 2548 รวบรวมข้อมูลการเจริญและการพัฒนาที่เกิดขึ้นของกวางเครือแดง โดยการประเมินด้วยสายตา แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละ

2 การรวบรวมข้อมูลสภาพภูมิอากาศที่กวางเครือแดงเจริญเติบโตอยู่ ได้แก่ ปริมาณน้ำฝน (มม.) ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์) อุณหภูมิสูงสุด และต่ำสุด (องศาเซลเซียส) จากสถานีวิจัย

สิ่งแวดล้อมสะแกกราช อ. วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา โดยใช้ค่าเฉลี่ยทุก ๆ 15 วัน (ภาพที่ 4.2) ตาม การศึกษาการเจริญเติบโตและพัฒนาของกวางเครือแดง นำมาหาความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโต และพัฒนาของกวางเครือแดงในรอบปี โดยหา correlation และ regression โดยใช้โปรแกรม spss version 13.0

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

### 1. การเจริญเติบโตและพัฒนาในรอบปีของกวางเครือแดง

การเจริญเติบโตและการพัฒนาของกวางเครือแดงในรอบปี มี 5 ระยะ คือ ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน ระยะใบแก่ ระยะผลัดใบ ระยะออกดอก และระยะติดฝัก มีรายละเอียดดังนี้

#### ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน

กวางเครือแดงแตกเครือเถา และใบอ่อนปลายเดือนพฤศจิกายน ถึงต้นเดือนกุมภาพันธ์ (ภาพที่ 4.1) สภาพภูมิอากาศเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำ ปริมาณน้ำฝนน้อย แห้งแล้ง (ภาพที่ 4.2) ภูมิอากาศดังกล่าวกระตุ้นให้กวางเครือแดงแตกเครือเถาและใบอ่อน ซึ่งเกิดขึ้นหลังจากที่กวางเครือแดงผลัดใบหมดทั้งต้น ลักษณะการแตกเครือใหม่จะแตกออกมาจากเครือเถาเดิม เครือเถาใหม่มีสีเขียวอมน้ำตาล และมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เลื้อยพันกับต้นไม้ที่อยู่ใกล้เคียง พร้อมกับมีการแตกและพัฒนาของใบอ่อนควบคู่ไป เครือเถาและใบอ่อนเจริญเต็มที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ต้นเดือนมิถุนายน (ภาพที่ 4.1) ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อนของกวางเครือแดงแตกต่างกับกวางเครือขาว พบว่ากวางเครือขาวเริ่มแตกเครือเถาและใบอ่อนเดือนกุมภาพันธ์ ใบอ่อนเพิ่มขึ้น 90-100 เปอร์เซ็นต์ เดือนเมษายน (ประสาร ฉลาดคิด, 2546)

#### ระยะใบแก่

ใบกวางเครือแดงเริ่มแก่ในกลางเดือนมิถุนายน และใบแก่เต็มที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ปลายเดือนกันยายน (ภาพที่ 4.1) การเปลี่ยนแปลงของกวางเครือแดงในช่วงนี้อยู่ในช่วงที่มีการตกของฝนสม่ำเสมอ และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูง (ภาพที่ 4.2) ระยะเวลาใบแก่ของกวางเครือแดงใกล้เคียงกับกวางเครือขาว ประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่ากวางเครือขาวใบเริ่มแก่เดือนมิถุนายน และแก่ 100 เปอร์เซ็นต์ เดือนพฤศจิกายน

### ระยะผลัดใบ

ระยะผลัดใบเริ่มต้นเดือนตุลาคม จะผลัดใบอย่างรวดเร็ว และผลัดใบ 100 เปอร์เซ็นต์ ในกลางเดือนพฤศจิกายน (ภาพที่ 4.1 และภาพที่ 4.5) ช่วงระยะเวลาที่กวางเครือแดงผลัดใบเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำ ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศต่ำ และฝนไม่ตก (ภาพที่ 4.2) จึงน่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การหลุดร่วงของใบกวางเครือขาวนั้น ความชื้นสัมพัทธ์เป็นปัจจัยที่สำคัญในการกระตุ้นการหลุดร่วงของใบ และอัตราการร่วงของใบของพืชหลายชนิดจะสูงขึ้นเมื่อพืชอยู่ในสภาพแห้งแล้ง และมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศต่ำ (Fisher and Khon, 1966)

### 1.4 ระยะออกดอก

กวางเครือแดงที่ใช้เป็นกลุ่มตัวอย่างในการศึกษา จำนวน 10 ต้น พบว่าออกดอกทั้ง 10 ต้น (ภาพที่ 4.7) เริ่มออกดอกต้นเดือนพฤศจิกายน ดอกเริ่มบานในปลายเดือนธันวาคม และออกดอก 100 เปอร์เซ็นต์ปลายเดือนกุมภาพันธ์ (ภาพที่ 4.1) การพัฒนาการของดอกเกิดขึ้นในช่วงที่มีความแตกต่างกันมากระหว่างอุณหภูมิต่ำสุดและอุณหภูมิสูงสุด ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศต่ำ และฝนไม่ตก แห้งแล้ง (ภาพที่ 4.2) ประกอบกับระยะเวลาในการออกดอกของกวางเครือแดงอยู่ระหว่างเดือนพฤศจิกายน ถึงเดือนกุมภาพันธ์ เป็นช่วงที่ระยะเวลากลางวันสั้นกว่ากลางคืน (ภาพที่ 4.3) สภาพแวดล้อมดังกล่าวน่าจะมีผลกระตุ้นต่อการออกดอกของกวางเครือแดงที่จัดเป็นพืชตระกูลถั่ว จึงจัดเป็นพืชวันสั้น เช่นเดียวกับพืชตระกูลถั่วทั่วไป ที่พบว่าถั่วเหลืองที่ปลูกในสภาพแวดล้อมที่มีความยาวแสงไม่เกิน 10 ชั่วโมง/วัน จะออกดอกเร็ว ถ้าได้รับแสงยาวกว่านี้จะออกดอกช้า และจะเจริญเติบโตทางกิ่งใบแทน (วิไลลักษณ์ ตั้งเจริญ, 2540) ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Garner and Allard (1920) ได้ศึกษาผลกระทบของช่วงวันต่อการออกดอกในถั่วเหลือง พบว่าถั่วเหลืองออกดอกระหว่างเดือนกันยายน ถึงเดือนตุลาคม เมื่อได้รับแสงลดลงต่ำกว่าช่วงวิกฤต จัดได้ว่าช่วงวันเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการเจริญและพัฒนาของพืช (Photoperiodism)

### 1.5 ระยะติดฝัก

กวางเครือแดงและเริ่มติดฝักในต้นเดือนมกราคม และติดฝัก 100 เปอร์เซ็นต์ในปลายเดือนกุมภาพันธ์ หลังจากนั้นฝักจะเจริญและพัฒนาอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 4.8) ฝักแก่กลางเดือนมีนาคม (ภาพที่ 4.1) ช่วงระยะเวลาที่กวางเครือแดงติดฝัก เป็นช่วงที่อุณหภูมิต่ำ ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศต่ำ และฝนไม่ตก (ภาพที่ 4.2) ระยะเวลาการติดฝักใกล้เคียงกับกวางเครือขาว ประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่ากวางเครือขาวติดฝักเดือนมีนาคม ฝักแก่เดือนเมษายน

## 2 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับการเจริญเติบโตของกวางเครือแดง

### 2.1 การแตกเครือเถาและใบอ่อน

อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝน มีความสัมพันธ์กับการแตกเครือเถาและใบอ่อน โดยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation) แสดงค่าความสัมพันธ์เท่ากับ 0.418\* 0.356\* และ 0.517\*\* ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) และสมการจากการวิเคราะห์ multiple linear regression ได้สมการดังนี้

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

$$r^2 = 0.54^*$$

แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุด และปริมาณน้ำฝน มีอิทธิพลต่อการเจริญและพัฒนาของเครือเถาและใบอ่อนของกวางเครือแดง 54 เปอร์เซ็นต์ และจากค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชันของอุณหภูมิสูงสุดคือ  $b = 9.982$  แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 องศาเซลเซียสจาก 32.93 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.2) ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การเจริญและพัฒนาของเครือเถาและใบอ่อนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 9.982 เปอร์เซ็นต์ และค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชันของปริมาณน้ำฝนคือ  $b = 12.521$  แสดงว่าปริมาณน้ำฝนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 มิลลิเมตรจาก 0 มิลลิเมตร ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การเจริญและพัฒนาของเครือเถาและใบอ่อนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 12.521 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิสูงสุด 32.93 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำฝนประมาณ 0 มิลลิเมตร (ภาพที่ 4.2) ทำให้กวางเครือแดงเริ่มแตกเครือเถาและใบอ่อน เช่นเดียวกับการศึกษาของชรินทร์ ว่างใจ และยุทธนา สมิตะสิริ (2530) ที่กล่าวว่า ในสภาพแห้งแล้ง น้ำน้อย อุณหภูมิในกลางวัน 30 - 37 องศาเซลเซียส ลำต้นของกวางเครือขาว จะยึดตัวอย่างรวดเร็ว

### 2.2 ใบแก่

อุณหภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์ต่างมีความสัมพันธ์กับการแก่ของใบ โดยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation) แสดงค่าความสัมพันธ์เท่ากับ -3.331\* และ 0.416\* ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) และสมการจากการวิเคราะห์ multiple linear regression ได้สมการดังนี้

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

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

แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุด ความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝนโดยรวม ไม่มีอิทธิพลกับการแก่ของใบกวางเครือแดง

### 2.3 ผลัดใบ

อุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน มีความสัมพันธ์กับการผลัดใบ โดยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation) แสดงค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ  $-0.878^*$   $-0.936^*$  และ  $-0.914^*$  ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) และสมการจากการวิเคราะห์ multiple linear regression ได้สมการดังนี้

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

$$r^2 = 0.99^*$$

แสดงถึงอุณหภูมิต่ำสุด และความชื้นสัมพัทธ์ มีอิทธิพลต่อการผลัดใบของกวางเครือแดง 99 เปอร์เซ็นต์ จากค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชันของอุณหภูมิต่ำสุดคือ  $b = -22.409$  แสดงว่าอุณหภูมิต่ำสุดลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 องศาเซลเซียส จาก 20.62 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4.2) ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบเพิ่มขึ้นหรือลดลง 22.409 เปอร์เซ็นต์ และค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชันของความชื้นสัมพัทธ์คือ  $b = -5.494$  แสดงว่าความชื้นสัมพัทธ์ลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 เปอร์เซ็นต์ จาก 89.87 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2) ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบเพิ่มขึ้นหรือลดลง 5.494 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิต่ำสุดประมาณ 20.62 องศาเซลเซียส และ ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 89.87 เปอร์เซ็นต์ กวางเครือแดงเริ่มผลัดใบ (ภาพที่ 4.2) สอดคล้องกับการผลัดใบของกวางเครือขาว ที่พบว่า ความชื้นสัมพัทธ์กับการผลัดใบมีความสัมพันธ์กัน (ประสาร จลาตคิด, 2546) Satoh (1982) กล่าวว่า การชราภาพและการหลุดร่วงของใบในต้นไม้ผลัดใบเป็นกลไกที่หลีกเลี่ยงสภาพแวดล้อมที่ผันแปรไปอย่างรุนแรง เช่น สภาพอากาศหนาว แสงไม่เหมาะสม และ Gates (1955) รายงานว่าการขาดน้ำระยะสั้น ๆ หรือความแห้งแล้งของอากาศ สามารถเร่งการชราภาพของใบได้

### 2.4 การออกดอก และพัฒนาการของดอก

อุณหภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝนมีความสัมพันธ์กับการออกดอกและพัฒนาการของดอก กวางเครือแดง โดยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation) แสดงค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ  $-0.481^*$  และ  $-0.490^*$  ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) และสมการการวิเคราะห์ multiple linear regression ได้สมการดังนี้

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

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

แสดงว่าอุณหภูมิต่ำสุด อุณหภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์ มีอิทธิพลต่อการออกดอกของกวางเครือแดง ซึ่งมีความเป็นไปได้ถึง 53.4 เปอร์เซ็นต์ จากค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชันของอุณหภูมิต่ำสุดคือ  $b = -8.948$  แสดงว่าอุณหภูมิต่ำสุดลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 องศาเซลเซียสจาก 19.02 องศา



เซลเซียส (ภาพที่ 4.2) ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.948 เปอร์เซ็นต์ ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชันของอุณหภูมิสูงสุดคือ  $b = 10.362$  แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 องศาเซลเซียสจาก 39.91 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4.2) ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 10.362 เปอร์เซ็นต์ และค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชันของความชื้นสัมพัทธ์ 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 (ภาพที่ 4.2) จะทำให้กวางเครือแดงออกดอก อุณหภูมิต่ำสุดมีผลต่อการชักนำให้เกิดตาดอกเช่นในมังคุด (Manakasem, 1995) เงาะ (Manakasem, 1995) และถ้าปริมาณน้ำฝนตกมากขึ้นจะทำให้การเกิดตาดอกและพัฒนาการของดอกลดลง เช่นเดียวกับเกิดในมังคุดและเงาะ

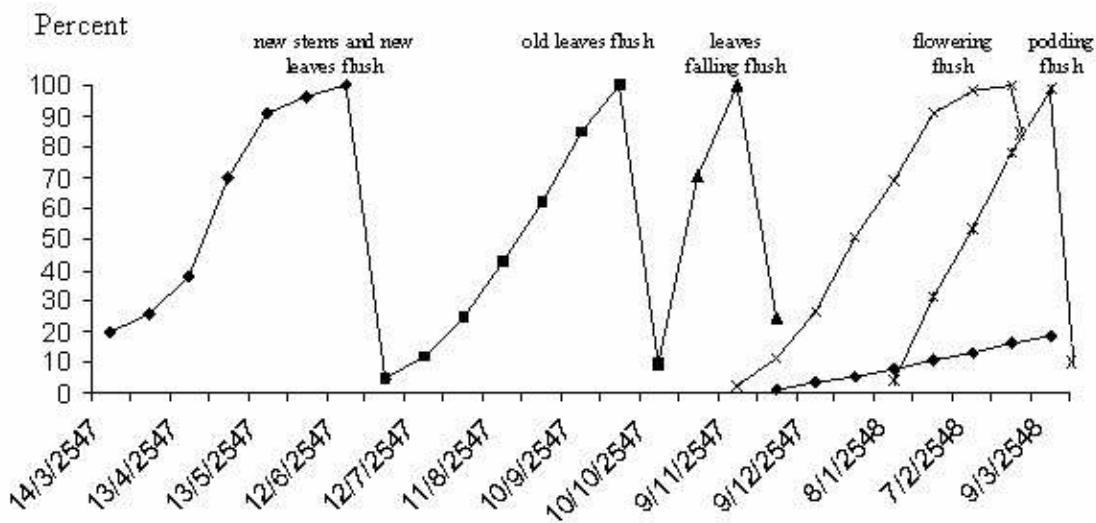
## 2.5 การติดฝัก

อุณหภูมิสูงสุด มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของฝักกวางเครือแดง โดยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation) แสดงค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ  $0.390^*$  (ตารางที่ 4.1) และสมการจากการวิเคราะห์ multiple linear regression ได้สมการดังนี้

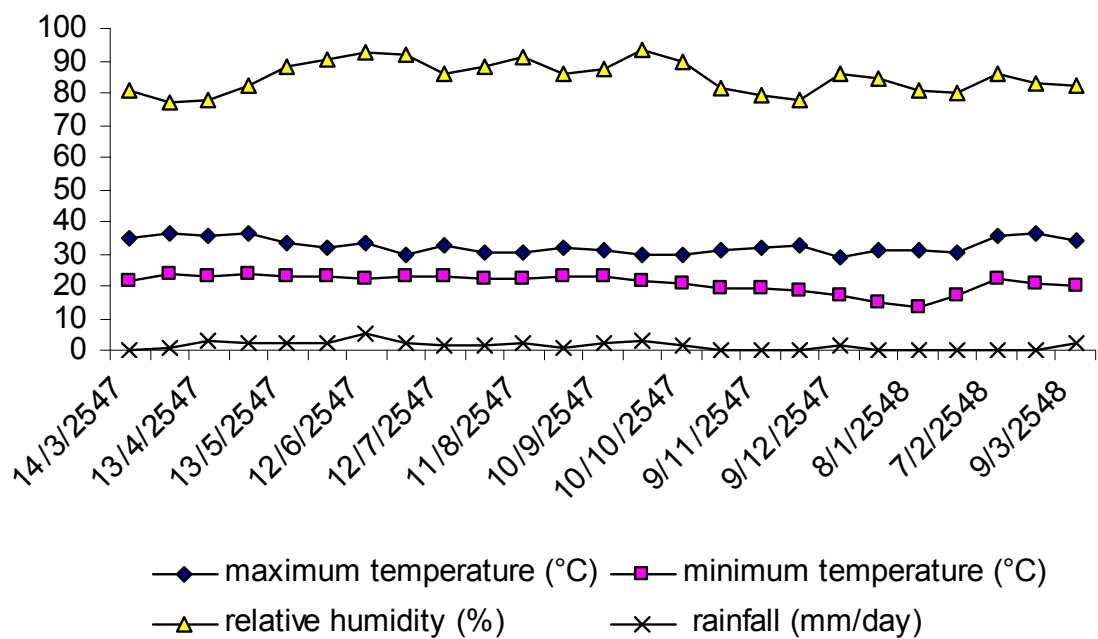
$$Y = -358.772 + 8.317^* \text{ max. temp} + 3.137^{\text{ns}} \text{ min. temp} + 2.200^{\text{ns}} \text{ rh} + (-2.361^{\text{ns}} \text{ rainfall})$$

$$r^2 = 0.278^*$$

แสดงถึงอุณหภูมิสูงสุด มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของฝักกวางเครือแดง 27.8 เปอร์เซ็นต์ และได้ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชันของอุณหภูมิสูงสุด คือ  $b = 8.317$  แสดงว่า เมื่ออุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 องศาเซลเซียสจาก 30.94 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4.2) ทำให้เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของฝักเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.317 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิสูงสุด 30.94 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4.2) จะทำให้กวางเครือแดงติดฝักและเจริญเติบโต ส่วนอุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์ และถ้าปริมาณน้ำฝนไม่มีอิทธิพลต่อการติดฝักของกวางเครือแดง อิทธิพลเหล่านี้จะมีส่วนเกี่ยวข้องกับ การเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและใบมากกว่าการเจริญเติบโตของฝัก



ภาพที่ 4.1 การเจริญเติบโตในรอบปีของถั่วเขียว



ภาพที่ 4.2 อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน

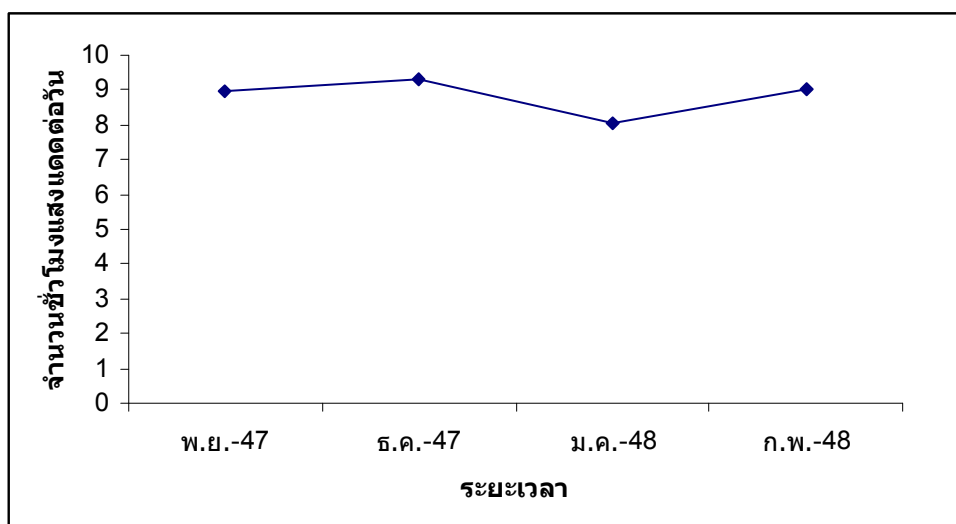
ตารางที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของกวางเครือแดงต่ออุณหภูมิสูงสุด – ต่ำสุด (องศาเซลเซียส) ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร) และความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)

สภาพภูมิอากาศ (เฉลี่ยทุก 15 วัน)	% การแตกเครือ เถาและใบอ่อน	% ใบแก่	% ผลัดใบ	% ออกดอก	% ติดฝัก
อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	0.418*	-0.331*	0.774 <sup>ns</sup>	0.177 <sup>ns</sup>	0.390*
อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	0.356*	0.290 <sup>ns</sup>	-0.878*	-0.481**	-0.070 <sup>ns</sup>
ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)	0.166 <sup>ns</sup>	0.416*	-0.936**	-0.244 <sup>ns</sup>	-0.174 <sup>ns</sup>
ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	0.517**	0.320 <sup>ns</sup>	-0.914*	-0.490**	-0.163 <sup>ns</sup>
$r^2$	0.54*	0.325 <sup>ns</sup>	0.99*	0.534**	0.278*

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

\* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 5 %

\*\* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ 1 %



ภาพที่ 4.3 จำนวนชั่วโมงแสงแดดต่อวัน โดยเฉลี่ยในเดือน พ.ย. 2547 – ก.พ. 2548



ภาพที่ 4.4 ต้นกวางเครือแดงที่เจริญเติบโตตามธรรมชาติ



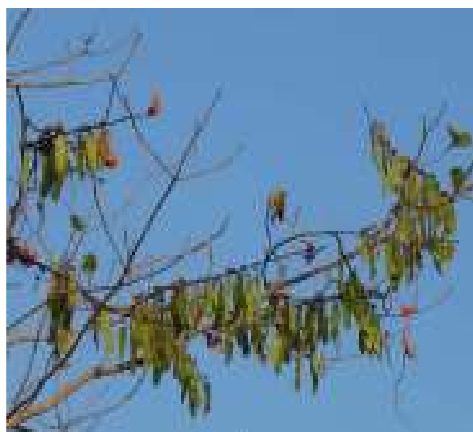
ภาพที่ 4.5 ระยะแตกเครือเถา ใบอ่อนของกวางเครือแดง และระยะผลัดใบ



ภาพที่ 4.6 ระยะใบแก่กวางเครือแดง



ภาพที่ 4.7 ระยะออกดอกของกาวเครือแดง



ภาพที่ 4.8 ระยะออกติดฝักของกาวเครือแดง

## สรุปผลการวิจัย

กวางเครือแดงมีการเจริญและพัฒนา 5 ระยะ คือระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน ระยะใบแก่ ระยะผลัดใบ ระยะออกดอก และระยะติดฝัก โดยที่กวางเครือแดงแตกเครือเถาและใบอ่อน 100% ต้นเดือนมิถุนายน ใบแก่ 100%ปลายเดือนกันยายน ผลัดใบ 100%กลางเดือนพฤศจิกายน ออกดอก 100%ปลายเดือนมีนาคม และฝักแก่ 100%กลางเดือนมีนาคม ซึ่งมีความสัมพันธ์กับสภาพภูมิอากาศ คือ อุณหภูมิสูงสุด และปริมาณน้ำฝนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 หน่วย จาก 32.93<sup>°ซ</sup> และ 0 มม./วัน ทำให้เปอร์เซ็นต์การแตกเครือเถาเพิ่มขึ้นหรือลดลง 9.98% และ 12.52% ตามลำดับ อุณหภูมิต่ำสุด และความชื้นสัมพัทธ์ลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 หน่วย จาก 20.62 <sup>°ซ</sup> และ 89.87% ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบเพิ่มขึ้นหรือลดลง 22.40% และ 5.49% ตามลำดับ อุณหภูมิต่ำสุดลดลง หรือเพิ่มขึ้น 1 หน่วย จาก 19.02 <sup>°ซ</sup> ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.94% อุณหภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 หน่วย จาก 31.91<sup>°ซ</sup> และ 79.13% ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 10.36% และ 3.83% ตามลำดับ อุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 <sup>°ซ</sup> จาก 30.94 <sup>°ซ</sup> ทำให้เปอร์เซ็นต์การติดฝักเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.31%

## รายการอ้างอิง

- ชวลิต นิยมธรรม. (2538). กวาวเครือ. อนุกรมวิธานพืช อักษร ก. ราชบัณฑิตยสถาน. กรุงเทพฯ: เพื่อนพิมพ์. 495 หน้า.
- ชรินทร์ วัจใจ และ ยุทธนา สมิตะสิริ. (2530). ชีวิตวิทยาบางประการของกวาวขาว: 5) การเจริญของ กวาวขาวในธรรมชาติ. ในเอกสารประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13. (หน้า 476-477) สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- เต็ม สมิตินันท์. (2523). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย: ชื่อพฤกษศาสตร์- ชื่อพื้นเมือง. กรมป่าไม้. กรุงเทพฯ. 379 หน้า.
- ประสาร ฉลาดคิด. (2546). อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การ ออกดอก การติดฝักและเมล็ด และการสะสมสาร Daidzein และ Genistein ในหัว กวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham]. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่พบในพื้นที่แตกต่างกันสองพื้นที่ ต่ออวัยวะสืบพันธุ์ พฤติกรรมการสืบพันธุ์ และการ แข็งตัวของอวัยวะเพศในหนูขาวเพศผู้ (*Rattus norvegicus*) วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. (2537). พฤกษศาสตร์. รั้วเขียว. กรุงเทพฯ. 277 หน้า.
- สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์. (2544). สรีรวิทยาการพัฒนากาแฟพืช. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.
- วิไลลักษณ์ ตั้งเจริญ. (2540). อนุกรมวิทยา. กรุงเทพฯ: อักษรพัฒนา.
- วันชัย จันทร์ประเสริฐ. (2537). สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 213 หน้า.
- อานันท์ กาญจนพันธุ์ และ มิ่งสรรพ์ ขาวสะอาด. (2538). วิวัฒนาการของการบุกเบิกที่ดินทำกินใน เขตป่า: กรณีศึกษาภาคเหนือตอนบน. กรุงเทพฯ. มูลนิธิสถาบันวิจัยเพื่อการพัฒนาประเทศ 13 หน้า.

- อชิพงษ์ มานะเสถียร. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่พบในพื้นที่ที่แตกต่างกันสองแห่ง ต่อ หัวใจ ตับ ไต และองค์ประกอบของเลือดในหนูขาวเพศผู้ (*Rattus norvegicus*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- Fisher, R.A. and Khon, G. D. (1996). The Relationship of Grain of Yield to Vegetative Growth and Post. Flowering Leaf Area in Wheat Crop under Condition of Limited Soil Moisture. *Aust. J. Agric. Res.* 17: 281-295.
- Garner, W. and Allard, H.A. (1920). Effect of length of ay on plant growth. *J. Agric. Res.*, 18: 55-606.
- 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.
- Manakasem, Y. (1995). Changes in apices and effect of microclimate on flora initiation of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) *Suranaree J. Sci. Technol.* 2: 15-20.
- Manakasem, Y. (1995). Changes in apices and effect of microclimate on flora initiation of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) *Suranaree J. Sci. Technol.* 2: 81-87.
- Nobel, P.S. (1988). *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Satoh, M. (1982). Effect of leaves retained at the tissue of harvest on regrowth and changes in their physiological activity in mulberry tree. *J. ARQ.* 15: 266-271.



## บทที่ 5

### การจำแนกสายพันธุ์กวางเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) โดยเทคนิค RAPD

#### บทคัดย่อ

กวางเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) เป็นพืชสมุนไพรที่เจริญเติบโตอยู่ตามธรรมชาติ จัดเป็นพืชตระกูลถั่วที่มีขนาดใหญ่ มีสรรพคุณทางยา เช่น รักษาอาการอ่อนเพลีย จึงทำให้มีการนำ กวางเครือแดงออกจากป่า และมีการแผ้วถางป่าที่มีกวางเครือแดงเจริญเติบโตอยู่เพื่อการเกษตร ทำให้กวางเครือแดงลดลงอย่างรวดเร็ว เพื่อเป็นการอนุรักษ์ สายพันธุ์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ ได้ศึกษาหา ความสัมพันธ์ของสายพันธุ์กวางเครือแดง โดยเทคนิค DNA fingerprint (random amplified polymorphic DNA, RAPD) ควบคู่กับการศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ของกวางเครือแดงใน 6 จังหวัด คือ นครราชสีมา บุรีรัมย์ ชัยภูมิ มหาสารคาม กาฬสินธุ์ และสกลนคร รวมสายต้น กวางเครือแดงทั้งหมด จำนวน 49 สายต้น ใช้ไพรเมอร์ RAPD จำนวน 40 ไพรเมอร์ สามารถ ตรวจจับดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 888 ตำแหน่ง เป็น polymorphic 813 ตำแหน่ง คิดเป็น 91.55% ของ ตำแหน่งดีเอ็นเอทั้งหมดเป็น monomorphic 75 ตำแหน่ง คิดเป็น 8.45% ของตำแหน่งดีเอ็นเอ ทั้งหมด ผลการคำนวณความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกวางเครือแดงด้วยโปรแกรม NTSYSpc version 2.10X คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (similarity coefficient) ด้วย Jaccard และจัด กลุ่ม dendrogram ด้วย unweighted pair group method using arithmetic means (UPGMA) ผลการ วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ระดับความใกล้ชิด 32% สามารถแยกได้ 2 กลุ่มใหญ่อย่าง ชัดเจน และพบว่าเป็นคนละสปีชีส์ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มตัวอย่างของกวางเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ซึ่งสามารถแยกเป็นกลุ่มย่อยได้อีก 2 กลุ่มที่ coefficient 70% กลุ่มย่อยที่ 1 ประกอบด้วย ตัวอย่างจาก จ. กาฬสินธุ์ และนครราชสีมา กลุ่มย่อยที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างจาก จ.นครราชสีมา และสกลนคร กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มตัวอย่างของเถาพันช้าย (*Spatholobus paeviflorus* [DC.] Kuntze) ที่สามารถแยกได้อีก 3 กลุ่มย่อยที่ coefficient 79% ประกอบด้วยตัวอย่างจาก จ.ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และ มหาสารคาม ตัวอย่างทั้งหมดที่นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้มีลักษณะที่ต่างกันทั้งสิ้น ยกเว้น C6 และ C7 ที่เหมือนกัน 100% ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่ coefficient 19% แยก ได้ 2 กลุ่มใหญ่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างจาก จ.นครราชสีมา กาฬสินธุ์ และสกลนคร กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างจาก จ.ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และมหาสารคาม

## บทนำ

กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) เป็นพืชที่เจริญเติบโตในสภาพที่เป็นภูเขา มีความลาดชันไม่เกิน 20 องศา มีเนินเขาและที่ราบสลับกันกระจายอยู่ทั่วไป อยู่เหนือระดับน้ำทะเลประมาณ 300-700 เมตร (อานันท์ กาญจนพันธุ์ และ มิ่งสรรพ ขาวสอาด, 2538) ดินเป็นดินร่วนปนทราย อากาศหนาวเย็นในฤดูหนาว และร้อนจัดในฤดูร้อน อุณหภูมิเฉลี่ยต่อปีประมาณ 26 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยต่อปีประมาณ 955.2 มม. ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 88.16% ในพื้นที่ลักษณะดังกล่าวจะพบกวาวเครือแดงอยู่ทั่วไป (สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช, 2542 อ้างโดย อธิพงษ์ มานะเสถียร, 2545) กวาวเครือแดงสามารถพบได้ในหลายแหล่ง เช่น จ.กาฬสินธุ์ นครราชสีมา ชัยภูมิ กวาวเครือแดงมีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไปตามท้องถิ่นต่าง ๆ เช่น กวาวเครือ (พ่ายัพ) จานเครือ (อีสาน) ตานจอมทอง (ชุมพร) โพ้ตะกู หรือโพตะกู (กะเหรี่ยง กาญจนบุรี) โพมีอ (กะเหรี่ยง แม่ฮ่องสอน) (เต็ม สมิตินันท์, 2523; ชวลิต นิยมธรรม, 2538 และ วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540) กวาวเครือแดงมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ทั่วไปดังนี้

ลำต้น เป็นไม้เถาขึ้นดิน ขนาดใหญ่ ในธรรมชาติลำต้นจะเลื้อยพันตามต้นไม้อื่น เนื้อไม้แข็ง และผลัดใบ ในสภาพกลางแจ้งลำต้นค่อนข้างตรง และเป็นพุ่มแทนการเลื้อยพัน (ชวลิต นิยมธรรม, 2538 และ วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540)

ใบ เป็นใบประกอบแบบฝ่ามือ ชนิดมีใบย่อยสามใบ ใบกลางมีปลายใบโค้งมน โคนใบเรียว ผิวด้านบนเรียบ ด้านล่างมีขนอ่อนสั้น ๆ ใบย่อยมีลักษณะเป็นรูปไข่ มีเส้นใบข้างละ ห้า ถึง เจ็ดเส้น ใบแข็งและหนา มีหลายขนาดตั้งแต่ขนาดเล็กถึงขนาดใหญ่ ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของดิน และสภาพป่า (สมบุญ เศรษฐัญญาวัฒน์, 2537 และ ชวลิต นิยมธรรม, 2538 )

ดอก เป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) มีช่อดอกเป็นแบบอินดิเทอร์มินาท (indeterminate inflorescence) ชนิด ราซิม (raceme) เกิดจากตาโคนใบที่ร่วงแล้ว ก้านดอกย่อยมีขนหนา ดอกที่อยู่ล่างสุดจะบาน และแก่ก่อนดอกที่อยู่เหนือขึ้นไป ก้านดอกย่อย (pedicel) ยาวใกล้เคียงกัน ดอกมีลักษณะคล้ายดอกแฉะ มีสีส้ม มีเกสรตัวผู้ (stamen) สิบอัน มีก้านเชื่อมติดกัน มีรังไข่ (ovary) เป็นชนิด superior ซึ่งจะวางอยู่เหนือฐานรองดอก (receptacle) ภายในรังไข่มีห้อง (locule) มีไข่ (egg) ตั้งแต่หนึ่งอันขึ้นไป ดอกของกวาวเครือแดงจะออกตามซอกกิ่งในระยะผลัดใบ (สมบุญ เศรษฐัญญาวัฒน์, 2537; ชวลิต นิยมธรรม, 2538; วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540 และ สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล, 2545)

ฝัก ฝักแบนรูปขอบขนานมีขนปกคลุม ฝักอ่อนเป็นสีเขียวเมื่อแก่เป็นสีน้ำตาล ฝักยาวประมาณ 10-15 ซม. แต่ละฝักมีเมล็ดสมบูรณ์หนึ่งเมล็ด (อรดี สหวัชรินทร์, 2541 และสิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล, 2545)

ราก เป็นรากสะสมอาหาร (tuberous roots) ที่แตกออกจากบริเวณโคนต้น เมื่อเกิดบาดแผลจะมียางสีแดงซึมออกมากล้ายเลือด (ชวลิต นิยมธรรม, 2538; โสภณ เริงสำราญ และคณะ, 2543 และสิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล, 2545) แต่ละรากมีลักษณะเรียวยาวคล้ายหัวมันสำปะหลัง หนึ่งหัวอาจยาวถึง 3 เมตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 5 นิ้ว ซึ่งขึ้นอยู่กับอายุของหัว

กวางเครือแดงสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพพื้นที่ดังกล่าว แต่ยังไม่ได้มีการศึกษาความแตกต่างของสายพันธุ์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ สภาพความแตกต่างของพื้นที่อาจจะมีผลต่อสายพันธุ์และการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม ซึ่งสภาพแวดล้อมและสภาพในเนื้อเยื่อของพืชเองมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของลักษณะทางสัณฐานวิทยา ถ้าพันธุ์พืชที่ศึกษานั้นมีแหล่งพันธุกรรมใกล้เคียงกันมาก หรือมีความแปรปรวน หรือมีความหลากหลายทางพันธุกรรมแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย จะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการศึกษาความสัมพันธ์ หรือการจำแนกพันธุ์ ปัจจุบันจึงนิยมใช้เทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้ในการจำแนกพันธุ์พืช โดยอาศัยความแตกต่างในระดับยีน หรือดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) เป็นเทคโนโลยีสมัยใหม่ที่ใช้ตรวจสอบความแตกต่างของจีโนมของสิ่งมีชีวิตได้อย่างรวดเร็วและครอบคลุมอย่างกว้างขวาง เป็นการเปรียบเทียบดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคต่าง ๆ ทางชีวโมเลกุล เนื่องจากดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตที่มีความจำเพาะสำหรับสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจึงเป็นลักษณะเฉพาะในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ซึ่งสามารถบอกลักษณะความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้เป็นอย่างดี และไม่เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2536) ดังเช่นการศึกษา Yu and Nguyen (1994) ใช้เทคนิค RAPD ในการตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าว (*Oryza sativa* L.) พบว่าจากการใช้ไพรเมอร์ 42 ชนิด ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอ 260 แถบ และ 80% ของแถบดีเอ็นเอเป็น polymorphism และ Katzir *et al.*, (1996) ใช้เทคนิค RAPD ในการจำแนก และจัดกลุ่มหญ้าไม้กวาด 5 ชนิด ใช้ไพรเมอร์ 31 ชนิด พบว่าได้แถบดีเอ็นเอ 86 แถบ สามารถแยกหญ้าไม้กวาดได้ 2 กลุ่ม ดังนั้น เทคนิค RAPD สามารถใช้จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของพืชได้

## วิธีดำเนินการวิจัย

ศึกษาถั่วเครือแดงที่เจริญเติบโตอยู่ตามธรรมชาติ ในจังหวัดนครราชสีมา ชัยภูมิ มหาสารคาม บุรีรัมย์ กาฬสินธุ์ และสกลนคร โดยสำรวจแหล่งถั่วเครือแดงจากผู้รู้ในท้องถิ่น แล้วคัดเลือกโดยการประเมินจากลักษณะภายนอก รวมทั้งสิ้น 49 ต้น จัดทำป้ายติดในแต่ละต้น ทำการจดบันทึกลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ได้แก่ ลำต้น รูปร่างใบ ฐานใบ ปลายใบ สีก้านใบ ขนใบ ราก ดอก และฝัก และคัดแยกสายพันธุ์ถั่วเครือแดงโดยใช้เทคนิค random amplified polymorphic DNA (RAPD) ทำการทดลองที่สถานีวิจัยพืชไร่ขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. การสกัด DNA วิธีการสกัดดีเอ็นเอ เป็นวิธีที่ดัดแปลงของ Li and Midmore (1999) ดังนี้

1.1 นำใบสดระยะใบเปสลาดที่ล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น เช็ดให้แห้ง และนำมา ประมาณ 0.025 กรัมใส่ในโกร่ง บดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ (2% CTAB, 0.1% Tris pH 8.0, 1% PVP-40T,  $\beta$ -Mercapto ethanol, 1.4 M NaCl) 9 มิลลิลิตร นำไป อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

1.2 เทน้ำคั้นลงในหลอดใหม่ และนำไปปั่นด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงที่ ความเร็วรอบ 12,000 rpm นาน 5 นาที

1.3 เทเฉพาะส่วนใสใส่หลอดใหม่

1.4 เติมสารละลาย chloroform : isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นแยกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm นาน 10 นาที

1.5 คูดสารสกัดเฉพาะส่วนใสใส่หลอดทดลองหลอดใหม่ แล้วนำไปอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

1.6 คูดสารสกัดเฉพาะส่วนใส 400 ไมโครลิตรใส่หลอดทดลองหลอดใหม่ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย iso-propanol 600 ไมโครลิตร เขย่าขึ้นลงจนได้ตะกอนดีเอ็นเอ แล้วนำไปปั่นให้ดีเอ็นเอตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm นาน 5 นาที และเทน้ำออก

1.7 ล้างตะกอนด้วยด้วย 70% ethanol 500 ไมโครลิตร 1 ครั้ง โดยนำไปปั่นที่ ความเร็วรอบ 12,000 rpm

1.8 ตากตะกอนให้แห้ง แล้วเติมน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 180 ไมโครลิตร อุณหภูมิ ดีเอ็นเอ ละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

1.9 เติม 5 M NaCl 20 ไมโครลิตร และ 95% ethanol 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้า กัน นำไปปั่นตะกอนที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm นาน 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง

1.10 ล้างดีเอ็นเอด้วย 70% ethanol 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่น

ตะกอนที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm นาน 3 นาที เทส่วนใสทิ้ง

1.11 ล้างดีเอ็นเอด้วย 95% ethanol 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นตะกอนที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm นาน 3 นาที เทส่วนใสทิ้ง ตากตะกอนดีเอ็นเอให้แห้ง

1.12 เติม TE+RNAse 40 ไมโครลิตร ทิ้งให้ตะกอนดีเอ็นเอละลาย เก็บดีเอ็นเอที่ -20 องศาเซลเซียส

## 2. การตรวจสอบดีเอ็นเอ

2.1 เตรียมอากาศโรสเจลความเข้มข้น 1%

2.2 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ (10X TBE buffer)

2.3 ผสมดีเอ็นเอกวาวเครือแดงที่สกัดได้ 1 ไมโครลิตร กับ TE-dye 9 ไมโครลิตร

2.4 ฉีดตัวอย่างดีเอ็นเอกับ TE-dye 10 ไมโครลิตร ลงในร่องสำหรับฉีดตัวอย่าง และฉีดดีเอ็นเอมาตรฐาน (GeneRuler™ DNA Ladder Mix) ลงในร่องสำหรับฉีดดีเอ็นเอมาตรฐาน ลงบนอากาศโรสเจล 1%

2.5 ใช้กระแสไฟฟ้า 110 โวลต์ ในการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส ให้แถบดีเอ็นเอเคลื่อนย้ายจากจุดเริ่มต้นประมาณ 2-3 เซนติเมตร โดยสังเกตจากแถบสีน้ำเงินของ Bromophenol blue

2.6 นำอากาศโรสเจลความเข้มข้น 1% ที่ผ่านการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส แซ่ในสารละลาย ethidium bromide

2.7 บันทึกภาพภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต เพื่อประเมินความคมชัดของแถบ ซึ่งเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน แถบดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับทำปฏิกิริยาจะเห็นแถบดีเอ็นเอชัดเจน

2.8 นำดีเอ็นเอที่ได้ไปทำปฏิกิริยา PCR หาอัตราส่วนการเจือจางดีเอ็นเอที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR ในการทดลองจริง

## 3. การทำ PCR (polymerase chain reaction)

ทำปฏิกิริยา PCR ด้วยโปรแกรมการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแบบ RAPD ในการทดลองส่วนประกอบของปฏิกิริยา PCR ประกอบด้วย ดีเอ็นเอกวาวเครือแดงประมาณ 20 ng สารละลายบัฟเฟอร์ (20 mM Tris-HCl pH 8.0, 100 mM EDTA, 1 mM DTT, 50% glycerol, 0.5% Tween20, 0.5% Nondidet P-40, 1.2% formamide) 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.5 mM dNTP, 200 μM primer, 0.9 u Taq DNA polymerase (recombinant) ของบริษัท Fermentas ทำปฏิกิริยาตัวอย่างละ 2 ชั่วโมง

#### 4. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยปฏิกิริยา PCR

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR โดยตั้งโปรแกรม 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

#### 5. การแยกขนาดดีเอ็นเอ

ทำการแยกขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วยการทำ agarose gel electrophoresis โดยใช้ gel ความเข้มข้น 1% และใช้ 0.5 X TBE เป็นสารละลายนำกระแสไฟฟ้า (electrophoresis buffer) และย้อม gel ด้วย ethidium bromide บันทึกผลด้วยกล้องถ่ายภาพเรืองแสง UV

#### 6. การวิเคราะห์ข้อมูลความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

- การประมาณค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรม ระหว่างสายต้นของกวางเครือแดงทำได้โดยวิเคราะห์การปรากฏของแถบดีเอ็นเอ ที่ตำแหน่งน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ต่างๆ แล้วบันทึกข้อมูลแบบ binary file ถ้าพบแถบดีเอ็นเอ ใช้สัญลักษณ์ “1” ในทุกตำแหน่ง ส่วนสายต้นที่ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันให้ใช้สัญลักษณ์ “0” คำนวณความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกวางเครือแดงด้วยโปรแกรม NTSYSpc version 2.10X คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (similarity coefficient) ด้วย Jaccard และจัดกลุ่ม dendrogram ด้วย unweighted pair group method using arithmetic means (UPGMA)

- การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวางเครือแดง ที่แยกสายพันธุ์ได้จากเทคนิค RAPD โดยศึกษาลักษณะของ ลำต้น รูปทรงใบ ฐานใบ ปลายใบ สีก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝักอ่อน ฝักแก่ และเมล็ด และนำลักษณะต่าง ๆ มาคำนวณเป็นค่าความสัมพันธ์ทางพฤกษศาสตร์ในรูปของ Matrix และจัดกลุ่ม dendrogram เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ลักษณะของดีเอ็นเอ

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ผลการทดสอบไพรเมอร์จำนวนทั้งสิ้น 368 หมายเลข และคัดเลือกได้ 40 หมายเลข เพื่อนำมาใช้ในการทดลองตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรม ได้แก่ ไพรเมอร์หมายเลข 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 ซึ่งมีลำดับ Nucleotide ดังตารางภาคผนวกที่ 5

จากจำนวนไพรเมอร์ทั้ง 40 หมายเลข พบว่าสามารถตรวจจับตำแหน่งดีเอ็นเอของกวางเครือแดง มีจำนวนทั้งสิ้น 888 ตำแหน่ง หรือเฉลี่ยได้ 22 ตำแหน่ง ต่อ 1 ไพรเมอร์ ตำแหน่ง ดีเอ็นเอที่คงที่ในทุกสายต้น (monomorphic) จำนวน 75 ตำแหน่ง คิดเป็น 8.45% ของตำแหน่ง ดีเอ็นเอทั้งหมด และตำแหน่งที่มีความแตกต่างของสายต้น (polymorphic) จำนวน 813 ตำแหน่ง คิดเป็น 91.55% ของตำแหน่งดีเอ็นเอทั้งหมด คิดเป็น 22.2 แถบ ต่อ 1 ไพรเมอร์ ขนาดดีเอ็นเอที่ได้อยู่ในช่วง 100-10,000 bp

จากการทดสอบสายพันธุ์กวางเครือแดงโดยใช้เทคนิค RAPD ทำให้เกิดความหลากหลายของรูปแบบแถบดีเอ็นเอ การประมวลผลจำนวนลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม NTSYSpc เวอร์ชัน 2.10X และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วย Jaccard ทั้งหมดแล้วนำมาศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยการสร้าง dendrogram และ matrix พบว่าสายพันธุ์กวางเครือแดงทั้งหมดมีความใกล้ชิดกันในช่วง 99-32% ซึ่งแสดงถึงความกว้างของฐานพันธุกรรมของกวางเครือแดงที่ทำการศึกษา การวิเคราะห์โครงสร้างของ dendrogram ที่ระดับความใกล้ชิด 32% แยกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่

**กลุ่มที่ 1** มี 27 สายต้น มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ตรงกับที่มีการบันทึกไว้ของกวางเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ประกอบด้วยสายต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ จำนวน 11 สายต้น ได้แก่ สายต้น K1 K2 K3 K4 K5 K6 K7 K8 K9 K10 และ K11 สายต้นจากจังหวัดนครราชสีมา จำนวน 10 สายต้น ได้แก่สายต้น N1 N2 N3 N4 N5 N6 N7 N8 N9 และ N10 และสายต้นจากจังหวัดสกลนคร จำนวน 6 สายต้น ได้แก่สายต้น SK1 SK2 SK3 SK4 SK5 และ SK6 กวางเครือแดงในกลุ่มนี้สามารถแบ่งออกได้ 5 กลุ่มย่อยที่ความเหมือนกันที่ระดับ 85% ขึ้นไป (ภาพที่ 5.1) ดังนี้

กลุ่มที่ 1.1 มี 5 สายต้น ประกอบด้วยสายต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ชุดที่ 1 ได้แก่สายต้น K1 K2 K3 K4 และ K5 กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่เหมือนกันอยู่ระหว่าง 91-87% ซึ่งมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด โดยเฉพาะสายต้น K4 และ K5 ที่มีความใกล้ชิดกันที่ระดับ 91% สอดคล้องกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่เหมือนกันทุกประการ แต่สายต้น K1 แตกต่างจากกลุ่มนี้ เมื่อเปรียบเทียบสายต้นแต่ละต้นตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ พบว่าลักษณะที่เหมือนกัน ได้แก่ ลักษณะลำต้น ปลายใบ ก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝัก และเมล็ด ลักษณะที่แตกต่างกันได้แก่ รูปร่างใบและฐานใบ (ตารางที่ 5.1)

ตารางที่ 5.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดงกลุ่มที่ 1.1

สายต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
K1	48	orbicular	acute	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K2	32	orbicular	obtuse	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K3	47	orbicular	obtuse	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K4	56	obovate	acute	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K5	42	obovate	acute	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล

หมายเหตุ S = เส้นรอบวงลำต้น L = ลักษณะรูปร่างใบ B = ลักษณะฐานใบ  
T = ลักษณะปลายใบ P = ลักษณะก้านใบ H = ลักษณะขนใบ  
R = ลักษณะราก F = ลักษณะดอก PO = ลักษณะฝัก  
SE = ลักษณะเมล็ด



กลุ่มที่ 1.2 มี 6 สายต้น ประกอบด้วยสายต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ ได้แก่สายต้น K6 K7 K8 K9 K10 และ K11 กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่มีความสัมพันธ์กันระหว่าง 93-87% แสดงถึงสายพันธุ์ กวาวเครือแดงมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมาก โดยเฉพาะสายต้น K10 และ K11 มีความใกล้ชิดกันที่ระดับ 93% และสายต้น K6 มีความใกล้ชิดกับสายต้นอื่น ๆ น้อยที่สุดที่ระดับ 87% เมื่อเปรียบเทียบสายต้นแต่ละต้นตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ พบว่าทุกสายต้นมีลักษณะเหมือนกัน (ตารางที่ 5.2)

ตารางที่ 5.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดงกลุ่มที่ 1.2

สายต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
K6	38	orbicular	acute	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K7	32	orbicular	acute	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K8	28	orbicular	acute	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K9	51	orbicular	acute	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K10	42	orbicular	acute	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K11	44	orbicular	acute	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล

หมายเหตุ S = เส้นรอบวงลำต้น L = ลักษณะรูปร่างใบ B = ลักษณะฐานใบ  
T = ลักษณะปลายใบ P = ลักษณะก้านใบ H = ลักษณะขนใบ  
R = ลักษณะราก F = ลักษณะดอก PO = ลักษณะฝัก  
SE = ลักษณะเมล็ด

กลุ่มที่ 1.3 มี 5 สายต้น ประกอบด้วยสายต้นจากจังหวัดนครราชสีมา ได้แก่สายต้น N1 N2 N3 N4 และ N5 กวาวเครือแดงกลุ่มนี้มีความสัมพันธ์กันอยู่ระหว่าง 97-90% แสดงถึงความสัมพันธ์ของกวาวเครือแดงที่มีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดมาก โดยเฉพาะสายต้น N4 และ N5 พบว่ามีความสัมพันธ์กันถึง 97% อาจเป็นไปได้ว่าสายต้น N4 และ N5 เกิดจากต้นพ่อ และต้นแม่เดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบสายต้นแต่ละต้นตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ พบว่า ทุกสายต้นมีลักษณะเหมือนกัน ยกเว้นสายต้น N2 ลักษณะขนใบเกิดเฉพาะส่วนยอดอ่อนเท่านั้น (ตารางที่ 5.3 )

ตารางที่ 5.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดงกลุ่มที่ 1.3

สายต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
N1	38	orbicular	obtuse	acuminate	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N2	46	orbicular	obtuse	acuminate	เขียว อ่อน	Velutinous (เฉพาะ ยอดอ่อน)	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N3	51	orbicular	obtuse	acuminate	เขียว อ่อน	Velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N4	32	orbicular	obtuse	acuminate	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N5	61	orbicular	obtuse	acuminate	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล

หมายเหตุ S = เส้นรอบวงลำต้น L = ลักษณะรูปร่างใบ B = ลักษณะฐานใบ  
T = ลักษณะปลายใบ P = ลักษณะก้านใบ H = ลักษณะขนใบ  
R = ลักษณะราก F = ลักษณะดอก PO = ลักษณะฝัก  
SE = ลักษณะเมล็ด

กลุ่มที่ 1.4 มี 5 สายต้น ประกอบด้วยสายต้นจากจังหวัดนครราชสีมา ได้แก่สายต้น N6 N7 N8 N9 และ N10 กวาวเครือแดงกลุ่มนี้มีความสัมพันธ์กันอยู่ระหว่าง 94-90% แสดงถึงความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด โดยเฉพาะสายต้น N7 และ N8 มีความใกล้ชิดกันที่ระดับ 94% เมื่อเปรียบเทียบสายต้นแต่ละต้นตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ พบว่าลักษณะที่เหมือนกันได้แก่ ลักษณะลำต้น รูปร่างใบ ก้านใบ ราก ดอก ฝัก และเมล็ด ลักษณะที่ต่างกันได้แก่ ฐานใบ และปลายใบ และขนใบ (ตารางที่ 5.4)

ตารางที่ 5.4 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดงกลุ่มที่ 1.4

สายต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
N6	43	orbicular	obtuse	acuminate	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N7	38	orbicular	obtuse	acuminate	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N8	41	orbicular	obtuse	acuminate	เขียว อ่อน	Velutinous (เฉพาะ ยอดอ่อน)	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N9	34	orbicular	acute	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N10	35	orbicular	acute	acuminate	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล

หมายเหตุ S = เส้นรอบวงลำต้น L = ลักษณะรูปร่างใบ B = ลักษณะฐานใบ  
T = ลักษณะปลายใบ P = ลักษณะก้านใบ H = ลักษณะขนใบ  
R = ลักษณะราก F = ลักษณะดอก PO = ลักษณะฝัก  
SE = ลักษณะเมล็ด

กลุ่มที่ 1.5 มี 6 สายต้น ประกอบด้วยสายต้นจากจังหวัดสกลนคร ได้แก่สายต้น SK1 SK2 SK3 SK4 SK5 และ SK6 กวาวเครือแดงกลุ่มนี้มีความสัมพันธ์กันอยู่ระหว่าง 86-96% ถือได้ว่า กวาวเครือแดงในกลุ่มนี้มีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด โดยสายต้น SK5 และ SK6 มีความใกล้ชิดกันที่ระดับ 96% สอดคล้องกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เมื่อเปรียบเทียบสายต้นแต่ละต้นตาม ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ พบว่า ทุกสายต้นมีลักษณะเหมือนกัน ยกเว้น SK2 และ SK4 พบว่าไม่ติดฝัก และ SK5 และ SK6 ก้านใบมีสีเขียวอ่อนอมม่วง (ตารางที่ 5.5 )

ตารางที่ 5.5 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดงกลุ่มที่ 1.5

สายต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
SK1	38	orbicular	acute	acuminate	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
SK2	33	orbicular	acute	acuminate	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	ไม่ ติด ฝัก	-	-
SK3	29	orbicular	acute	acuminate	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
SK4	52	orbicular	acute	acuminate	เขียว อ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	ไม่ ติด ฝัก	-	-
SK5	47	orbicular	acute	acuminate	เขียว อ่อน อม ม่วง	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
SK6	34	orbicular	acute	acuminate	เขียว อ่อน อม ม่วง	velutinous	สะสม อาหาร	สี ส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล

หมายเหตุ S = เส้นรอบวงลำต้น L = ลักษณะรูปร่างใบ B = ลักษณะฐานใบ  
T = ลักษณะปลายใบ P = ลักษณะก้านใบ H = ลักษณะขนใบ  
R = ลักษณะราก F = ลักษณะดอก PO = ลักษณะฝัก  
SE = ลักษณะเมล็ด

จากการวิเคราะห์สายต้นของกวาวเครือแดงในกลุ่มที่ 1 แสดงให้เห็นว่าสายต้นกวาวเครือแดงในแต่ละกลุ่มย่อย (5 กลุ่มย่อย) จะมีความสัมพันธ์กันภายในกลุ่มค่อนข้างสูง หรืออาจกล่าวได้ว่าสายพันธุ์กวาวเครือแดงมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดภายในกลุ่ม จากการที่กวาวเครือแดงเป็นพืชตระกูลถั่ว ซึ่งจัดเป็นพืชผสมตัวเอง อาจเป็นสาเหตุให้กวาวเครือแดงมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมภายในกลุ่มค่อนข้างน้อย เพราะเมล็ดที่ได้จากการขยายพันธุ์เกิดจากต้นพ่อและต้นแม่ที่เป็นต้นเดียวกัน

**กลุ่มที่ 2** มี 22 สายต้นมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ตรงกับที่มีการบันทึกไว้ของเถาพันช้าย (*Spatholobus parviflorus* [DC.] Kuntze) ประกอบด้วยสายต้นจากจังหวัดชัยภูมิ จำนวน 10 สายต้น ได้แก่ C1 C2 C3 C4 C5 C6 C7 C8 C9 C10 จังหวัดบุรีรัมย์ จำนวน 6 สายต้น ได้แก่ B1 B2 B3 B4 B5 B6 และสายต้นจากจังหวัดมหาสารคาม จำนวน 6 สายต้น ได้แก่ S1 S2 S3 S4 S5 และ S6 ที่ระดับความใกล้ชิด 85% (ภาพที่ 5.1) สามารถแยกได้ 3 กลุ่ม

กลุ่มที่ 2.1 มี 9 สายต้น ประกอบด้วยสายต้นจากจังหวัดชัยภูมิ ได้แก่สายต้น C1 C2 C3 C4 C5 C6 C7 C8 และ C9 กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่เหมือนกันอยู่ระหว่าง 99-90% ซึ่งมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด โดยเฉพาะสายต้น C6 และ C7 มีความใกล้ชิดกันที่ระดับ 99% เป็นไปได้ว่าตัวอย่างที่เก็บมา มาจากต้นเดียวกันเพราะว่าเถาพันช้ายส่วนของลำต้นสามารถแตกเป็นต้นใหม่ได้ เมื่อเปรียบเทียบสายต้นแต่ละต้นตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ พบว่าลักษณะที่เหมือนกันได้แก่ลักษณะลำต้น รูปร่างใบ ฐานใบ ก้านใบ ขนใบ และราก ลักษณะที่แตกต่างกัน คือ ปลายใบ ส่วน C1 ไม่ติดเมล็ด C4 และ C5 ไม่ออกดอก (ตารางที่ 5.6)

ตารางที่ 5.6 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเถาพันธุ์กลุ่มที่ 2.1

สาย ต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
C1	42	elliptic	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	ไม่ ติด เมล็ด
C2	28	elliptic	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน
C3	39	elliptic	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน
C4	46	elliptic	obtuse	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ไม่ ออก ดอก	-	-	-
C5	37	elliptic	obtuse	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ไม่ ออก ดอก	-	-	-
C6	38	elliptic	obtuse	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน
C7	44	elliptic	obtuse	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน
C8	31	elliptic	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน
C9	30	elliptic	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน

หมายเหตุ S = เส้นรอบวงลำต้น L = ลักษณะรูปร่างใบ B = ลักษณะฐานใบ  
T = ลักษณะปลายใบ P = ลักษณะก้านใบ H = ลักษณะขนใบ  
R = ลักษณะราก F = ลักษณะดอก PO = ลักษณะฝัก  
SE = ลักษณะเมล็ด

กลุ่มที่ 2.2 มี 5 สายต้น ประกอบด้วยสายต้นจากจังหวัดชัยภูมิ คือสายต้น C10 และสายต้นจากจังหวัดบุรีรัมย์ ได้แก่สายต้น B1 B2 B3 และB4 กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่เหมือนกันอยู่ระหว่าง 94-88 ซึ่งมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด สายต้น B1 และ B2 มีความสัมพันธ์กันที่ระดับ 94% เมื่อเปรียบเทียบสายต้นแต่ละต้นตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ พบว่า ลักษณะที่เหมือนกันได้แก่ ลักษณะลำต้น ก้านใบ ขนใบ ราก ลักษณะที่แตกต่างกันได้แก่ รูปร่างใบ ฐานใบ และปลายใบ (ตารางที่ 5.7)

ตารางที่ 5.7 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเถาพันช้าย กลุ่มที่ 2.2

สายต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
C10	32	elliptic	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน
B1	43	obovate	obtuse	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ไม่มี ออก ดอก	-	-	-
B2	47	obovate	obtuse	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ไม่มี ออก ดอก	-	-	-
B3	36	obovate	obtuse	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ไม่มี ออก ดอก	-	-	-
B4	41	obovate	obtuse	obtuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ไม่มี ออก ดอก	-	-	-

หมายเหตุ S = เส้นรอบวงลำต้น L = ลักษณะรูปร่างใบ B = ลักษณะฐานใบ  
T = ลักษณะปลายใบ P = ลักษณะก้านใบ H = ลักษณะขนใบ  
R = ลักษณะราก F = ลักษณะดอก PO = ลักษณะฝัก  
SE = ลักษณะเมล็ด

กลุ่มที่ 2.3 มี 8 สายต้น ประกอบด้วยสายต้นจากจังหวัดบุรีรัมย์ ได้แก่สายต้น B5 B6 และสายต้นจากจังหวัดมหาสารคาม ได้แก่สายต้น S1 S2 S3 S4 S5 และ S6 กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่เหมือนกันอยู่ระหว่าง 97-87% ซึ่งมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดโดยเฉพาะสายต้น S5 และ S6 มีความใกล้ชิดกันที่ระดับ 97% สอดคล้องกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เมื่อเปรียบเทียบสายต้นแต่ละต้นตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ พบว่า ลักษณะที่เหมือนกันได้แก่ ลักษณะลำต้น รูปร่างใบ ฐานใบ ปลายใบ ก้านใบ ขนใบ ราก ดอก และฝัก ส่วนสายต้น S1 S2 และ S3 ไม่ติดเมล็ด (ตารางที่ 5.8)

ตารางที่ 5.8 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเถาพันชาย กลุ่มที่ 2.3

สายต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
B5	28	obovate	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน
B6	31	obovate	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน
S1	42	obovate	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	ไม่ ติด เมล็ด
S2	34	obovate	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	ไม่ ติด เมล็ด
S3	29	obovate	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	ไม่ ติด เมล็ด

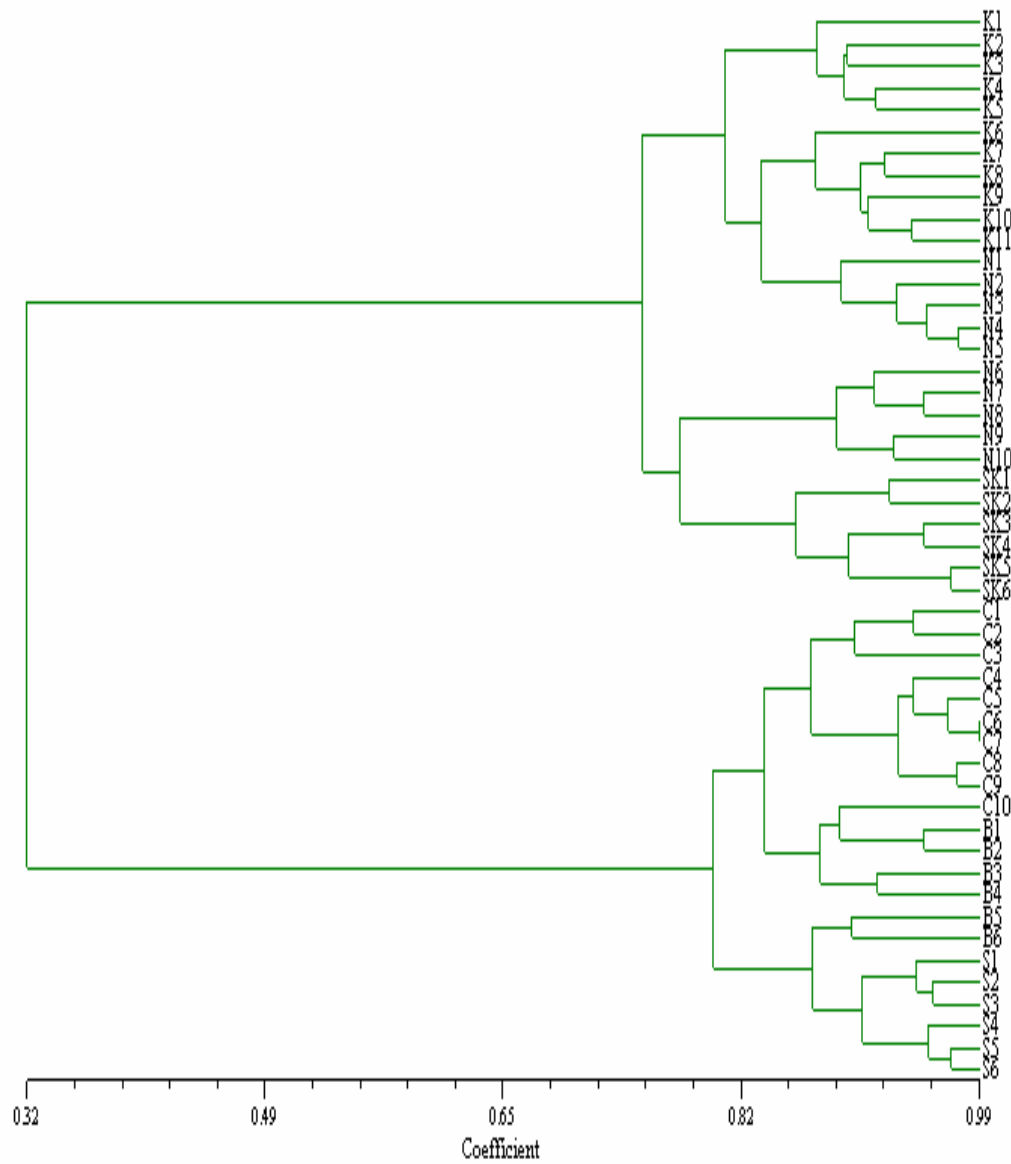
หมายเหตุ S = เส้นรอบวงลำต้น L = ลักษณะรูปร่างใบ B = ลักษณะฐานใบ  
T = ลักษณะปลายใบ P = ลักษณะก้านใบ H = ลักษณะขนใบ  
R = ลักษณะราก F = ลักษณะดอก PO = ลักษณะฝัก  
SE = ลักษณะเมล็ด



ตารางที่ 5.8 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเถาพันซ้าย กลุ่มที่ 2.3 (ต่อ)

สาย ต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
S4	38	obovate	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน
S5	37	obovate	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน
S6	29	obovate	obtuse	retuse	เขียว อ่อน	velutinous	แขนง	ขาว เล็ก	น้ำตาล อม ม่วง	น้ำตาล โคน ม่วง	เขียว อ่อน

หมายเหตุ S = เส้นรอบวงลำต้น L = ลักษณะรูปร่างใบ B = ลักษณะฐานใบ  
 T = ลักษณะปลายใบ P = ลักษณะก้านใบ H = ลักษณะขนใบ  
 R = ลักษณะราก F = ลักษณะดอก PO = ลักษณะฝัก  
 SE = ลักษณะเมล็ด



**ภาพที่ 5.1** การจัดสายต้นของกวาวเครือแดงโดยลักษณะ DNA ที่แตกต่างกันจำนวน 888 ตำแหน่ง แสดงการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกวาวเครือแดง และเถาพันช้ายที่จำแนกด้วยความแตกต่างของ DNA fragment ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี RAPD

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดง และเถาพันช้าย จำนวน 10 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะลำต้น รูปร่างใบ ฐานใบ ปลายใบ สีก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝัก และเมล็ด จาก 6 จังหวัด ดังตารางที่ 5.9

ตารางที่ 5.9 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดง และเถาพันช้าย จำนวน 10 ลักษณะ

สาย ต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
K1	48	orbicular	acute	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K2	32	orbicular	obtuse	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K3	47	orbicular	obtuse	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K4	56	obovate	acute	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K5	42	obovate	acute	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K6	38	orbicular	acute	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K7	32	orbicular	acute	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K8	28	orbicular	acute	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K9	51	orbicular	acute	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K10	42	orbicular	acute	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
K11	44	orbicular	acute	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N1	38	orbicular	obtuse	acuminate	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N2	46	orbicular	obtuse	acuminate	เขียวอ่อน (เฉพาะยอด)	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N3	51	orbicular	obtuse	acuminate	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N4	32	orbicular	obtuse	acuminate	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N5	61	orbicular	obtuse	acuminate	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล

ตารางที่ 5.9 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดง และเถาพันช้าย จำนวน 10 ลักษณะ (ต่อ)

สาย ต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
N6	43	orbicular	obtuse	acuminate	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N7	38	orbicular	obtuse	acuminate	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N8	41	orbicular	obtuse	acuminate	เขียวอ่อน	Velutinous (เฉพาะยอด)	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N9	34	orbicular	acute	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
N10	35	orbicular	acute	acuminate	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
SK1	38	orbicular	acute	acuminate	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
SK2	33	orbicular	acute	acuminate	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	ไม่คิด ฝัก	-	-
SK3	29	orbicular	acute	acuminate	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
SK4	52	orbicular	acute	acuminate	เขียวอ่อน	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	ไม่คิด ฝัก	-	-
SK5	47	orbicular	acute	acuminate	เขียวอ่อน อมม่วง	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
SK6	34	orbicular	acute	acuminate	เขียวอ่อน อมม่วง	velutinous	สะสม อาหาร	สีส้ม	เขียว อ่อน	น้ำตาล	น้ำตาล
C1	42	elliptic	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขาว	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	ไม่คิด เมล็ด
C2	28	elliptic	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขาว	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน
C3	39	elliptic	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขาว	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน
C4	46	elliptic	obtuse	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	ไม่ออก ดอก	-	-	-
C5	37	elliptic	obtuse	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	ไม่ออก ดอก	-	-	-
C6	38	elliptic	obtuse	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขาว	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน
C7	44	elliptic	obtuse	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขาว	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน

ตารางที่ 5.9 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดง และเถาพันช้าย จำนวน 10 ลักษณะ (ต่อ)

สาย ต้น	S ชม.	L	B	T	P	H	R	F	PO		SE
									อ่อน	แก่	
C8	31	elliptic	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขา	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน
C9	30	elliptic	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขา	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน
C10	32	elliptic	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขา	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน
B1	43	obovate	obtuse	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	ไม่ออก ดอก	-	-	-
B2	47	obovate	obtuse	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	ไม่ออก ดอก	-	-	-
B3	36	obovate	obtuse	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	ไม่ออก ดอก	-	-	-
B4	41	obovate	obtuse	obtuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	ไม่ออก ดอก	-	-	-
B5	28	obovate	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขา	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน
B6	31	obovate	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขา	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน
S1	42	obovate	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขา	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	ไม่คิด เมล็ด
S2	34	obovate	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขา	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	ไม่คิด เมล็ด
S3	29	obovate	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขา	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	ไม่คิด เมล็ด
S4	38	obovate	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขา	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน
S5	37	obovate	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขา	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน
S6	29	obovate	obtuse	retuse	เขียวอ่อน	velutinous	แขนง	สีขา	น้ำตาล อมม่วง	น้ำตาล โคนม่วง	เขียว อ่อน

หมายเหตุ S = เส้นรอบวงลำต้น L = ลักษณะรูปร่างใบ B = ลักษณะฐานใบ  
T = ลักษณะปลายใบ P = ลักษณะก้านใบ H = ลักษณะขนใบ  
R = ลักษณะราก F = ลักษณะดอก PO = ลักษณะฝัก  
SE = ลักษณะเมล็ด

จากตารางที่ 5.9 พบความถี่ของแฉก และเถาพันช้ายมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ดังนี้

1. ลักษณะของใบย่อย การศึกษาความถี่ของแฉก พบว่ามีลักษณะของใบย่อยแยกได้ 9 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1.1 ใบย่อยส่วนปลายรูปปลายมน (obtuse) ฐานใบมน (obtuse) และรูปร่างใบเป็นรูปวงกลม (orbicular) ได้แก่สายต้นจาก จ. กาฬสินธุ์ K2 และ K3

กลุ่มที่ 1.2 ใบย่อยส่วนปลายมน (obtuse) ฐานใบแหลม (acute) และรูปร่างใบรูปไข่กลับ (obovate) ได้แก่สายต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ K4 และ K5

กลุ่มที่ 1.3 ใบย่อยส่วนปลายมน (obtuse) ฐานใบแหลม (acute) และรูปร่างใบเป็นรูปวงกลม (orbicular) ได้แก่สายต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ K1 K6 K7 K8 K9 K10 และ K11 สายต้นจากจังหวัดนครราชสีมา N9

กลุ่มที่ 1.4 ใบย่อยส่วนปลายเรียวแหลม (acuminate) ฐานใบมน (obtuse) และรูปร่างใบเป็นรูปวงกลม (orbicular) ได้แก่สายต้นจากจังหวัดนครราชสีมา N1 N2 N3 N4 N5 N6 N7 N8

กลุ่มที่ 1.5 ใบย่อยส่วนปลายเรียวแหลม (acuminate) ฐานใบแหลม (acute) และรูปร่างใบเป็นรูปวงกลม (orbicular) ได้แก่สายต้นจากจังหวัดสกลนคร SK1 SK2 SK3 SK4 SK5 และ SK6 จังหวัดนครราชสีมา N10

กลุ่มที่ 1.6 ใบย่อยส่วนปลายมน (obtuse) ฐานใบมน (obtuse) และรูปร่างใบเป็นรูปวงรี (elliptic) ได้แก่สายต้นจากจังหวัดชัยภูมิ C4 C5 C6 และ C7

กลุ่มที่ 1.7 ใบย่อยส่วนปลายเว้ามน (retuse) ฐานใบมน (obtuse) และรูปร่างใบเป็นรูปไข่กลับ (obovate) ได้แก่สายต้นจากจังหวัดบุรีรัมย์ B5 B6 จังหวัดมหาสารคาม S1 S2 S3 S4 S5 และ S6

กลุ่มที่ 1.8 ใบย่อยส่วนปลายเว้ามน (retuse) ฐานใบมน (obtuse) และรูปร่างใบเป็นรูปวงรี (elliptic) ได้แก่สายต้นจากจังหวัดชัยภูมิ C1 C2 C3 C8 C9 และ C10

กลุ่มที่ 1.9 ใบย่อยส่วนปลายมน (obtuse) ฐานใบมน (obtuse) และรูปร่างใบเป็นรูปไข่กลับ (obovate) ได้แก่สายต้นจากจังหวัดบุรีรัมย์ B1 B2 B3 และ B4

2. ลักษณะของก้านใบ การศึกษาความถี่ของแฉกจากแหล่งต่าง ๆ พบว่ามีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ต่างกัน ในลักษณะของก้านใบที่ติดโคนใบแยกได้ 2 กลุ่ม

กลุ่มที่ 2.1 ลักษณะของก้านใบที่อยู่ติดกับโคนใบมีสีเขียวอ่อน พบในเกือบทุกสายต้นคือสายต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ K1 K2 K3 K4 K5 K6 K7 K8 K9 K10 K11 จังหวัดนครราชสีมา N1 N2 N3 N4 N5 N6 N7 N8 N9 N10 จังหวัดสกลนคร SK1 SK2 SK3 SK4 จังหวัดชัยภูมิ C1 C2 C3 C4 C5 C6 C7 C8 C9 C10 และจังหวัดมหาสารคาม S1 S2 S3 S4 S5 และ S6

กลุ่มที่ 2.2 ลักษณะของก้านใบที่อยู่ติดกับโคนใบมีสีน้ำตาลอมม่วง พบกับใบที่มีอายุหลังเป็นใบเพศลาดไปแล้ว ได้แก่สายต้นจากจังหวัดสกลนคร สายต้น SK5 และ SK6

### 3 ลักษณะของขนบนใบ การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของขนใบแยกได้ 2 กลุ่ม คือ

3.1 สายต้นที่มีขนอ่อนปกคลุมทั้งที่เป็นใบอ่อน และใบแก่ ได้แก่ สายต้นในจังหวัดกาฬสินธุ์ K1 K2 K3 K4 K5 K6 K7 K8 K9 K10 K11 จังหวัดนครราชสีมา N1 N3 N4 N5 N6 N7 N9 N10 จังหวัดสกลนคร SK1 SK2 SK3 SK4 SK5 SK6 จังหวัดชัยภูมิ C1 C2 C3 C4 C5 C6 C7 C8 C9 C10 และจังหวัดมหาสารคาม S1 S2 S3 S4 S5 และ S6

3.2 สายต้นที่มีขนอ่อนปกคลุมเฉพาะส่วนยอดอ่อนเท่านั้น ได้แก่สายต้นจากจังหวัดนครราชสีมา N2 และ N8

### 4 ลักษณะของราก และดอก การศึกษาลักษณะของราก และดอกแยกได้ 2 กลุ่ม คือ 1 ราก

ชนิดรากสะสมอาหาร และดอกใหญ่สีส้ม คล้ายดอกแค ได้แก่สายต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ K1 K2 K3 K4 K5 K6 K7 K8 K9 K10 K11 จังหวัดนครราชสีมา N1 N2 N3 N4 N5 N6 N7 N8 N9 N10 จังหวัดสกลนคร SK1 SK2 SK3 SK4 SK5 และSK6 และ 2 รากชนิดรากแขนง ดอกขนาดเล็กกลีบเลี้ยงสีน้ำตาล กลีบดอกสีขาว ได้แก่สายต้นจากจังหวัดชัยภูมิ C1 C2 C3 C6 C7 C8 C9 C10 สายต้นจากจังหวัดบุรีรัมย์ B5 B6 และสายต้นจากจังหวัดมหาสารคาม S1 S2 S3 S4 S5 และ S6

### 5 ลักษณะฝัก การศึกษาลักษณะของฝักอ่อน และฝักแก่แยกได้ 2 กลุ่มคือ

5.1 สายต้นที่มีฝักอ่อนสีเขียว มีขนแบบกำมะหยี่ และเมื่อแก่เป็นสีน้ำตาล ได้แก่สายต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ K1 K2 K3 K4 K5 K6 K7 K8 K9 K10 K11 จังหวัดนครราชสีมา N1 N2 N3 N4 N5 N6 N7 N8 N9 N10 จังหวัดสกลนคร SK1 SK3 SK5 และSK6

5.2 สายต้นที่มีฝักอ่อนสีน้ำตาลอมม่วง มีขนแบบกำมะหยี่ และเมื่อฝักแก่มีสีน้ำตาลอ่อน ส่วนโคนฝักสีน้ำตาลอมม่วง ได้แก่สายต้นจากจังหวัดชัยภูมิ C1 C2 C3 C6 C7 C8 C9 และ C10 สายต้นจากจังหวัดบุรีรัมย์ B5 B6 และสายต้นจากจังหวัดมหาสารคาม S1 S2 S3 S4 S5 และ S6

### 6 เมล็ด การศึกษาลักษณะของเมล็ด แยกออกได้ 2 กลุ่ม คือ

6.1 สายต้นที่มีเมล็ดสีน้ำตาลเข้ม ได้แก่สายต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ K1 K2 K3 K4 K5 K6 K7 K8 K9 K10 K11 จังหวัดนครราชสีมา N1 N2 N3 N4 N5 N6 N7 N8 N9 N10 จังหวัดสกลนคร SK1 SK3 SK5 และ SK6

6.2 สายต้นที่มีเมล็ดสีเขียวย่อน ได้แก่สายต้นจากจังหวัดชัยภูมิ C2 C3 C6 C7 C8 C9 C10 สายต้นจากจังหวัดบุรีรัมย์ B5 B6 และสายต้นจากจังหวัดมหาสารคาม S4 S5 และ S6

การจัดกลุ่มพืชทั้งสองกลุ่มโดยอาศัยความสัมพันธ์ของ dendrogram ของลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ที่ระดับความใกล้เคียง 19% แยกได้ 2 กลุ่ม คือ

### 1. กลุ่มกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.)

การจัดกลุ่มกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) โดยใช้ลักษณะทางพฤกษศาสตร์จำนวน 10 ลักษณะ (ตารางที่ 9.5) ได้แก่ ลำต้น รูปทรงใบ ฐานใบ ปลายใบ สีก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝัก และเมล็ด พบว่าต้นที่มีลักษณะเหมือนกัน 100 เปอร์เซ็นต์ จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพฤกษศาสตร์ (ภาพที่ 5.2) จำนวน 2 ต้น มี 5 คู่ ได้แก่ คู่ที่ 1 คือ K2 K3 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ obtuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ (velutinous) รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และเมื่อแก่มีสีน้ำตาล และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม คู่ที่ 2 คือ K4 K5 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ obovate ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ obtuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และเมื่อแก่มีสีน้ำตาล และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม คู่ที่ 3 คือ N2 N8 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบเฉพาะส่วนยอดอ่อนเท่านั้น รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และสีน้ำตาลเมื่อแก่ และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม คู่ที่ 4 คือ SK2 SK4 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบส่วนที่ติดกับใบมีสีน้ำตาลอมม่วงเกิดเฉพาะใบที่เจริญเติบโตหลังใบเพศลดไปแล้ว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ไม่ติดฝัก และคู่ที่ 5 คือ SK5 SK6 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบส่วนที่ติดกับใบมีสีน้ำตาลอมม่วงเกิดเฉพาะใบที่เจริญเติบโตหลังใบเพศลดไปแล้ว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และสีน้ำตาลเมื่อแก่ และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม และที่มีลักษณะเหมือนกัน 100 เปอร์เซ็นต์ที่มีมากกว่า 2 ต้น แบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มี 8 ต้น ได้แก่ K1 K6 K7 K8 K9 K10 K11 และ N9 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ 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 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และสีน้ำตาลเมื่อแก่ และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม และกลุ่มที่ 3 มี 3 ต้น ได้แก่

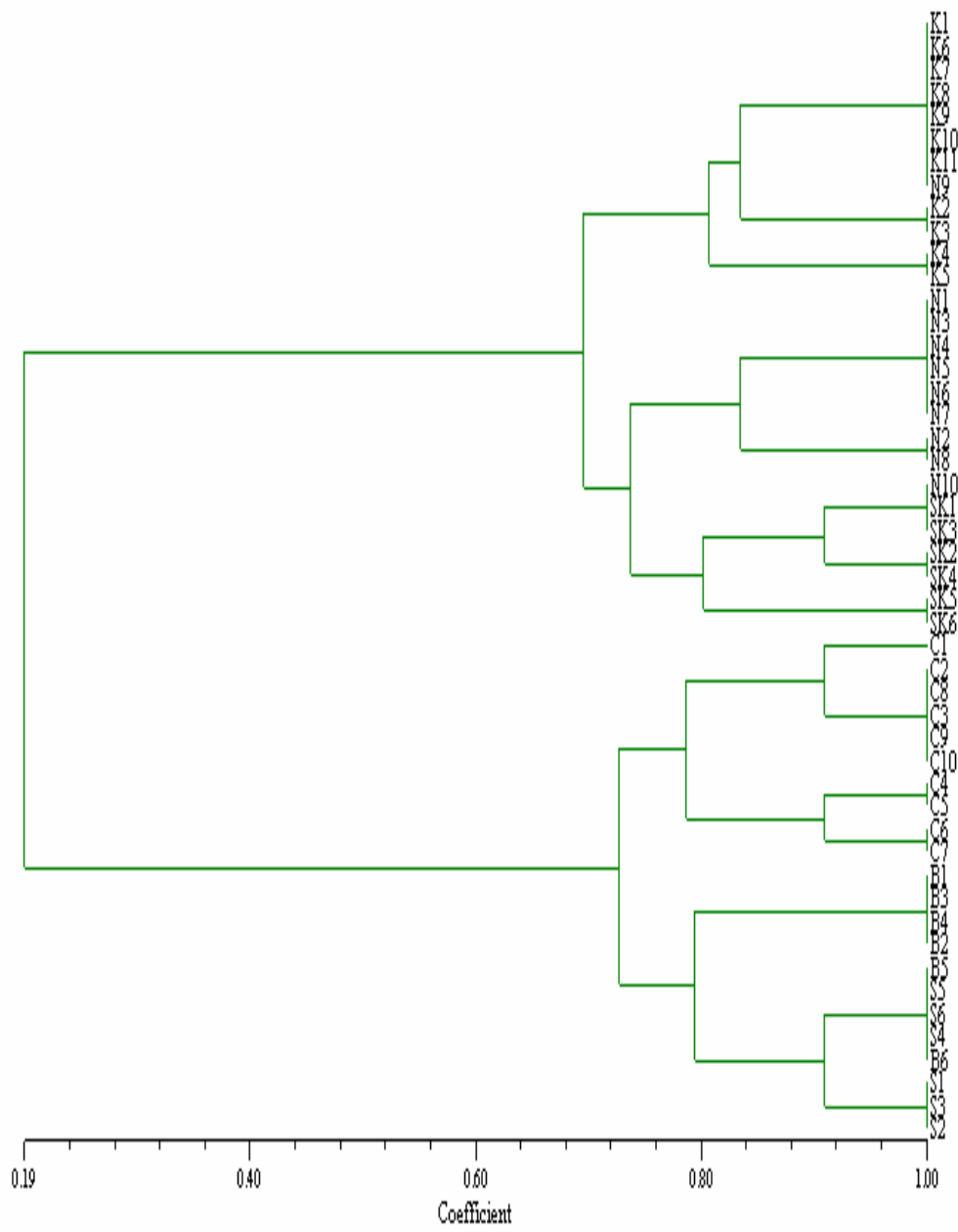


N10 SK1 และ SK3 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนมีสีเขียว และสีน้ำตาลเมื่อแก่ และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม

## 2. กลุ่ม *Spatholobus parviflorus* (DC.) Kuntze

การจัดกลุ่มเถาพันช้าย *Spatholobus parviflorus* (DC.) Kuntze โดยใช้ลักษณะทางพฤกษศาสตร์จำนวน 10 ลักษณะ (ตารางที่ 5.9) ได้แก่ ลำต้นรูปทรงใบ ฐานใบ ปลายใบ สีก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝัก และเมล็ด จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพฤกษศาสตร์ พบว่าต้นที่มีลักษณะเหมือนกัน 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 2 ต้น มี 2 คู่ ได้แก่ คู่ที่ 1 คือ C4 และ C5 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ elliptic ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ obtuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากแขนง ไม่ออกดอก และคู่ที่ 2 คือ C6 และ C7 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ elliptic ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ obtuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากแขนง ดอกสีขาวขนาดเล็ก ฝักอ่อนมีน้ำตาล และเมื่อแก่มีสีน้ำตาลอ่อน โคนฝักอมม่วง และเมล็ดมีสีเขียว (ตารางที่ 5.9) ลักษณะที่เหมือนกัน 100 เปอร์เซ็นต์ มี 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 คือ C8 C2 C9 C3 และ C10 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ elliptic ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ retuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากแขนง ดอกสีขาวขนาดเล็ก ฝักอ่อนมีน้ำตาล และเมื่อแก่มีสีน้ำตาลอ่อน โคนฝักอมม่วง และเมล็ดมีสีเขียว กลุ่มที่ 2 คือ B5 B6 S5 S4 และ S6 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ obovate ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ retuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากแขนง ดอกสีขาวขนาดเล็ก ฝักอ่อนมีน้ำตาล และเมื่อแก่มีสีน้ำตาลอ่อน โคนฝักอมม่วง และเมล็ดมีสีเขียว กลุ่มที่ 3 คือ B1 B2 B3 และ B4 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ obovate ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ obtuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากแขนง ไม่ออกดอก และกลุ่มที่ 4 คือ S1 S2 และ S3 ลำต้นเป็นเถา รูปทรงใบแบบ obovate ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ retuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากแขนง ดอกสีขาวขนาดเล็ก ฝักอ่อนมีน้ำตาล และเมื่อแก่มีสีน้ำตาลอ่อน โคนฝักอมม่วง และไม่ติดเมล็ด (ตารางที่ 5.9)

ผลจากการจำแนกสายต้นกวาวเครือแดง และเถาพันช้าย ด้วยลักษณะ DNA 888 ตำแหน่ง และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 10 ลักษณะ พบว่าลักษณะทางพฤกษศาสตร์ไม่สามารถจำแนกความแตกต่างของสายต้นได้ชัดเจน แต่ลักษณะ DNA จากเทคนิค RAPD สามารถใช้จำแนกสายต้นกวาวเครือแดงได้ โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ซึ่งสัมพันธ์กับแหล่งที่กวาวเครือแดงเจริญเติบโต หรือลักษณะภูมิประเทศ เป็นไปได้ว่าในบริเวณเดียวกัน หรือแหล่งเดียวกัน กวาวเครือแดงเหล่านั้นผสมพันธุ์จากต้นพ่อ และแม่ที่มีความสัมพันธ์กัน และพัฒนาเป็นต้น พร้อมทั้งสภาพแวดล้อมได้ช่วยคัดเลือกรุ่นที่แข็งแรงไว้ ลักษณะพันธุกรรมจึงออกมาใกล้เคียงกันในแต่ละสายต้น



ภาพที่ 5.2 การจัดกลุ่มสายต้นกวาวเครือแดง และเถาพันช้าย โดยใช้ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 10 ลักษณะ

## สรุปผลการวิจัย

ศึกษาสายพันธุ์กวาวเครือแดงโดยเทคนิค RAPD ควบคู่กับศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ จาก 6 จังหวัด ได้แก่ นครราชสีมา บุรีรัมย์ ชัยภูมิ มหาสารคาม กาฬสินธุ์ และสกลนคร จำนวน 49 สายต้น ใช้ไพรเมอร์ 40 ชนิด สามารถตรวจจับดีเอ็นเอได้ 888 ตำแหน่ง คิดเป็น 22.2 แถบ ต่อ 1 ไพรเมอร์ เป็น monomorphic 75 ตำแหน่ง คิดเป็น 8.45% ของตำแหน่งดีเอ็นเอทั้งหมด และเป็น polymorphic 813 ตำแหน่ง คิดเป็น 91.55% ของตำแหน่งดีเอ็นเอทั้งหมด ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ที่ระดับความใกล้ชิด 32% สามารถแยกได้ 2 กลุ่มใหญ่ คือ กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) 27 สายต้น และเถาพันช้าย (*Spatholobus parviflorus* [DC.] Kuntze) 22 สายต้น ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ที่ระดับความใกล้ชิด 19% สามารถแยกได้ 2 กลุ่มใหญ่ คือ กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) 27 สายต้น และเถาพันช้าย (*Spatholobus parviflorus* [DC.] Kuntze) 22 สายต้น เช่นเดียวกับลักษณะของดีเอ็นเอ ลักษณะทางพฤกษศาสตร์มีสายต้นที่เหมือนกัน 100% จำนวน 2 ต้น มี 7 คู่ และเหมือนกันมากกว่า 2 ต้น มี 7 กลุ่ม ต่างกับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันทุกสายต้น ดังนั้นลักษณะทางพฤกษศาสตร์ไม่สามารถจำแนกสายต้นกวาวเครือแดง และเถาพันช้ายได้ชัดเจน เทคนิค RAPD สามารถจำแนกสายต้นกวาวเครือแดงได้

## รายการอ้างอิง

- ชวลิต นิยมธรรม. (2538). กวาวเครือ. อนุกรมวิธานพืช อักษร ก. ราชบัณฑิตยสถาน. เพื่อนพิมพ์. 495 หน้า.
- เต็ม สมิตินันท์. (2523). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย: ชื่อพฤกษศาสตร์- ชื่อพื้นเมือง. กรมป่าไม้. กรุงเทพฯ. 379 หน้า.
- สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่พบในพื้นที่แตกต่างกันสองพื้นที่ ต่ออวัยวะสืบพันธุ์ พฤติกรรมการสืบพันธุ์ และการแข็งตัวของอวัยวะเพศในหนูขาวเพศผู้ (*Rattus norvegicus*) วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2536). พันธุศาสตร์เบื้องต้น. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 258 หน้า.
- โสภณ เรืองสำราญ และคณะ. (2543). ฟลาโวนอยด์และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ จากกวาวเครือแดง และฤทธิ์ต่อต้านไซคลิกเอเอ็มพีฟอสโฟไดเอสเทอเรส. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 25(1): 169-176.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. (2537). พฤกษศาสตร์. โรงพิมพ์สหมิตรออฟเซต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 277 หน้า.
- อานันท์ กาญจนพันธุ์ และ มิ่งสรรพ์ ขาวสอาด. (2538). วัฒนาการของการบุกเบิกที่ดินทำกินในเขตป่า: กรณีศึกษาภาคเหนือตอนบน. กรุงเทพฯ. มูลนิธิสถาบันวิจัยเพื่อการพัฒนาประเทศ 13 หน้า.
- วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2540). สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 92 หน้า.
- อชิพงษ์ มานะเสถียร. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่พบในพื้นที่แตกต่างกันสองแห่ง ต่อ หัวใจ ตับ ไต ต่อมหมวกไต และองค์ประกอบของเลือดในหนูขาวเพศผู้ (*Rattus norvegicus*) วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

- อรดี สหวัชรินทร์. (2541). แนวทางการคัดเลือกพันธุ์ ขยายพันธุ์ และการปลูกกวาวเครือ เอกสารประกอบการประชุมสัมมนากวาวเครือ ณ สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 44 หน้า.
- Katzir, N., Potnoy, V., Tsur, G., Castejon, M.M. and Joel, D.M. (1996). Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in the study of the parasitic weed *Orobanche*. Theor. Appl. Genet. 93: 367-372.
- 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 Biotech., 74 (2): 224-231.
- Yu, L.X. and Nguyen, H.T. (1994). Genetic variation detected with RAPD markers among upland and lowland rice (*Oryza sativa* L.) Theor. Appl. Genet. 87: 668-672.

## บทที่ 6

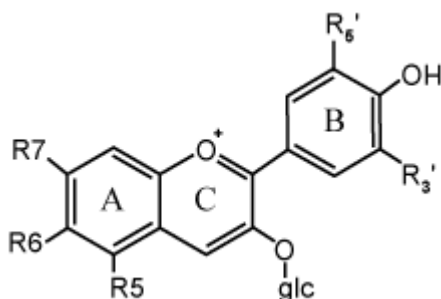
### ปริมาณแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ในรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.)

#### บทคัดย่อ

ได้มีการนำกวาวเครือแดง (*Butea Superba* Roxb.) มาผลิตเป็นอาหารเสริมสุขภาพ และมีการใช้เป็นยา รักษาการปวดเมื่อยตามร่างกาย บำรุงสายตา บำรุงผิวพรรณ บำรุงฮอร์โมนเพศชาย รากสะสมอาหารกวาวเครือแดง เมื่อได้รับบาดเจ็บจะมียางสีแดงไหลออกมา แอนโทไซยานินมีคุณสมบัติเป็นแอนติออกซิแดนท์ (antioxidant) ชนิดหนึ่ง ได้ศึกษาหาปริมาณแอนโทไซยานินในรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง ในปี 2547-2549 โดยนำรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดงที่มีอายุและขนาดใกล้เคียงกันจากจังหวัดนครราชสีมา กาฬสินธุ์ และสกลนคร และรากเถาพันช้ายจากชัยภูมิ บุรีรัมย์ และมหาสารคาม มาศึกษาปริมาณแอนโทไซยานิน เป็นสายต้นที่ใช้ในการคัดแยกสายต้น ด้วยเทคนิค RAPD จำนวน 49 สายต้น มาสกัดและแยกองค์ประกอบบนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบผิวบางเคลือบด้วยเซลลูโลส และใช้เฟสเคลื่อนที่ 2 ชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริก:กรดฟอร์มิก:น้ำ ในสัดส่วน 25:24:51 และ 7:51:42 มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.12 และ 0.34 ตามลำดับ สารดังกล่าวมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 519 นาโนเมตร และเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีน้ำตาล เมื่อ pH เปลี่ยนจาก 1 เป็น 14 ซึ่งเป็นลักษณะของแอนโทไซยานิน จากการหาปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธี pH differential พบว่ากวาวเครือแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 69-144 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และเถาพันช้ายมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 172-252 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลาง และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex) ของรากสะสมอาหารกวาวเครือแดงมีความสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานิน โดยแสดงค่าความสัมพันธ์เท่ากับ  $0.404^*$  และ  $0.405^*$  ตามลำดับ แต่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง และจำนวนชั้นสีแดงของเถาพันช้ายไม่แสดงค่าสหสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานิน

## บทนำ

แอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นสารแอนติออกซิแดนท์ (antioxidant) ชนิดหนึ่งที่พบในผัก ผลไม้ และพืชหัวหลายชนิด เช่น องุ่น กระเจี๊ยบแดง และดอกอัญชัน เป็นต้น มีช่วงสีแดงถึงสีน้ำเงิน โมเลกุลประกอบด้วยแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) แอนโทไซยานิดินที่พบมากในธรรมชาติมีอยู่ 6 ชนิด คือ Pelargonidin Cyanidin Delphinidin Peonidin Petunidin และ Malvidin ซึ่งแตกต่างกันตามกลุ่มที่เข้าแทนที่ในสูตรโครงสร้างของแอนโทไซยานิดิน (Bonillard *et al.*, 1977) ดังภาพที่ 6.1



ภาพที่ 6.1 สูตรโครงสร้างของแอนโทไซยานิดิน

โดยทั่วไปแอนโทไซยานินมีหน้าที่ในการปกป้องรังสียูวีในพืชได้มีการนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นเป็นยาอายุวัฒนะ ลดการอุดตันในเส้นเลือดหัวใจ (Bridle and Timberlake, 1996) ช่วยในการมองเห็น (Timberlake and Henry, 1988) และป้องกันการเกิดมะเร็ง (Karaivanova *et al.*, 1990; Kamei *et al.*, 1995) Nakamura *et al.* (1990) ศึกษาแอนโทไซยานินจาก ดอกกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus rosasinensis* L.) ซึ่งสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 0.01 ในเมทานอล และนำมาไฮโดรไลส์ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 N เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่ความร้อน 100 องศาเซลเซียส ทำให้แยกแอนโทไซยานิดิน ซึ่งเป็น aglycone ออกมา และน้ำตาล Joseph and Bernard (2003) ทำการแยกแอนโทไซยานินโดยใช้ paper chromatography ชนิดเซลลูโลส และ develop ด้วยตัวทำละลายในสัดส่วนต่างกันคือ กรดไฮโดรคลอริก กรดฟอร์มิก และน้ำ ใน 3 ระบบคือ ระบบที่ 1 19:19:62 ระบบที่ 2 7: 51 42 และระบบที่ 3 25:24:51 โดยปล่อยให้เคลื่อนที่เป็นระยะทาง 18 เซนติเมตร นานประมาณ 120 นาที ซึ่งค่า  $R_f$  ที่ได้จะแตกต่างกัน

ออกไป การทดสอบแอนโทไซยานินกับกะหล่ำปลีสีแดง (red cabbage) พบว่าสีของสารละลายของกะหล่ำปลีสีแดงเปลี่ยนไปตาม pH ที่เปลี่ยนไปดังนี้ pH 1-2 สีแดง (red) pH 3-4 สีม่วงเข้ม (violet) pH 5-6.5 สีม่วงอ่อน (purple) pH 6.5-9.5 สีน้ำเงิน (blue) pH 9.5-11.5 สีเขียว (green) และ pH 11.5-14 สีเหลือง (yellow) (นิรนาม, ม.ป.ป.) และ Markarkis (1982) พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินในผักนี้ Pelargonidin 520 nm Cyanidin 535 nm Delphinidin 544 nm Peonidin 532 nm Petunidin 543 nm และ Malvidin 542 nm และ Adrian, *et al.* (2004) พบว่าแอนโทไซยานินมีการดูดกลืนแสง ช่วง 510- 540 นาโนเมตร

องค์ประกอบทางเคมีของกวาวเครือแดงที่ค้นพบ ได้แก่  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, steroids glycosides และ flavonoids ชนิด 3,7,3-trihydroxy-4-methoxy flavone และ 3,3-dihydroxy-4-methoxyflavone-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside จากการที่รากสะสมอาหารกวาวเครือแดงมียางสีแดง ซึ่งเป็นคุณสมบัติชนิดหนึ่งของแอนโทไซยานิน แต่ยังไม่มีการศึกษาหาสารแอนโทไซยานินในรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง และปริมาณสารแอนโทไซยานิน วัตถุประสงค์การวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาแอนโทไซยานินในรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง ซึ่งผลการวิจัยจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาคุณภาพกวาวเครือแดง ทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ เพื่อนำไปสู่การผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ในรูปของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมบำรุงสุขภาพ และประโยชน์อื่น ๆ ให้มีคุณภาพต่อไป

### วิธีดำเนินการวิจัย

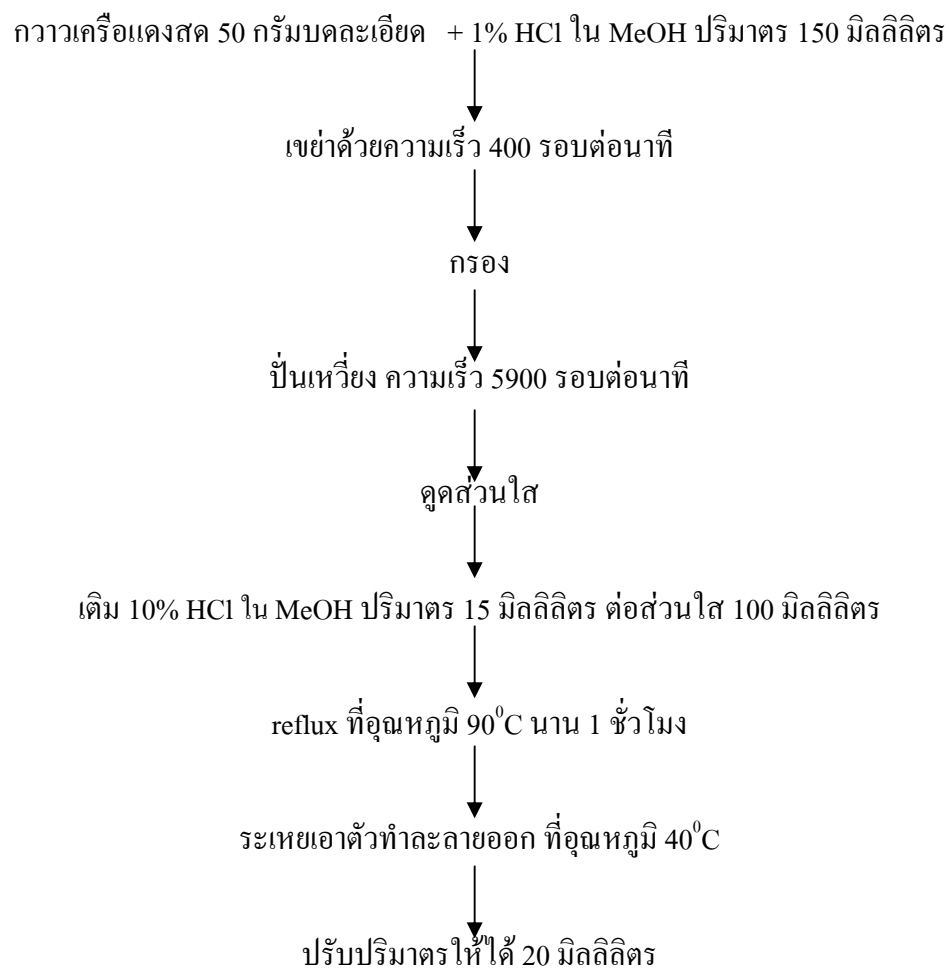
ทำการทดลองในเดือนพฤษภาคม 2548 ถึง เดือนมีนาคม 2549 ที่อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (F2 และ F3) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ในการทดลองแบ่งพืชออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 รากสะสมอาหารกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่เจริญเติบโตอยู่ในธรรมชาติ จาก 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา กาฬสินธุ์ และ สกลนคร จำนวน 27 สายต้น (clones) และกลุ่มที่ 2 รากเถาพันช้าย (*Spatholobus parviflorus* (DC.) Kuntze) จาก 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดบุรีรัมย์ ชัยภูมิ และมหาสารคาม จำนวน 22 สายต้น (clones) รวมสายต้นทั้ง 2 กลุ่ม จำนวน 49 สายต้น ซึ่งเป็นสายต้นเดียวกันกับที่ใช้ในการด้วยเทคนิคด้วยเทคนิค RAPD โดยสายต้นกวาวเครือแดงที่ได้จากจังหวัดนครราชสีมา กาฬสินธุ์ และสกลนคร คัดเลือกเฉพาะต้นที่มีวงปี 5-7 ปี นำมาวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.) จำนวนวงปี (ปี) และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex) (ซม.) ส่วนสายต้นเถาพันช้ายที่ได้จากจังหวัดบุรีรัมย์ ชัยภูมิ และมหาสารคาม จำนวน 22 สายต้น คัดเลือกเฉพาะต้นที่มีชั้นของสีแดง 2-3 ชั้น นำมาวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.) และจำนวนชั้นที่เป็นสีแดง (ชั้น) มาหาค่าความสัมพันธ์ (correlation) กับ



ปริมาณแอนโทไซยานิน ทำการทดลองโดยวิธีสกัดของ Nakamura, *et al.* (1990) และ Wada and Ou (2002) จากการ vary condition ของสารสกัด พบว่าระยะเวลาในการเขย่าสารสกัด 1 ชั่วโมง ปริมาตรของเมทานอล 150 มิลลิลิตรต่อกวางเครือแดงบด 50 มิลลิกรัม และระยะเวลาในการ reflux 1 ชั่วโมง ให้ประสิทธิภาพของแอนโทไซยานินดีที่สุด จึงนำ condition ดังกล่าวมาใช้ในการสกัด กวางเครือแดง ดังนี้

บุคกรากสะสมอาหารกวางเครือแดงที่เจริญเติบโตอยู่ตามธรรมชาติ ในจังหวัดนครราชสีมา มาล้างทำความสะอาด ปอกเปลือก แยกรากสะสมอาหารกวางเครือแดงออกเป็น 3 ส่วน 1) ส่วนเปลือกนอก (สีน้ำตาล) 2) ส่วนชั้นสีแดง (cortex) และ 3) ส่วนเนื้อใน (สีขาว) นำแต่ละส่วนมาหั่นเป็นแผ่น หนาประมาณ 2-3 มิลลิเมตร บคกรากสะสมอาหารกวางเครือแดง 50 กรัม ให้ละเอียด (แยกการบดตัวอย่างแต่ละส่วน) สกัดด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ไฮโดรคลอริกในเมทานอล ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ในภาชนะที่ปิดด้วยแผ่นฟอยล์ (aluminium foil) นำตัวอย่างไปเขย่าบนเครื่อง เขย่านาน 1 ชั่วโมง ที่ความเร็ว 400 รอบต่อนาที แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง กากที่เหลือสกัดอีกครั้งหนึ่งด้วยเมทานอล 20 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้รวมกัน นำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuges ยี่ห้อ Beckman รุ่น GS-15R) ด้วยความเร็ว 5900 รอบต่อนาที โดยเฉพาะส่วนใสมาเติม 10 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรคลอริกในเมทานอล โดยใช้อัตราส่วน 15 มิลลิลิตรต่อสารสกัด 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป reflux ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ระเหยเอาตัวทำละลายออก (เครื่อง Rotavapor ยี่ห้อ Buchi รุ่น R-114) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจนแห้ง ปรับปริมาตรให้ได้ 20 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส สรุบบันทึกขั้นตอนการสกัดรากสะสมอาหารกวางเครือแดงดังในภาพที่ 6.2

นำรากสะสมอาหารกวางเครือแดงที่ในแต่ละสายต้นมาล้างแล้วปอกเปลือกหั่นเป็นแผ่น หนาประมาณ 2-3 มิลลิเมตรมาทำการสกัด โดยวิธีของ Nakamura, *et al.* (1990) และ Wada and Ou (2002) ดังในภาพที่ 6.2



ภาพที่ 6.2 วิธีสกัดแอนโทไซยานินในรากสะสมอาหารกวางเครือแดง

### การตรวจหาแอนโทไซยานินในรากสะสมอาหารกวางเครือแดง

1. การแยกด้วยแผ่นโครมาโทกราฟีแบบผิวบางเคลือบด้วยเซลลูโลส (TLC) (Pre coat TLC plate CEL 300-10 UV<sub>254</sub> ขนาด 10×20 เซนติเมตร) โดย spot สารสกัดรากสะสมอาหารกวางเครือแดง บนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบผิวบางเคลือบด้วยเซลลูโลส เป็นจุด ๆ ละ 2 ไมโครลิตร ด้วยไมโครปิเปต แต่ละจุดห่างกัน 1 เซนติเมตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 10 นาที ชะแผ่นโครมาโทกราฟีแบบผิวบางด้วยเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งประกอบด้วยกรดไฮโดรคลอริก กรดฟอร์มิก และน้ำ ใน 2 ระบบคือ ระบบที่ 1 ใช้เฟสเคลื่อนที่ ในสัดส่วน 7:51:42 และระบบที่ 2 ใช้เฟสเคลื่อนที่ ในสัดส่วน 25:24 :51 (Sherma and Fried, 2003)

2. การตรวจสอบแอนโทไซยานินโดยการดู absorption spectra ในช่วง visible 400-700 nm โดย spot สารสกัดรากสะสมอาหารกวางเครือแดง บนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบผิวบางเคลือบด้วยเซลลูโลส เป็นจุด ๆ ละ 2 ไมโครลิตรด้วยไมโครปิเปต เป็นแถบต่อเนื่องกัน ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 10 นาที ชะแผ่นโครมาโทกราฟีแบบผิวบาง ด้วยเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งประกอบด้วยกรดไฮโดรคลอริก กรดฟอร์มิก และน้ำ ใน 2 ระบบคือ ระบบที่ 1 ใช้เฟสเคลื่อนที่ ในสัดส่วน 7:51:42 และระบบที่ 2 ใช้เฟสเคลื่อนที่ ในสัดส่วน 25:24:51 (Sherma and Fried, 2003) ทิ้งไว้ให้แห้ง ชูดรวมสารที่เป็นจุดสีชมพูที่มีค่า  $R_f$  เท่ากับค่า  $R_f$  ของสารมาตรฐานเข้าด้วยกัน เติมด้วยเมทานอล 5 มิลลิเมตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5900 รอบต่อนาที เพื่อนำสารสกัดออกจากเซลลูโลส จะได้สารละลายสีชมพู จากนั้นนำไปหาการดูดกลืนแสงในช่วง UV-Vis (เครื่อง UV-Visible/NIR spectrophotometer)

3 การตรวจสอบแอนโทไซยานินโดยดูการเปลี่ยนแปลงสี โดยการนำสารสกัด 200 ไมโครลิตร ละลายในเมทานอล 7 มิลลิตร โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก ปรับให้ได้ pH 1-4 และใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ปรับให้ได้ pH สูง 5-13 เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของสี

### การหาปริมาณแอนโทไซยานิน

การหาปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH differential (Wrolstad *et al.*, 2005)

#### 1. การเตรียมสารละลาย

เตรียมสารละลายโปตัสเซียมคลอไรด์ที่ pH 1 โดยละลายโปตัสเซียมคลอไรด์ 1.86 กรัม ในน้ำกลั่น 980 มิลลิตร วัด pH และปรับค่าด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จนได้ pH ที่ 1.0 ปรับปริมาตรให้ได้หนึ่งลิตรด้วยน้ำกลั่น และเตรียมสารละลายโซเดียมอะซีเตต pH 4.5 โดยละลายโซเดียมอะซีเตตในน้ำกลั่น 960 มิลลิตร วัด pH ปรับค่าด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จนได้ค่า pH ที่ 4.5 ปรับปริมาตรให้ได้หนึ่งลิตรด้วยน้ำกลั่น

## 2. การเตรียมตัวอย่างสารสกัด

- 1) นำตัวอย่างสารสกัดควาวเครือแดง 200 ไมโครลิตร ละลายในสารละลายโปตัสเซียมคลอไรด์ ที่ pH 1 ปริมาตร 7 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที
- 2) นำตัวอย่างสารสกัด 200 ไมโครลิตร สารละลายโซเดียมอะซิเตต pH 4.5 ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

## 3. การวัดการดูดกลืนแสง

วัดการดูดกลืนแสงของแต่ละ dilution ที่  $\lambda_{\text{vis max}}$  นาโนเมตร (519 นาโนเมตร) และ  $A_{700}$  (700 นาโนเมตร) เปรียบเทียบกับ blank ซึ่งใช้น้ำกลั่น การวัดการดูดกลืนแสงทำภายใน 30 นาที หลังจากเตรียมตัวอย่างเสร็จ

การคำนวณ ค่าการดูดกลืนแสงของ diluted sample (Wrolstad *et al.*, 2005) ดังนี้

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานิน} = (A \times MW \times DF \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

การคำนวณความเข้มข้นของ โมโนเมอร์ริคแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากสมการค่าการดูดกลืนแสง คำนวณจาก

$$A = (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{PH 1.0}} - (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{PH 4.5}}$$

$$MW = \text{น้ำหนักโมเลกุล } 449.2$$

$$DF = \text{dilution factor (เช่น ตัวอย่าง } 0.2 \text{ มิลลิลิตร เจือจางได้ ปริมาตร } 7 \text{ มิลลิลิตร, } DF = 35)$$

$$\epsilon = \text{molar absorptivity (26,900)}$$

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

### 1. ตัวอย่างที่นำมาหาปริมาณแอนโทไซยานิน

จากการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) จำนวนวงปี (วง) และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex) (เซนติเมตร) ของรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) พบว่า รากสะสมอาหารกวาวเครือแดง ที่ใช้ในการทดลองมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 8.4-15.8 เซนติเมตร จำนวนวงปี 5-7 วง และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex) ระหว่าง 0.6-1.2 เซนติเมตร (ตารางที่ 6.1) ส่วนรากเถาพันช้าย (*Spatholobus parviflorus* (DC.) Kuntze) นั้นพบว่ามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 3.9-6.2 เซนติเมตร และมีจำนวนชั้นของสีแดงอยู่ระหว่าง 2-3 ชั้น (ตารางที่ 6.2)

2. การตรวจหาแอนโทไซยานินบนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบผิวบางเคลื่อนด้วยเซลล์ลูโลส (TLC) รุ่น Pre coated TLC plates CEL 300-10UV<sub>254</sub> ขนาด 10x20 เซนติเมตร ซึ่งมีเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นกรดไฮโดรคลอริก กรดฟอร์มิก และน้ำ ในสัดส่วน 7:51:42 และ 25: 24 :51 (Sherma and Fried, 2003) พบว่าสารสกัดจากรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง ที่แยกสกัด 3 ส่วน คือ 1) ส่วนเปลือกนอก (สีน้ำตาล) 2) ส่วนชั้นสีแดง (cortex) 3) ส่วนเนื้อใน (สีขาว) พบว่าส่วนชั้นสีแดง (cortex) เท่านั้นที่มีคุณสมบัติเหมือนแอนโทไซยานิน คือมีค่า Retention mobility ( $R_f$ ) เท่ากับ 0.34 และ 0.12 (ภาพที่ 6.3 และ 6.4) ซึ่งมีค่าเท่ากับค่า  $R_f$  ของสารแอนโทไซยานิน (Sherma and Fried, 2003) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง มีสเปกตรัมการดูดกลืนแสงช่วง visible ให้ peak สูงสุดตรงตำแหน่ง 519 นาโนเมตร (ภาพที่ 6.5) คล้ายกับสเปกตรัมของแอนโทไซยานิน (Longo and Vasapollo, 2006) (ภาพที่ 6.6) ซึ่ง Adrian, *et al.* (2004) กล่าวว่าแอนโทไซยานินมีคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงช่วง 510-540 นาโนเมตร สารสกัดรากสะสมอาหารกวาวเครือแดงเมื่ออยู่ในสถานะที่เป็นกรดจะให้สีแดงเข้ม และสีเหลืองในสถานะที่เป็นเบส (ภาพที่ 6.7) เหมือนกับของกะหล่ำปลีสีแดง และการเปลี่ยนสีของสารละลายสกัดของน้ำเชอร์รี่ (นิรนาม, ม.ป.ป.)

### 3. ปริมาณแอนโทไซยานินในรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง

สารสกัดรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง เมื่อนำมาเจือจางหลายระดับ และวัดการดูดกลืนแสงช่วง visible (519 นาโนเมตร) พบว่าแปรโดยตรงที่ระดับสารสกัดรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง 200 ไมโครลิตร ต่อสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 7 มิลลิลิตร จึงใช้สัดส่วนนี้กับสารสกัดรากสะสมอาหารกวาวเครือแดงในทุกสายต้น รวมทั้งสารสกัดรากเถาพันช้าย ซึ่งปริมาณแอนโทไซยานินที่คำนวณได้ดังตารางที่ 6.1

ตารางที่ 6.1 ลักษณะรากสะสมอาหาร และปริมาณแอนโทไซยานินของกวางเครือแดง

หมายเลขสาย ต้น (clone number)	แหล่งพันธุ์ (variety source)	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.)	วงปี (วง)	ความหนาของ สีแดง(cortex) (ซม.)	ปริมาณแอน โทไซยานิน µg/g fw
K1	กาฬสินธุ์	11.4	6	1.1	124
K2	กาฬสินธุ์	15.8	7	1.2	140
K3	กาฬสินธุ์	12.4	6	0.9	118
K4	กาฬสินธุ์	13.1	7	1.2	128
K5	กาฬสินธุ์	9.5	5	0.8	69
K6	กาฬสินธุ์	12.8	5	1.0	144
K7	กาฬสินธุ์	15.3	6	0.7	120
K8	กาฬสินธุ์	9.6	6	1.1	98
K9	กาฬสินธุ์	11.4	6	0.8	90
K10	กาฬสินธุ์	12.8	5	0.8	112
K11	กาฬสินธุ์	8.4	5	0.7	92
N1	นครราชสีมา	14.2	6	0.6	98
N2	นครราชสีมา	9.8	5	0.6	80
N3	นครราชสีมา	10.9	5	0.6	122
N4	นครราชสีมา	14.3	5	0.7	84
N5	นครราชสีมา	8.4	6	0.7	82
N6	นครราชสีมา	11.3	6	0.8	96
N7	นครราชสีมา	12.7	7	1.2	118
N8	นครราชสีมา	9.2	5	0.6	78
N9	นครราชสีมา	12.4	6	0.9	104
N10	นครราชสีมา	15.0	6	0.8	106
SK1	สกลนคร	8.5	5	0.7	81
SK2	สกลนคร	10.0	6	0.8	122
SK3	สกลนคร	9.2	5	0.7	82
SK4	สกลนคร	10.5	6	0.8	130
SK5	สกลนคร	14.3	6	1.1	132
SK6	สกลนคร	12.8	6	0.9	120

จากตารางที่ 6.1 ปริมาณแอนโทไซยานินของรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง จากจังหวัด สกลนคร นครราชสีมา และกาฬสินธุ์ พบว่าสายต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ (K6) ให้ปริมาณ แอนโทไซยานินมากที่สุด คือ 144 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และสายต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ (K5) ให้ปริมาณแอนโทไซยานินน้อยที่สุด คือ 69 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และพบว่า K6 มี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex) มากกว่า K5 แต่มีจำนวนวงปี เท่ากันคือ 5 วง แสดงว่าปริมาณของแอนโทไซยานินไม่ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งสายพันธุ์ จากการหาค่า ความสัมพันธ์ (correlation) ของรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง กับปริมาณแอนโทไซยานิน พบว่า ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลาง และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex) ของรากสะสมอาหาร กวาวเครือแดงมีความสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานิน โดยแสดงค่าสหสัมพันธ์ (correlation) เท่ากับ  $0.404^*$  และ  $0.405^*$  ตามลำดับ (ตารางที่ 6.3) ส่วนวงปีไม่มีสหสัมพันธ์กับ ปริมาณแอนโทไซยานิน อาจเป็นไปได้ว่าตัวอย่างที่นำมาศึกษาครั้งนี้เลือกเฉพาะตัวอย่างที่มีจำนวน วงปีใกล้เคียงกันมากที่สุด จึงไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ชัดเจน การวิเคราะห์ Multiple Regression ได้สมการ Multiple Linear Regression ดังนี้

$$Y = 161.621 + 7.902X_1^* \text{ diameter} + (-13.825X_2^{\text{ns}} \text{ ring}) + 107.877X_3^* \text{ cortex}$$

$r^2 = 0.251^{\text{ns}}$  แสดงว่าเส้นผ่าศูนย์กลาง จำนวนวงปี และความหนาของส่วนที่ เป็นสีแดง (cortex) ของรากสะสมอาหารกวาวเครือแดงโดยรวมไม่มีอิทธิพลกับปริมาณ แอนโทไซยานิน อาจเป็นไปได้ว่าตัวอย่างกวาวเครือแดงที่นำมาทดลองมีลักษณะที่ใกล้เคียงกันมาก จึงไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ชัดเจน

ตารางที่ 6.2 ลักษณะราก และปริมาณแอนโทไซยานินของเถาพันธุ์

หมายเลขสายต้น (clone number)	แหล่งพันธุ์ (variety source)	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.)	จำนวนชั้นของสี แดง (ชั้น)	ปริมาณแอน โทไซยานิน µg/g fw
C1	ชัยภูมิ	5.1	3	190
C2	ชัยภูมิ	4.8	3	218
C3	ชัยภูมิ	3.9	2	173
C4	ชัยภูมิ	5.5	3	178
C5	ชัยภูมิ	5.7	3	204
C6	ชัยภูมิ	6.2	3	230
C7	ชัยภูมิ	5.3	3	224
C8	ชัยภูมิ	5.9	3	252
C9	ชัยภูมิ	4.8	3	216
C10	ชัยภูมิ	5.4	3	218
B1	บุรีรัมย์	6.1	2	219
B2	บุรีรัมย์	4.0	3	172
B3	บุรีรัมย์	4.7	3	178
B4	บุรีรัมย์	5.6	3	222
B5	บุรีรัมย์	5.4	3	182
B6	บุรีรัมย์	6.1	3	204
S1	มหาสารคาม	6.2	3	242
S2	มหาสารคาม	5.6	3	226
S3	มหาสารคาม	6.1	3	230
S4	มหาสารคาม	5.3	3	220
S5	มหาสารคาม	4.7	3	173
S6	มหาสารคาม	5.7	3	221



จากตารางที่ 6.2 ปริมาณแอนโทไซยานินของเถาพันช้าย (*Spatholobus parviflorus* (DC.) Kuntze) จากจังหวัดชัยภูมิ บุรีรัมย์ และมหาสารคาม จำนวน 22 สายต้น พบว่าสายต้นจากจังหวัดชัยภูมิ (C8) ให้ปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุด คือ 252 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และสายต้นจากจังหวัดบุรีรัมย์ (B2) ให้ปริมาณแอนโทไซยานินน้อยที่สุด คือ 172 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ซึ่ง C8 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.9 เซนติเมตร และ B2 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.0 เซนติเมตร แต่เถาพันช้ายทั้ง 2 ต้นมีจำนวนชั้นของสีแดงเท่ากันคือ 3 ชั้น จากการหาค่าความสัมพันธ์ (correlation) (ตารางที่ 6.4) ของรากเถาพันช้าย กับปริมาณแอนโทไซยานิน พบว่าทั้งขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลาง และจำนวนชั้นที่เป็นสีแดง ไม่มีสหสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานิน จากการวิเคราะห์ Multiple Regression ได้สมการ Multiple Linear Regression ดังนี้

$$Y = 276.278 + 44.675x_1^{ns} \text{ diameter} + (-5.751^{ns} \text{ ring})$$

$$r^2 = 0.067^{ns} \text{ แสดงว่าเส้นผ่าศูนย์กลาง และจำนวนชั้นที่เป็นสีแดงของราก}$$

สะสมอาหารกวาวเครือแดงโดยรวมไม่มีอิทธิพลกับปริมาณแอนโทไซยานิน

เมื่อนำปริมาณแอนโทไซยานินที่ได้จากการคำนวณในแต่ละสายต้นทั้งกวาวเครือแดง และเถาพันช้าย มาเปรียบเทียบกับ dendrogram (DNA) ของกวาวเครือแดง และเถาพันช้าย จากเทคนิค RAPD โดยแยกที่ระดับความใกล้ชิดประมาณ 32 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 6.9) แบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 กวาวเครือแดง มี 27 สายต้น และที่ระดับความใกล้ชิด 85 เปอร์เซ็นต์ สามารถแยกได้อีก 5 กลุ่มย่อย และกลุ่มที่ 2 เถาพันช้าย มี 22 สายต้น ที่ระดับความใกล้ชิด 85 เปอร์เซ็นต์ สามารถแยกได้อีก 3 กลุ่มย่อย พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินไม่สามารถแบ่งได้ชัดเจนตาม dendrogram ของกลุ่มย่อยได้ แต่ปริมาณแอนโทไซยานินของรากสะสมอาหารกวาวเครือแดงมีความสัมพันธ์กับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex)

ตารางที่ 6.3 แสดงสหสัมพันธ์ เส้นผ่าศูนย์กลาง จำนวนวงปี และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex) กับปริมาณแอนโทไซยานินของรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง จากจังหวัด นครราชสีมา กาฬสินธุ์ และสกลนคร

ลักษณะที่บันทึก	ปริมาณแอนโทไซยานิน
เส้นผ่าศูนย์กลาง	0.404*
จำนวนวงปี	0.264 <sup>ns</sup>
ชั้น cortex	0.405*
r <sup>2</sup>	0.251 <sup>ns</sup>

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

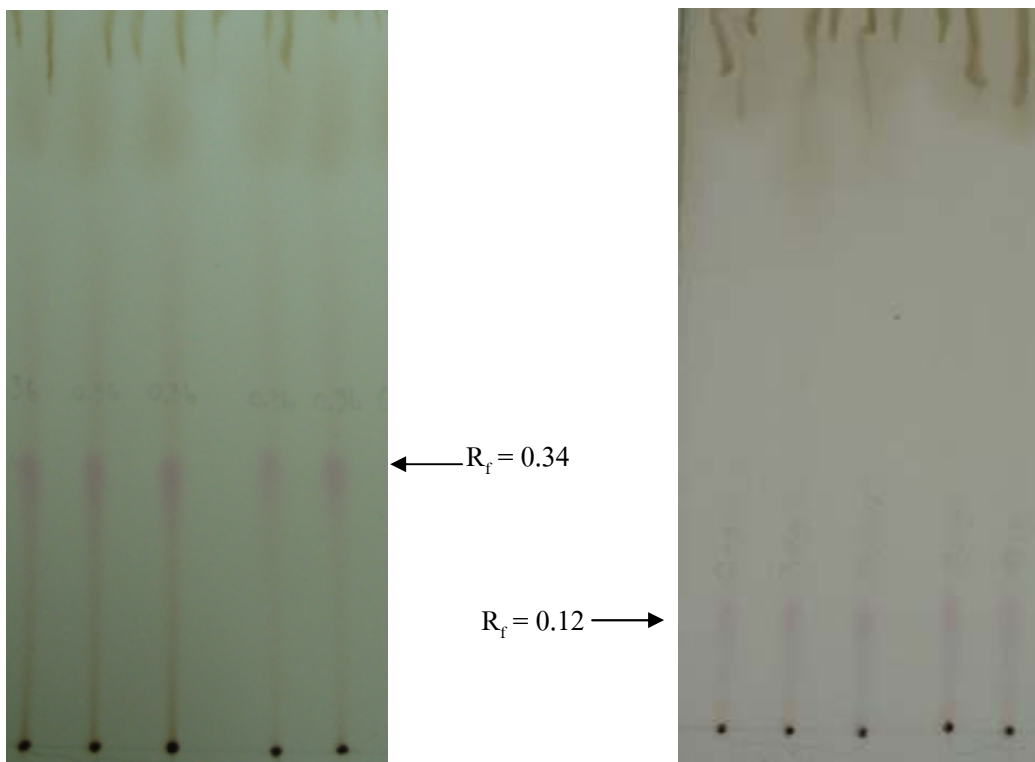
\* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5%

ตารางที่ 6.4 แสดงสหสัมพันธ์ เส้นผ่าศูนย์กลาง และจำนวนชั้นที่เป็นสีแดง กับปริมาณ แอนโทไซยานินของเถาพันช้าย จากจังหวัดชัยภูมิ บุรีรัมย์ และมหาสารคาม

ลักษณะที่บันทึก	ปริมาณแอนโทไซยานิน
เส้นผ่าศูนย์กลาง	0.258 <sup>ns</sup>
จำนวนชั้นที่เป็นสีแดง	0.029 <sup>ns</sup>
r <sup>2</sup>	0.067 <sup>ns</sup>

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

\* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5%

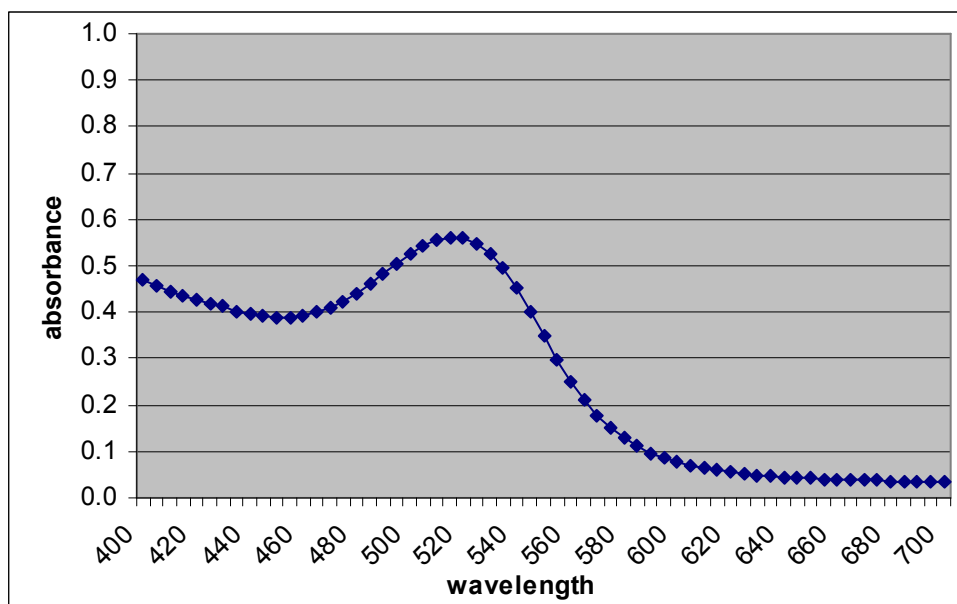


ภาพที่ 6.3

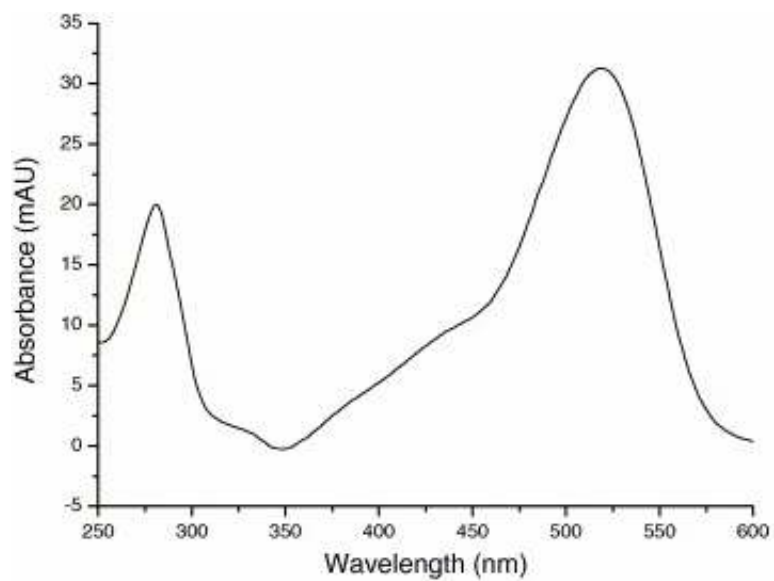
ภาพที่ 6.4

ภาพที่ 6.3 ค่า  $R_f$  (0.34) ของสารสกัดแอนโทไซยานินบนแผ่น โครมาโทกราฟี  
(กรดไฮโดรคลอริก กรดฟอร์มิก และน้ำ ในสัดส่วน 7: 51: 42)

ภาพที่ 6.4 ค่า  $R_f$  (0.12) ของสารสกัดแอนโทไซยานินบนแผ่น โครมาโทกราฟี  
(กรดไฮโดรคลอริก กรดฟอร์มิก และน้ำ ในสัดส่วน 25:24:51)



ภาพที่ 6.5 สเปกตรัมของสารสกัดแอนโทไซยานินที่ 519 nm



ภาพที่ 6.6 สเปกตรัมของแอนโทไซยานินมาตรฐาน (cyanidin) (Longo and Vasapollo, 2006)

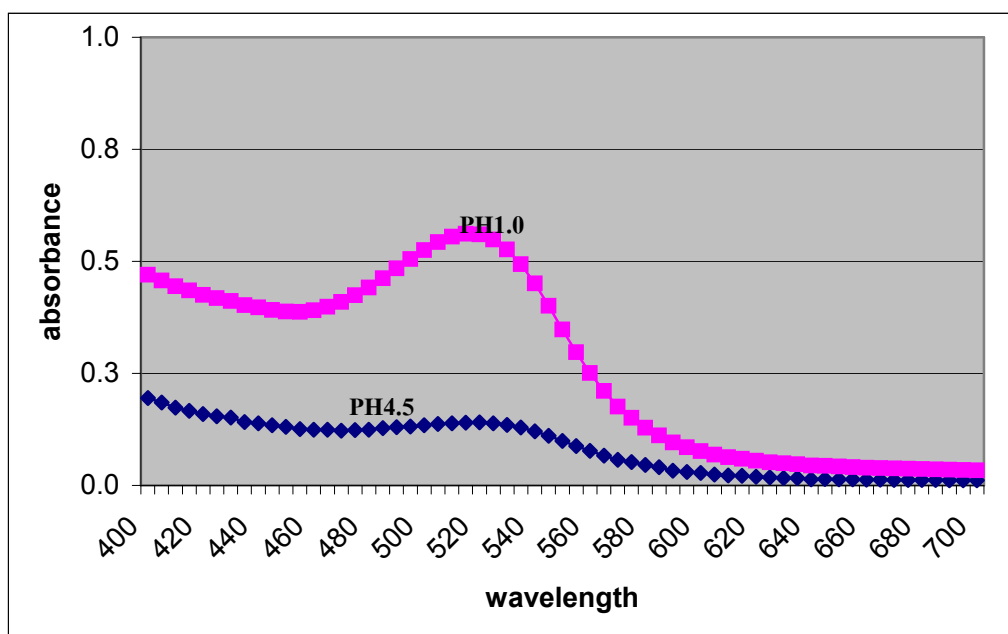


pH 1.0

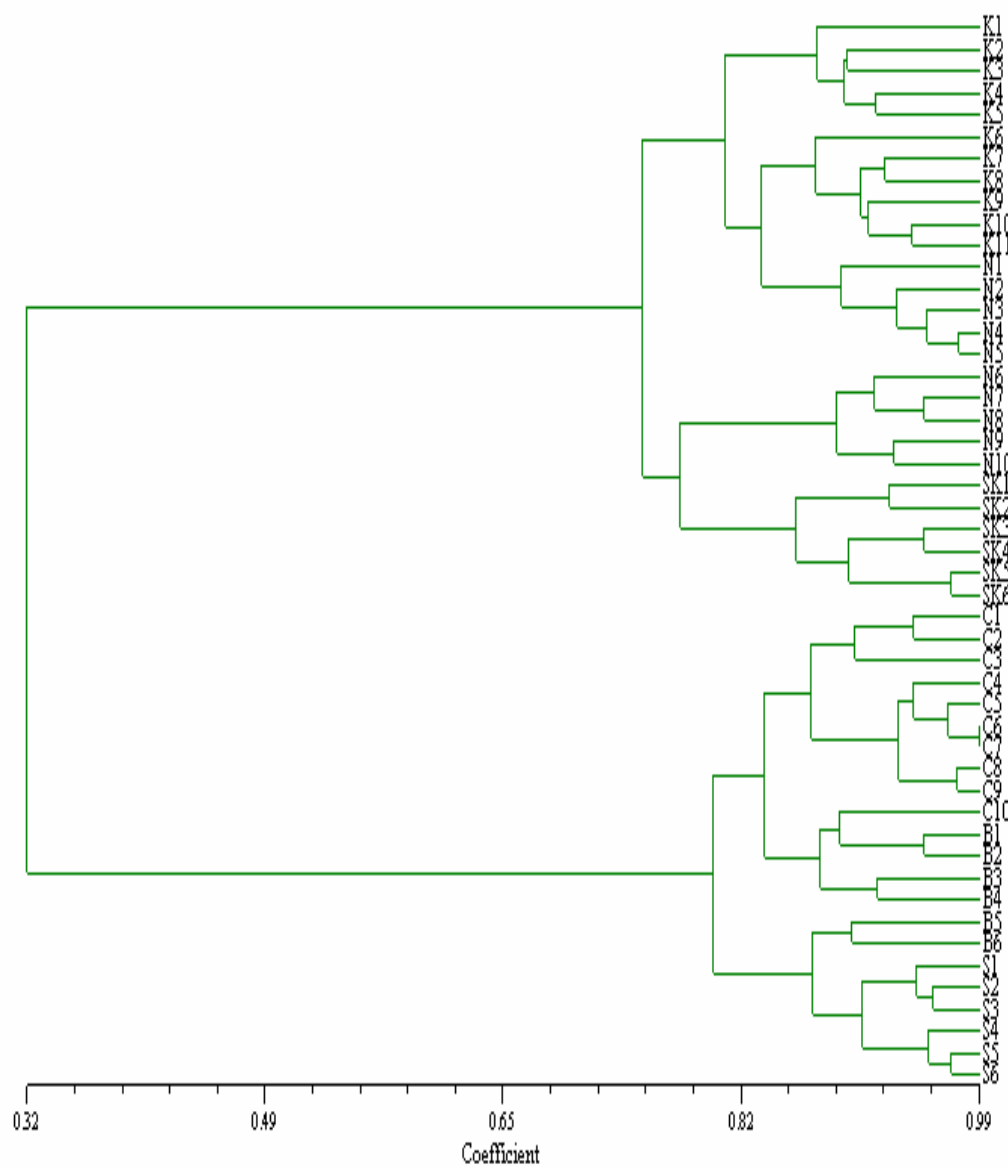
pH 7.0

pH 14

ภาพที่ 6.7 การเปลี่ยนสีของสารสกัดแอนโทไซยานินจาก pH 1.0-pH 14



ภาพที่ 6.8 สเปกตรัมของสารสกัดแอนโทไซยานินที่ pH 1.0 และ 4.5



**ภาพที่ 6.9** การจัดสายต้นของถั่วเขียวแดงโดยลักษณะ DNA ที่แตกต่างกันจำนวน 888 ตำแหน่ง แสดงการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของถั่วเขียวแดง และถั่วพันช้ายที่ จำแนกด้วยความแตกต่างของ DNA fragment ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี RAPD

## สรุปผลการวิจัย

รากสะสมอาหารกวาวเครือแดงที่นำมาทดลองมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 8.4-15.8 เซนติเมตร จำนวนวงปี 5-7 วง และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (cortex) 0.6-1.2 เซนติเมตร รากเถาพันช้าย มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 3.9-6.2 เซนติเมตร และจำนวนชั้นของสีแดง 2-3 ชั้น สารสกัดกวาวเครือแดงและเถาพันช้าย บนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบผิวบางเคลือบด้วย เซลลูโลส จาก 2 เฟสเคลื่อนที่มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.34 และ 0.12 มีค่าการดูดกลืนแสงตรงตำแหน่ง 519 นาโนเมตร และมีการเปลี่ยนสีตาม pH ที่เปลี่ยนไป คือ pH 1-14 เปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำตาล ปริมาณแอนโทไซยานินไม่ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งสายพันธุ์ แต่พบว่าขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลาง และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดงของรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง มีความสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานิน แต่ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางและจำนวนชั้นที่เป็นสีแดงของเถาพันช้าย ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานินเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินกับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม จากเทคนิคดีเอ็นเอ พบว่า แยกได้ 2 กลุ่มใหญ่ ที่ระดับ 32% คือ กวาวเครือแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 69-144 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และเถาพันช้ายมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 172-252 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างเป็นกลุ่มย่อยได้

## รายการอ้างอิง

นิรนาม (ม.ป.ป.) [ออนไลน์]. ได้จาก

[http://faculty.dbcc.edu/swansoj/Acidity\\_Determination\\_Using\\_Indicators.htm](http://faculty.dbcc.edu/swansoj/Acidity_Determination_Using_Indicators.htm)

Bonillard *et al.* (1977). [On-line]. Available: [http://www.micro-ox.com/chem\\_antho.htm](http://www.micro-ox.com/chem_antho.htm)

Bridle, P. and Timberlake, C.F. (1996). Anthocyanins as natural food colors selected aspects. *Food Chem.* 58: 103-109.

Bonillard *et al.*, (1977). [On-line]. Available: [http://www.micro-ox.com/chem\\_antho.htm](http://www.micro-ox.com/chem_antho.htm)

Christian, G. G., Andre, S. P. and Neyde, Y. M. (2003). [On-line]. Available:

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-37652003000200004  
&lng=&nrm=iso&tlng](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652003000200004&lng=&nrm=iso&tlng)

Jean, H. R., Philippe, T., Monique, Z. H., Louisette, L. M., Andre, D., Alain, F. and Rodolphe, M. (1997). Preparative separation of anthocyanins by gradient elution centrifugal partition chromatography. *Journal of chromatography A*, 763 : 345-352.

Kamei, H., Kojima, T., Hasegawa, M., Koide, T., Umeda, T., Yukawa, T., and Terbe, K. (1995). Suppression of tumor cell growth by anthocyanins in viro. *Cancer Invest.* 13 : 590-594.

Karaivanova, M., Drenska, D., and Ovcharov, R. (1990). A modification of the toxic effects of platinum complexes with anthocyanins. *Eksp. Med. Morfol.* 29: 19-24.

Longo, L. and Vasapolla, G. (2006). Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chemistry* 94: 226-231.

Markarkis, P. (1982). Stability of anthocyanins in food In P. Markarkis (ed.), *Anthocyanins as Food Colors*, New York: Academic Press, 163-178.

Nakamura, Y., Hidaka, M., Masaki, H., Seto, H. and Uozumi, T. (1990). Major anthocyanin of the flowers of Hibiscus (*Hibiscus rosasinensis* L.). *Agriculture and Biological Chemistry* 54: 3345-3346.

Sherma, J. and Fried, B. (2003). *Handbook of Thin Layer Chromatography*. Marcel Dekker, USA. 1104.

Timberlake, C.F. and Henry, B.S. (1988). Anthocyanins as natural food colorants. *Prog. Clin. Biol. Res.* 280: 107-121.



- Wada, L. and Ou, B. (2002). Antioxidant Activity and Phenolic Content of Oregon Caneberries. *Agric. Food Chem.* 50: 3495-3500.
- Wrolstad, R.E., Robert W.D. and Jungmin, L. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in food science and technology.* 16: 423-428.

## บทที่ 7

### บทสรุปและข้อเสนอแนะ

#### อิทธิพลของ NAA และการให้น้ำต่อการติดฝักและเมล็ดในกวาวเครือแดง

1. กวาวเครือแดงที่ให้น้ำทำให้มีความยาวช่อดอกสูงสุด และจำนวนเมล็ดต่อฝักสูงสุด
2. กวาวเครือแดงที่ฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำ ให้จำนวนฝักต่อช่อดอกมากที่สุด
3. การฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำไม่มีผลต่อน้ำหนัก 100 เมล็ด
4. เมล็ดสมบูรณ์ของกวาวเครือแดงมีผิวเปลือกเมล็ดค่อนข้างเรียบ embryo มีขนาดใหญ่ ปลายยอด และปลายรากมีขนาดใหญ่ กลุ่มเซลล์มีลักษณะเต่ง มีอาหารสะสมเต็มเซลล์ ส่วนเมล็ดไม่สมบูรณ์ มีผิวเปลือกเมล็ดไม่เรียบ embryo มีขนาดเล็ก ปลายยอดและปลายรากไม่สมบูรณ์ กลุ่มเซลล์เหี่ยวแบน มีอาหารสะสมน้อย

ดังนั้นการดูแลกวาวเครือแดงให้มีความยาวช่อดอกสูง และจำนวนเมล็ดต่อฝักสูง ควรให้น้ำแก่กวาวเครือแดงในช่วงของการออกดอกและติดฝัก และหากต้องการเพิ่มจำนวนฝักต่อช่อดอกควรฉีด NAA 100 ppm ร่วมกับการให้น้ำ การคัดเลือกเมล็ดกวาวเครือเพื่อขยายพันธุ์ควรเลือกเมล็ดที่มีผิวเปลือกเมล็ดค่อนข้างเรียบ ไม่เหี่ยวแบน จะทำให้ได้ embryo ที่มีขนาดใหญ่ ปลายยอด และปลายรากมีขนาดใหญ่ กลุ่มเซลล์มีลักษณะเต่ง มีอาหารสะสมเต็มเซลล์

#### การเจริญและพัฒนาของกวาวเครือแดงในรอบปี

จากการศึกษาการเจริญและการพัฒนาของกวาวเครือแดงในรอบปี พบว่ามี 5 ระยะ คือ ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน ระยะใบแก่ ระยะผลัดใบ ระยะออกดอก และระยะติดฝัก โดยกวาวเครือแดงแตกเครือเถาและใบอ่อน 100% ในต้นเดือนมิถุนายน ใบแก่เต็มที่ 100% ในปลายเดือนกันยายน ผลัดใบ 100% กลางเดือนพฤศจิกายน ออกดอก 100% ปลายเดือนกุมภาพันธ์ และฝักแก่ 100% กลางเดือนมีนาคม ดังนั้นการเจริญและการพัฒนาในรอบปีของกวาวเครือแดงในแต่ละระยะจะเป็นแนวทางเพื่อการปฏิบัติกับกวาวเครือแดงให้มีประสิทธิภาพสูงสุด

จากการนำการเจริญและการพัฒนาของกวาวเครือแดง มาสัมพันธ์กับสภาพภูมิอากาศ อุณหภูมิสูงสุด และปริมาณน้ำฝนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 หน่วย จาก 32.93°C และ 0 มม./วัน ทำให้เปอร์เซ็นต์การแตกเครือเถาเพิ่มขึ้นหรือลดลง 9.98% และ 12.52% ตามลำดับ อุณหภูมิต่ำสุด และความชื้นสัมพัทธ์ลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 หน่วย จาก 20.62°C และ 89.87% ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบ

เพิ่มขึ้นหรือลดลง 22.40% และ 5.49% ตามลำดับ อุณหภูมิต่ำสุดลดลง หรือเพิ่มขึ้น 1 หน่วย จาก 19.02°C ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.94% อุณหภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 หน่วย จาก 31.91°C และ 79.13% ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 10.36% และ 3.83% ตามลำดับ อุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1°C จาก 30.94°C ทำให้เปอร์เซ็นต์การติดฝักเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.31% สภาพภูมิอากาศมีความสัมพันธ์กับการเจริญและการพัฒนาในรอบปีของกวาวเครือแดง

### การจำแนกสายพันธุ์กวาวเครือแดงโดยเทคนิค RAPD

จากการศึกษาหาความสัมพันธ์ของสายพันธุ์กวาวเครือแดง จำนวน 49 สายต้น โดยเทคนิค RAPD ควบคู่กับการศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ใช้ไพรเมอร์ 40 ชนิด สามารถตรวจจับดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 888 ตำแหน่ง เป็น polymorphic 813 ตำแหน่ง คิดเป็น 91.55% ของตำแหน่งดีเอ็นเอทั้งหมด เป็น monomorphic 75 ตำแหน่ง คิดเป็น 8.45% ของตำแหน่งดีเอ็นเอทั้งหมด ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม โปรแกรม NTSYSpc version 2.10X คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (similarity coefficient) ด้วย Jaccard และจัดกลุ่ม dendrogram ด้วย unweighted pair group method using arithmetic means (UPGMA) พบว่าการจัดกลุ่มตามแหล่งกำเนิด หรือแหล่งกระจายพันธุ์ของกวาวเครือแดง ที่ระดับความใกล้ชิด 32 เปอร์เซ็นต์ สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ตรงกับที่มีการบันทึกไว้ของ กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) 27 สายต้น และเมื่อแยกที่ระดับความใกล้ชิด 85 เปอร์เซ็นต์ แบ่งได้ 5 กลุ่มย่อย ประกอบด้วยกวาวเครือแดงจากจังหวัดกาฬสินธุ์ จำนวน 11 สายต้น นครราชสีมา จำนวน 10 สายต้น และสกลนคร จำนวน 6 สายต้น และกลุ่มที่ 2 มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ตรงกับที่มีการบันทึกไว้ของ เถาพันช้าย (*Spatholobus parviflorus* [DC.] Kuntze) 22 สายต้น และเมื่อแยกที่ระดับความใกล้ชิด 85 เปอร์เซ็นต์ แบ่งได้ 3 กลุ่มย่อย ประกอบด้วยเถาพันช้ายจากจังหวัดชัยภูมิ จำนวน 10 สายต้น บุรีรัมย์ จำนวน 6 สายต้น และมหาสารคาม จำนวน 6 สายต้น ผลความสัมพันธ์ทางพฤกษศาสตร์จาก 11 ลักษณะ ได้แก่ ลำต้น รูปทรงใบ ฐานใบ ปลายใบ สี ก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝักอ่อน ฝักแก่ และสีเมล็ด ของพืชทั้ง 2 กลุ่ม พบว่ามีความใกล้ชิดกันเพียง 19 เปอร์เซ็นต์ แต่พบสายต้นที่เหมือนกันจากทั้ง 2 กลุ่ม โดยเหมือนกัน 100% จำนวน 2 ต้น มี 7 คู่ และเหมือนกัน 100% มากกว่า 2 ต้น มี 7 กลุ่ม แต่จากลักษณะทางพันธุกรรมมีความแตกต่างกันทุกสายต้น ดังนั้นลักษณะทางพฤกษศาสตร์แยกความแตกต่างกันได้ยาก จึงต้องอาศัยเทคนิคทางด้าน DNA Fingerprint เพื่อตรวจสอบเอกลักษณ์ทางพันธุกรรม หรือตรวจสอบความแตกต่างของกวาวเครือแดง และพบว่าเทคนิค RAPD สามารถใช้จำแนกสายต้นของกวาวเครือแดงได้

### ปริมาณแอนโทไซยานิน ( anthocyanin ) ในรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง

สารสกัดกวาวเครือแดง และเถาพันช้าย บนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบผิวบางเคลือบด้วยเซลลูโลส จาก 2 เฟสเคลื่อน ที่มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.34 และ 0.12 มีค่าการดูดกลืนแสงตรงตำแหน่ง 519 นาโนเมตร และมีการเปลี่ยนสีตาม pH ที่เปลี่ยนไป คือ pH 1-14 เปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำตาล ปริมาณแอนโทไซยานินมีความสัมพันธ์กับขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลาง และความหนาของส่วนที่เป็นสีแดงของรากสะสมอาหารกวาวเครือแดง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินกับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม จากเทคนิคดีเอ็นเอ พบว่า แยกได้ 2 กลุ่มใหญ่ ที่ระดับ 32% คือ กวาวเครือแดง มีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 69-144 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และเถาพันช้าย มีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 172-252 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดแต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างของปริมาณแอนโทไซยานินจากกลุ่มใหญ่เป็นกลุ่มย่อยได้ชัดเจน

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของ NAA และน้ำ ต่อความยาวช่อดอก และจำนวนฝักต่อช่อดอก  
กวางเครือแดง

Source	df	MS	
		ความยาวช่อดอก (ซม.)	จำนวนฝักต่อช่อดอก (ฝัก)
Block	1	19.109 <sup>*</sup>	0.41 <sup>ns</sup>
Treatment	4	53.96 <sup>**</sup>	5.68 <sup>*</sup>
Water (W)	1	192.00 <sup>**</sup>	20.48 <sup>**</sup>
PGR (P)	1	2.21 <sup>ns</sup>	1.81 <sup>*</sup>
W * P	1	1.28 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>
Error	3	0.735	0.068
%CV		15.35	58.84

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ \* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 5%

\*\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 1%

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลของ NAA และน้ำ ต่อจำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ด  
กวางเครือแดง

Source	df	MS	
		จำนวนเมล็ดต่อฝัก (เมล็ด)	น้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ด (กรัม)
Block	1	.001 <sup>ns</sup>	6.480 <sup>ns</sup>
Treatment	4	.014 <sup>ns</sup>	16.431 <sup>ns</sup>
Water (W)	1	.039 <sup>*</sup>	48.020 <sup>ns</sup>
PGR (P)	1	.002 <sup>ns</sup>	5.780 <sup>ns</sup>
W * P	1	.011 <sup>ns</sup>	5.445 <sup>ns</sup>
Error	3	.002	34.803
%CV		9.02	3.42

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ \* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 5%

\*\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 1%

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลของ NAA และน้ำ ต่อความยาวช่อดอก และจำนวนฝักต่อช่อดอก

กวางเครือแดง

ปัจจัยสารควบคุมการเจริญเติบโต	ความยาวช่อดอก (ซม.)	จำนวนฝักต่อช่อดอก (ฝัก)
ไม่ฉีด NAA และ ไม่ให้น้ำ	26.90 b	1.00d
ฉีด NAA และ ไม่ให้น้ำ	27.15b	2.00c
ไม่ฉีด NAA และ ให้น้ำ	34.50a	4.25b
ฉีด NAA และ ให้น้ำ	36.35a	5.10a

<sup>1/</sup>เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลของ NAA และน้ำ ต่อจำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักเมล็ด 100เมล็ด

กวางเครือแดง

ปัจจัยสารควบคุมการเจริญเติบโต	จำนวนเมล็ดต่อฝัก (เมล็ด.)	น้ำหนักเมล็ด 100เมล็ด (กรัม)
ไม่ฉีด NAA และ ไม่ให้น้ำ	0.97b	140.20
ฉีด NAA และ ไม่ให้น้ำ	0.94b	143.55
ไม่ฉีด NAA และ ให้น้ำ	1.04ab	146.75
ฉีด NAA และ ให้น้ำ	1.15a	146.80

<sup>1/</sup>เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 5 ไพรเมอร์และลำดับนิวคลีโอไทด์

ไพรเมอร์	Nucleotide sequence (5'→ 3')
1. OPA01	CAGGCCCTTC
2. OPA02	TGCCGAGCTG
3. OPA11	CAATCGCCGT
4. OPB11	GTAGACCCGT
5. OPB20	GGACCCTTAC
6. OPC04	CCGCATCTAC
7. OPC05	GATGACCGCC
8. OPC07	GTCCCGACGA
9. OPC08	TGGACCGGTG
10. OPC19	GTTGCCAGCC
11. OPD03	GTCGCCGTCA
12. OPD04	TCTGGTGAGG
13. OPD08	GTGTGCCCCA
14. OPD10	GGTCTACACC
15. OPD13	GGGGTGACGA
16. OPD18	GAGAGCCAAC
17. OPD20	ACCCGGTCAC
18. OPE01	CCCAAGGTCC
19. OPE02	GGTGCGGGAA
20. OPE06	AAGACCCCTC
21. OPE07	AGATGCAGCC
22. OPE14	TGCGGCTGAG
23. OPE19	ACGGCGTATG
24. OPG03	GAGCCCTCCA
25. OPG08	TCACGTCCAC
26. OPG10	AGGGCCGTCT



ตารางภาคผนวกที่ 5 (ต่อ)

ไพรเมอร์	Nucleotide sequence (5' → 3')
27.OPG16	AGCGTCCTCC
28.OPM05	GGGAACGTGT
29.P83	GGCCGACTTGGC
30. P85	CAGGCCGAAGTC
31. P88	CGACGATATGAT
32. P2589	GACAGACAGACAGACC
33. P2671	ATAAGCGCACCA
34. P2674	GAGCTCCCGACA
35. P2680	ATCGTCACCCCG
36.OPS05	TTTGGGGCCT
37. OPS09	TCCTGGTCCC
38. OPS11	AGTCGGGTGG
39. OPS16	AGGGGGTTCC
40. OPS19	GAGTCAGCAG

ตารางภาคผนวกที่ 6 ค่าวิเคราะห์ดินในบริเวณที่พบกวาวเครือแดงในพื้นที่ต่างๆ

จังหวัด	OC	OM	N(%)	P (ppm)	K (ppm)	pH	EC ( $\mu$ S/CM)
กาฬสินธุ์	0.865	1.490	0.109	0.3	43.050	6.22	32.0
นครราชสีมา	0.466	0.803	0.120	1.0	60.720	7.48	55.7
สกลนคร	0.798	1.376	0.150	0.4	92.190	6.3	36.8
บุรีรัมย์	0.778	1.341	0.108	0.8	94.170	7.37	68.7
มหาสารคาม	0.599	1.032	0.130	0.9	98.130	6.81	71.3
ชัยภูมิ	0.446	0.768	0.062	0.3	27.510	7.69	64.3

	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10	K11	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	SK1	SK2	SK3	SK4	
K1	1																									
K2	0.9	1																								
K3	0.9	0.9	1																							
K4	0.9	0.9	0.9	1																						
K5	0.9	0.9	0.9	0.9	1																					
K6	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	1																				
K7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	1																			
K8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	1																		
K9	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	1																	
K10	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	0.9	1																
K11	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	1															
N1	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	1														
N2	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	1													
N3	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	1												
N4	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	1	1											
N5	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	1	1	1										
N6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	1									
N7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	1								
N8	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	1						
N9	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	1					
N10	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	0.9	1				
SK1	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	1			
SK2	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	1		
SK3	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	1	
SK4	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	1
SK5	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9
SK6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9
C1	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
C2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
C3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
C4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
C5	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
C6	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
C7	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
C8	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
C9	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
C10	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
B1	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
B2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
B3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
B4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
B5	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
B6	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
S1	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
S2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
S3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
S4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
S5	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
S6	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	

ภาพผนวกที่ 1 ความเหมือนของแบบแผนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยพีซีอาร์

SK5 SK6 C1 C2 C3 C4 C5 C6 C7 C8 C9 C10 B1 B2 B3 B4 B5 B6 S1 S2 S3 S4 S5 S6

```

1
1 1
0.3 0.3 1
0.3 0.3 0.9 1
0.3 0.3 0.9 0.9 1
0.3 0.3 0.9 0.9 0.9 1
0.3 0.3 0.9 0.9 0.9 0.9 1
0.3 0.3 0.9 0.9 0.9 0.9 1 1
0.3 0.3 0.9 0.9 0.9 0.9 1 1 1
0.3 0.3 0.8 0.8 0.9 0.9 0.9 1 1 1
0.3 0.3 0.8 0.8 0.9 0.9 0.9 0.9 0.9 1 1
0.3 0.3 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 0.9 0.9 0.9 0.9 1
0.3 0.3 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 0.9 0.8 0.9 0.9 1
0.3 0.3 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 0.8 0.9 0.8 0.9 1
0.3 0.3 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 0.9 0.9 0.9 1
0.3 0.3 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 0.8 0.9 0.9 0.9 1
0.3 0.3 0.7 0.7 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 1
0.3 0.3 0.7 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 0.9 1
0.3 0.3 0.7 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 0.9 0.9 1
0.3 0.3 0.7 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 0.9 0.9 1
0.3 0.3 0.7 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 0.9 0.9 1 1
0.3 0.3 0.7 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 0.9 0.9 1 1

```

ภาพผนวกที่ 1 ความเหมือนของแบบแผนดิเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยพีซีอาร์(ต่อ)

	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10	K11	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	SK1	SK2	SK3	
K1	1.0																								
K2	0.8	1.0																							
K3	0.8	1.0	1.0																						
K4	0.8	0.7	0.7	1.0																					
K5	0.8	0.7	0.7	1.0	1.0																				
K6	1.0	0.8	0.8	0.8	0.8	1.0																			
K7	1.0	0.8	0.8	0.8	0.8	1.0	1.0																		
K8	1.0	0.8	0.8	0.8	0.8	1.0	1.0	1.0																	
K9	1.0	0.8	0.8	0.8	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0																
K10	1.0	0.8	0.8	0.8	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0															
K11	1.0	0.8	0.8	0.8	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0														
N1	0.7	0.8	0.8	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	1.0													
N2	0.6	0.7	0.7	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	1.0												
N3	0.7	0.8	0.8	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	1.0	0.8	1.0											
N4	0.7	0.8	0.8	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	1.0	0.8	1.0	1.0										
N5	0.7	0.8	0.8	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	1.0	0.8	1.0	1.0	1.0									
N6	0.7	0.8	0.8	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	1.0	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0								
N7	0.7	0.8	0.8	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	1.0	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0							
N8	0.6	0.7	0.7	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.8	1.0	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	1.0						
N9	1.0	0.8	0.8	0.8	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.7	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.6	1.0					
N10	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	1.0			
SK1	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	1.0	1.0			
SK2	0.8	0.6	0.6	0.6	0.6	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.6	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.6	0.8	0.9	0.9	1.0		
SK3	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	1.0	1.0	0.9	1.0	
SK4	0.8	0.6	0.6	0.6	0.6	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.6	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.6	0.8	0.9	0.9	1.0	0.9	
SK5	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.6	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	
SK6	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.6	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	
C1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C4	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C5	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C6	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C7	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C8	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C9	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C10	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
B1	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
B2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
B3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
B4	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
B5	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
B6	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
S1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
S2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
S3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
S4	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
S5	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
S6	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

ภาพผนวกที่ 2 ความเหมือนของแบบแผนลักษณะทางพฤกษศาสตร์

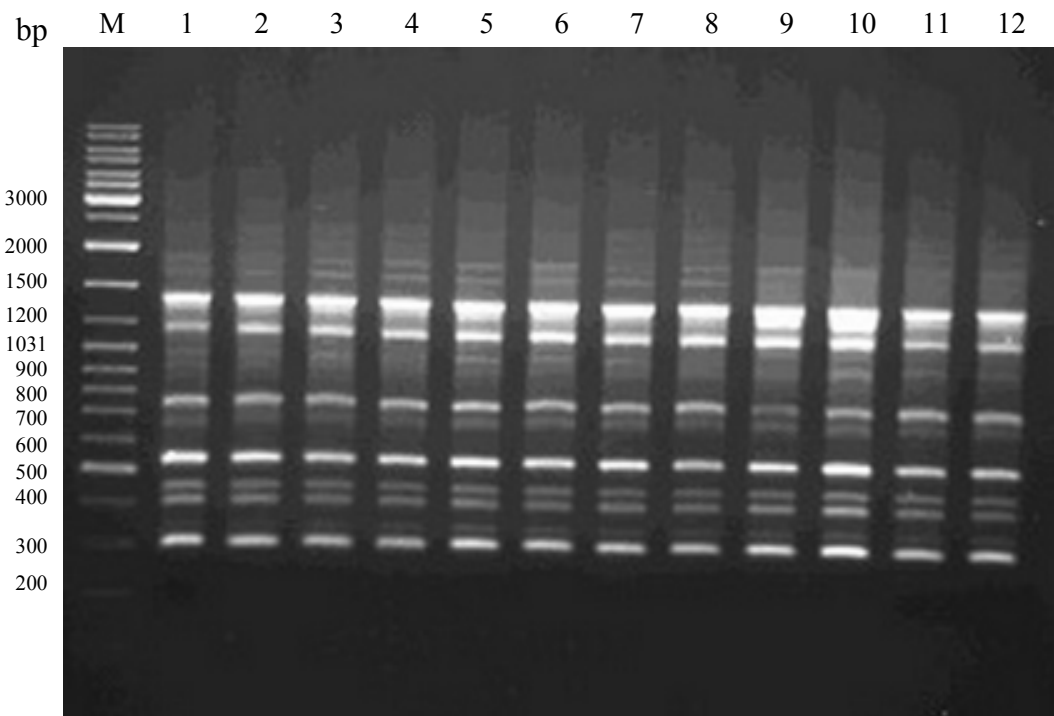
SK4 SK5 SK6 C1 C2 C3 C4 C5 C6 C7 C8 C9 C10 B1 B2 B3 B4 B5 B6 S1 S2 S3 S4 S5 S6

```

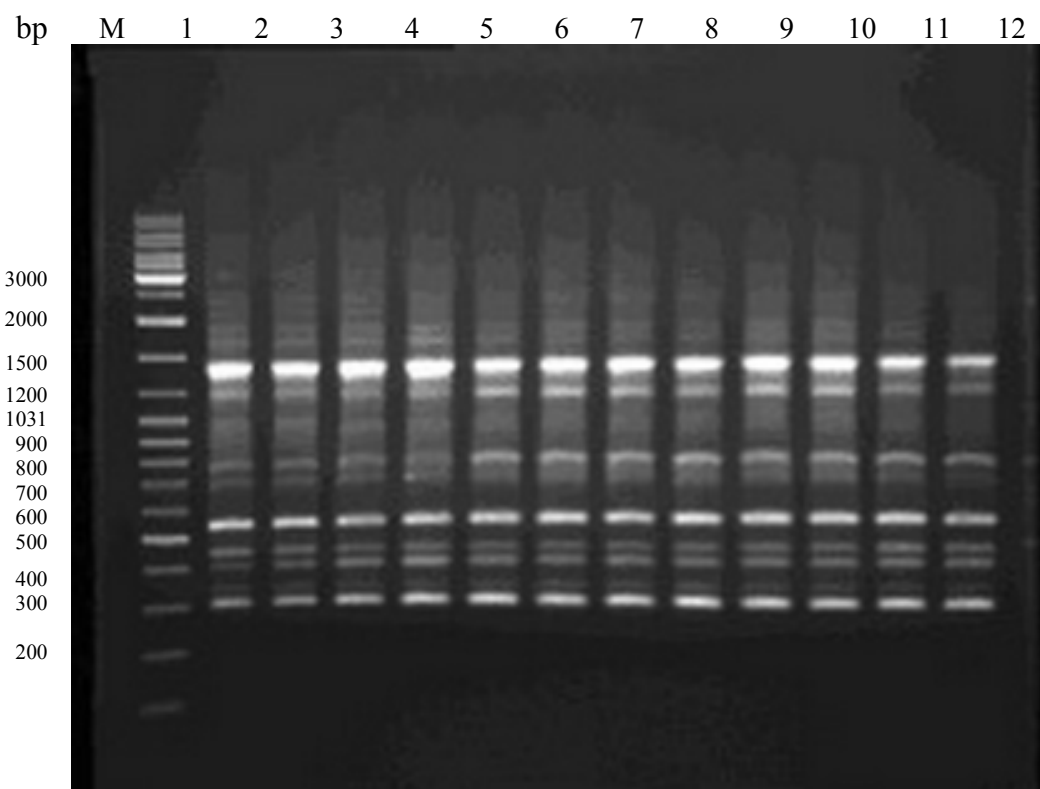
1.0
0.8 1.0
0.8 1.0 1.0
0.2 0.1 0.1 1.0
0.2 0.1 0.1 0.9 1.0
0.2 0.1 0.1 0.9 1.0 1.0
0.2 0.1 0.1 0.8 0.8 0.8 1.0
0.2 0.1 0.1 0.8 0.8 0.8 1.0 1.0
0.2 0.1 0.1 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 1.0
0.2 0.1 0.1 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 1.0 1.0
0.2 0.1 0.1 0.9 1.0 1.0 0.8 0.8 0.8 0.8 1.0 1.0
0.2 0.1 0.1 0.9 1.0 1.0 0.8 0.8 0.8 0.8 1.0 1.0 1.0
0.2 0.1 0.1 0.6 0.7 0.7 0.8 0.8 0.8 0.8 0.7 0.7 0.7 1.0
0.2 0.1 0.1 0.6 0.7 0.7 0.8 0.8 0.8 0.8 0.7 0.7 0.7 1.0 1.0
0.2 0.1 0.1 0.6 0.7 0.7 0.8 0.8 0.8 0.8 0.7 0.7 0.7 1.0 1.0 1.0
0.2 0.1 0.1 0.8 0.8 0.8 0.7 0.7 0.6 0.6 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 1.0
0.2 0.1 0.1 0.8 0.8 0.8 0.7 0.7 0.6 0.6 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 1.0 1.0
0.2 0.1 0.1 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.7 0.7 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 1.0
0.2 0.1 0.1 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.6 0.7 0.7 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.9 0.9 1.0 1.0
0.2 0.1 0.1 0.8 0.8 0.8 0.7 0.7 0.6 0.6 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 1.0 1.0 0.9 0.9 0.9 1.0
0.2 0.1 0.1 0.8 0.8 0.8 0.7 0.7 0.6 0.6 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 0.8 1.0 1.0 0.9 0.9 0.9 1.0 1.0

```

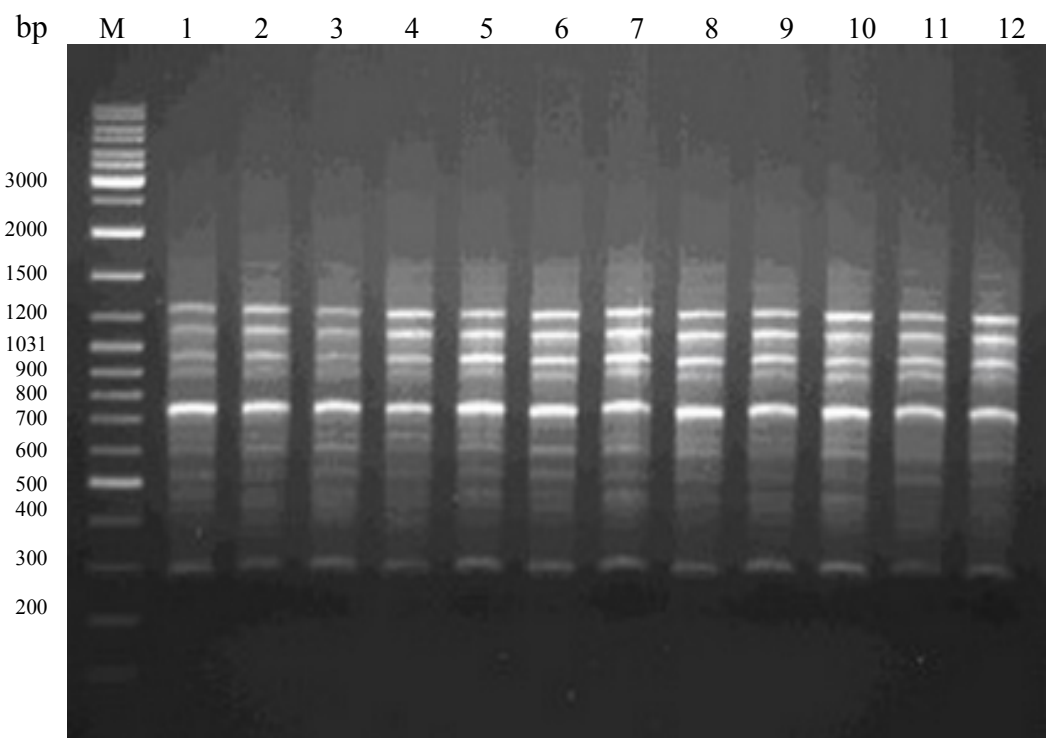
ภาพผนวกที่ 2 ความเหมือนของแบบแผนลักษณะทางพฤกษศาสตร์(ต่อ)



**ภาพผนวกที่ 3** แสดงความแตกต่างของแบบแผนดีเอ็นเอของกล้วยเครือแดงที่ได้จากการทำ RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ A 01 : M = GeneRuler™ DNA Ladder Mix, 1 และ 2 = สายต้น N4, 3 และ 4 = สายต้น N5, 5 และ 6 = สายต้น N6, 7 และ 8 = สายต้น N7, 9 และ 10 = สายต้น N8, 11 และ 12 = สายต้น N9

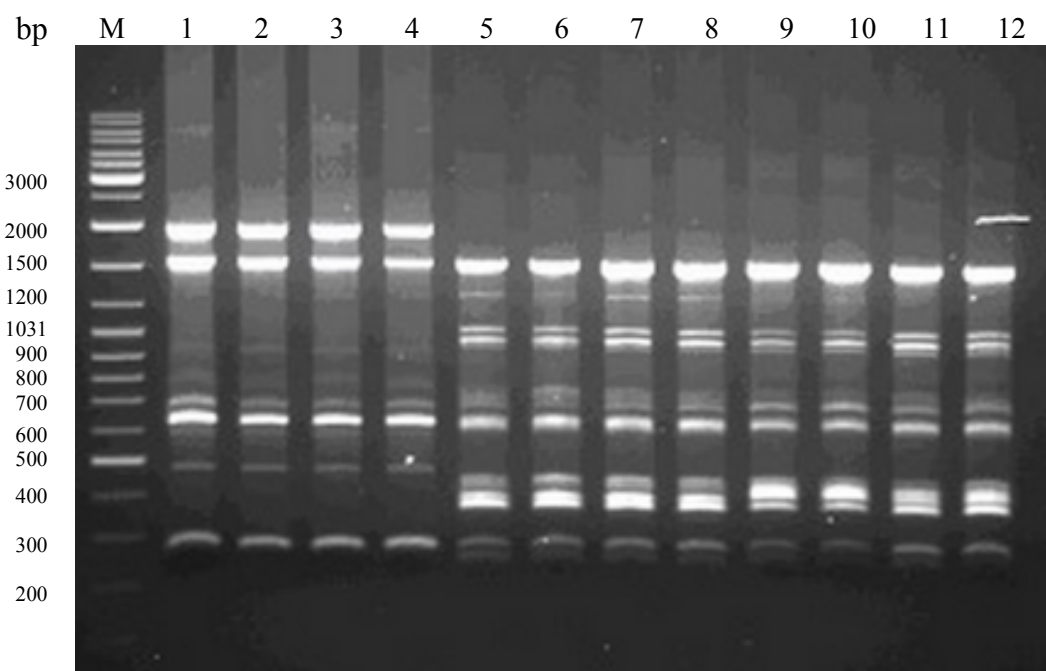


**ภาพผนวกที่ 4** แสดงความแตกต่างของแบบแผนดีเอ็นเอของกล้วยเครือแดงที่ได้จากการทำ RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ A 01 : M = GeneRuler™ DNA Ladder Mix, 1 และ 2 = สายต้น K10, 3 และ 4 = สายต้น K11, 5 และ 6 = สายต้น N1, 7 และ 8 = สายต้น N2, 9 และ 10 = สายต้น N3, 11 และ 12 = สายต้น N4

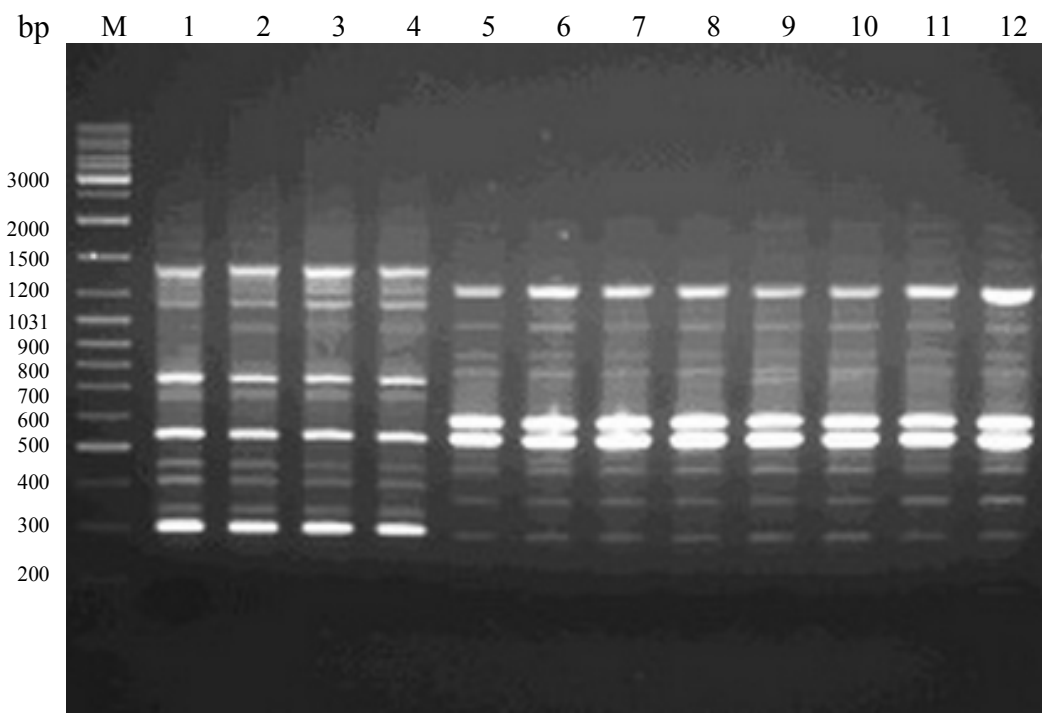


ภาพผนวกที่ 5 แสดงความแตกต่างของแบบแผนดีเอ็นเอของเถาพันธุ์กล้วยที่ได้จากการทำ RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ P 2589 : M = GeneRuler™ DNA Ladder Mix, 1 และ 2 = สายต้น C4, 3 และ 4 = สายต้น C5, 5 และ 6 = สายต้น C6, 7 และ 8 = สายต้น C7, 9 และ 10 = สายต้น C8, 11 และ 12 = สายต้น C9

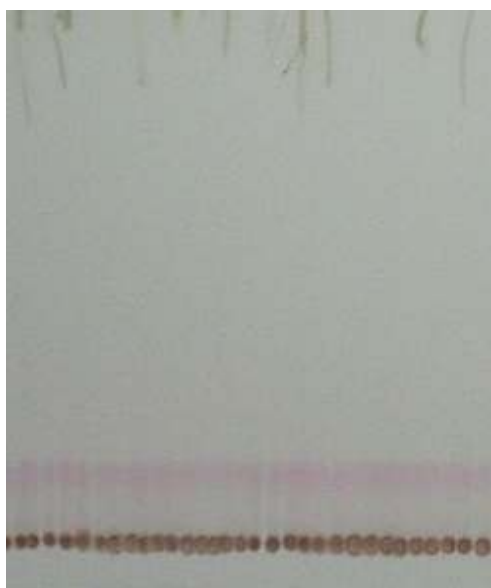




**ภาพผนวกที่ 6** แสดงความแตกต่างของแบบแผนดีเอ็นเอของกวางเครือแดงและเกาพัน  
 ซ้ายที่ได้จากการทำ RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ S 16 : M = GeneRuler™ DNA Ladder Mix, 1  
 และ 2 = สายต้น N9, 3 และ 4 = สายต้น N10, 5 และ 6 = สายต้น C1, 7 และ 8 = สายต้น  
 C2, 9 และ 10 = สายต้น C3, 11 และ 12 = สายต้น C4



ภาพผนวกที่ 7 แสดงความแตกต่างของแบบแผนดีเอ็นเอของกวาเครือแดงและเถาพันช้ายที่ได้จากการทำ RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ A 01 : M = GeneRuler™ DNA Ladder Mix, 1 และ 2 = สายต้น N9, 3 และ 4 = สายต้น N10, 5 และ 6 = สายต้น C1, 7 และ 8 = สายต้น C2, 9 และ 10 = สายต้น C3, 11 และ 12 = สายต้น C4



ภาพผนวกที่ 8 การ spot สารสกัดกวางเครือแดงเป็นแถบ



ภาพผนวกที่ 9 สารสกัดกวางเครือแดงที่ขูดจากแผ่น TLC



ภาพผนวกที่ 10 รากสะสมอาหารกวาวเครือแดง



ภาพผนวกที่ 11 เมล็ดกวาวเครือแดง



ภาพผนวกที่ 12 รากสะสมอาหารกวางเครือแดง



ภาพผนวกที่ 13 การเจริญเติบโตของเถาพันซ้ายในธรรมชาติ



ภาพผนวกที่ 14 รากเหาพันซ้าย



ภาพผนวกที่ 15 ฝักเหาพันซ้าย



ภาพผนวกที่ 16 เมล็ดถั่วฝักยาว

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวเกษร เมืองทิพย์ เกิดเมื่อวันที่ 8 พฤษภาคม 2512 ที่อำเภอทุ่งตะโก จังหวัดชุมพร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีเกษตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปี พ.ศ.2535 ภายหลังสำเร็จการศึกษาได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโทบริหารบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะครุศาสตร์และอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2537 หลังจากนั้นไปรับราชการที่สถาบันราชภัฏสุราษฎร์ธานี เมื่อปี พ.ศ.2540 และลาศึกษาต่อระดับปริญญาเอก สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โทรศัพท์ 081-9267350