รหัสโครงการ . SUT3-302-44-36-09

รายงานการวิจัย

อิทธิพลของสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมต่อการเจริญเติบโต การออกดอก การติดเมล็ด และการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah var.mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] และกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.)

(Influence of Environmental and Cultivation on Vegetative Growth, Flowering, Fruit Setting and Constituents of The Tuberous Roots of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah var.mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] and The Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.))

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยุวดี มานะเกษม
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2545-2547
ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว
กันยายน 2551

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสภาวิจัยแห่งชาติและมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้งบประมาณสนับสนุนการทำวิจัยนี้ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือในการวิจัย ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สนับสนุนพื้นที่ปลูกกวาวเครือ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น กรมวิชาการเกษตร สนับสนุนเครื่องมือบางชนิดในการวิจัย และขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัยทุกท่านที่ตั้งใจทำงานวิจัยนี้อย่างตั้งใจจริง

ขอขอบคุณ

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี มานะเกษม)

หัวหน้าโครงการวิจัย

บทคัดย่อ

กวาวเครือเป็นพืชสมุนไพรพื้นเมืองไทยพบทั่วไปในป่าของไทย นิยมใช้กันมาตั้งแต่สมัยโบราณ มีสรรพคุณที่มีประโยชน์ทั้งด้านการรักษาโรค บำรุงกำลัง รวมทั้งเสริมสมรรถภาพทางเพศและเสริมความงาม ทั้งนี้ เนื่องจากรากสะสมอาหาร (หัว) ของกวาวเครือได้สะสมสารเคมีที่มีประโยชน์หลายชนิด ด้วยเหตุดังกล่าวจึงมีการขุดหัวกวาวเครือออกจากป่ามากจนปริมาณของกวาวเครือลดน้อยลง จึงได้ทำการศึกษาวิจัยถึงอิทธิพลของสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมต่อการเจริญเติบโต การออกดอก การติดเมล็ด และการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวของทั้งกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดง โดยได้ทำการทดลองหลายการทดลองทั้งในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่อำเภอวังน้ำเขียว พร้อมงานสำรวจ และเก็บตัวอย่างกวาวเครือแดงในจังหวัดชัยภูมิ บุรีรัมย์ กาฬสินธุ์ สกลนคร มหาสารคาม และนครราชสีมา จากการศึกษาทดลองดังกล่าวพบว่า ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศมีอิทธิพลต่อการร่วงของใบ การออกดอก และติดเมล็ดของกวาวเครือทั้งสองชนิด พร้อมทั้งทราบ phonological cycle ของกวาวเครือทั้งสองชนิดด้วย การเขตกรรมที่เหมาะสมของกวาวเครือ เช่น ระยะปลูก การทำค้างและพบการให้น้ำที่ทำให้กวาวเครือแดงสะสม stignasterol ได้มากขึ้น การเขตกรรมที่ถูกต้องในกวาวเครือขาวทำให้มีการติดเมล็ดได้มากขึ้น และได้เมล็ดที่สมบูรณ์ กวาวเครือทั้งสองชนิด จะเริ่มสะสมสารประกอบที่สำคัญทางเคมีตั้งแต่เริ่มติดหัว และการสะสมสารจะมากขึ้นเมื่อกวาวเครือมีอายุมากขึ้น การฉีดพ่นธาตุทองแดง แมงกานีส สังกะสี และธาตุเหล็กในรูปของสารประกอบ และที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสม สามารถเพิ่มสารประกอบทางเคมี เช่น daidzein, genistein, coumestrol และ puerarin ในหัวกวาวเครือขาวได้ เช่นเดียวกันกับการฉีดพ่นสารเร่งการเจริญเติบโตของพืช เช่น NAA GA_3 ร่วมกับการให้ปุ๋ย สามารถทำให้กวาวเครือขาวออกดอก และติดเมล็ดได้ดี ในกวาวเครือแดงทำให้สะสม phytosterol เพิ่มมากขึ้น และได้มีการศึกษาฤทธิ์ของกวาวเครือแดงต่อการบีบตัวของมดลูกหนูด้วย

การขุดหัวกวาวเครือแดงออกจากป่าต้องพึงระวัง เนื่องจากกวาวเครือแดงมีลักษณะคล้ายกับเถาพันซ้ายมาก แยกออกได้ยากมากจากการดูลักษณะภายนอก แต่สามารถแยกได้อย่างชัดเจนถ้าทำ DNA finger print นอกจากนั้น เนื่องจากกวาวเครือมีสารประกอบหลายชนิดสะสมอยู่ในหัว การใช้ส่วนมากบริโภคในรูปของน้ำหนักแห้งจึงจำเป็นต้องทราบน้ำหนักที่แน่นอนจึงจะไม่มีผลกระทบหรือผลเสียต่อสุขภาพ

Abstract

Red and White Kwao Krua (KK) are native Thai medicinal plants. They have been found widely in forest in Thailand. Their tuberous roots accumulate many useful chemical substances which can be used as medical, health maintenance, potency, and cosmetic products. Consequently, KK has been continuously dug from the forest. A series of experiments were set up to study the influence of environmental conditions and cultivation conditions on vegetative growth, flowering, fruit setting and the chemical constituents of the tuberous roots of KK. The experiments were conducted at the SUT Farm and Wang-namkhiew district of Nakhon-Ratchasima Province. The surveys and sample collection of Red Kwao Krua (RKK) were done at Chaiyaphum, Burriram, Kalasin, Mahasarakham, Sakon Nakhon and Nakhon-Ratchasima Provinces. The results indicated that relative humidity (RH) has an influence on leaf falling, flowering, pod and seed setting of KK. The phenological cycle of White Kwao Krua and Red Kwao Krua were shown. The suitable cultivation that can increase pod setting and increase complete seed were indicated. Watering the KK increases the accumulation of chemical substances in the tuberous root. KK started to accumulate chemical substances when they had formed the tuberous roots. The older the KK, the more chemical substances that were accumulated. Spraying the chemical compound of Cu Mn Zn and Fe at appropriate concentrations and at appropriate stages of KK growth can increase the accumulation of daidzein, genistein, coumestrol and puerain. Spraying naphthaleneacetic acid (NAA) and gibberellic acid (GA_3) plus fertilizing with chemical fertilizer and/or manure fertilizer can increase the accumulation of phytosterol in the RKK, which was shown to have an effect on uterine functions in the female rat. NAA and GA_3 can also regulate flowering and seed setting in the WKK.

Care must be taken when digging the RKK from the forest. This is because it is very difficult to identify between the RKK and Tao Pan Say from their appearances. However, using the DNA finger print technique they can be distinguished very clearly. Since KK has accumulated many chemical substances in its tuberous root, having it in the form of dry matter it is necessary to know the exact dose to use, otherwise it may have an adverse affect on the health.

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ข
กิตติกรรมประกาศ		ค
สารบัญ		ง
สารบัญตาราง		ฉ
สารบัญภาพ		ช
บทที่		
1	บทนำ	1
	1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
	1.2 ชนิดของกวาวเครือ	1
	1.3 สารเคมี	7
	1.4 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	8
	1.5 วัตถุประสงค์	9
	1.6 ขอบเขตของการศึกษาวิจัย	9
	1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	10
2	ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	11
	2.1 กวาวเครือขาว	11
	2.2 กวาวเครือแดง	15
	2.3 สถานการณ์ราคาและความต้องการวัตถุดิบของกวาวเครือ	19
	2.4 การปลูกกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดง	21
	2.5 พระราชบัญญัติพันธุ์พืช	22

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
3	วิธีดำเนินการวิจัย	23
	3.1 ศึกษาการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือขาวในธรรมชาติในรอบปี	23
	3.2 ศึกษาการออกดอก การติดฝัก และการสะสมสาร coumestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว	25
	3.3 ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวและ ผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว	25
	3.4 ศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาว	25
	3.5 ศึกษาถึงปัจจัยสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง	28
4	ผลการศึกษาวิจัย	33
	4.1 ศึกษาการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือขาวในธรรมชาติในรอบปี	33
	4.2 ศึกษาการออกดอก การติดฝักและการสะสมสาร coumestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว	38
	4.3 ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวและผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว	46
	4.4 ศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาว	51
	4.5 ศึกษาถึงปัจจัยสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง	58
5	สรุปและวิจารณ์ผล	75
6	ข้อเสนอแนะ	81
	บรรณานุกรม	82
	ภาคผนวก	87

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	ลักษณะภูมิอากาศในบริเวณที่พบกวาวเครือแดง	17
ตารางที่ 3.1	การจัดทรีตเมนต์ของการทดลองแบบ 3^2 factorial in RCBD	32
ตารางที่ 4.1	ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การเจริญและการพัฒนาของกวาวเครือขาวในระยะต่างๆ กับ อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำฝน	38
ตารางที่ 4.2	วันออกดอกของกวาวเครือขาวในแต่ละทรีตเมนต์โดยนับตั้งแต่วันฉีดพ่นสารครั้งแรก	45
ตารางที่ 4.3	ปริมาณสาร coumestrol ของกวาวเครือขาวในกลุ่มทรีตเมนต์ต่างๆ	46
ตารางที่ 4.4	จำนวนช่อดอก/ต้น ความยาวของช่อดอก จำนวนฝัก/ช่อดอก ขนาดของฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักแห้ง 100 เมล็ด กวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองฟาร์มมหาวิทยาลัย	53
ตารางที่ 4.5	ความยาวรากของกวาวเครือขาวที่ความเข้มข้นของ NAA ระดับต่างๆ	57
ตารางที่ 4.6	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิสูงสุดและความชื้นสัมพัทธ์กับเปอร์เซ็นต์การแก่ของใบ	60
ตารางที่ 4.7	จำนวนใบ/ต้นที่ได้รับอิทธิพลจากระดับการให้น้ำ	66
ตารางที่ 4.8	ความยาวราก/ต้นที่ได้รับอิทธิพลจากระดับการให้น้ำ	66
ตารางที่ 4.9	ปริมาณสาร stigmasterol ของกวาวเครือแดงจากแปลงปลูกที่อายุต่างๆ	67
ตารางที่ 4.10	ผลของทรีตเมนต์ต่อเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นและปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในต้นกวาวเครือแดง	71
ตารางที่ 4.11	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้กราฟของการหดตัวมดลูกหนูขณะไม่ได้ให้สารสกัดกับการได้รับสารสกัดกวาวเครือแดงในกลุ่มทรีตเมนต์ต่างๆ	73

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1.1	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือ	2
ภาพที่ 1.2	ลักษณะส่วนต่างๆ ของกวาวเครือขาว	3
ภาพที่ 1.3	ลักษณะส่วนต่างๆ ของกวาวเครือแดง	5
ภาพที่ 1.4	ลักษณะดอกและฝักของกวาวเครือแดง	6
ภาพที่ 2.1	ตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร	12
ภาพที่ 2.2	สารสำคัญต่างๆ ที่พบในหัวกวาวเครือขาว	14
ภาพที่ 2.3	สารสำคัญต่างๆ ที่พบในหัวกวาวเครือแดง	16
ภาพที่ 2.4	กวาวเครือขาวที่ขุดจากป่าเพื่อรอขาย	20
ภาพที่ 2.5	การเก็บเกี่ยวกวาวเครือแดงของชาวบ้าน	20
ภาพที่ 2.6	กวาวเครือขาวและกวาวเครือแดงที่ปลูกด้วยระยะ 2 x 2 เมตร ที่ฟาร์มมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (ก) และ กวาวเครือแดงที่ปลูกด้วยเหง้าที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (ข)	21
ภาพที่ 3.1	พื้นที่โครงการปลูกป่าถาวรเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว บ้านเขาแผงม้า หมู่ 4 ต.วังน้ำเขียว อ.วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา	24
ภาพที่ 3.2	พื้นที่โครงการปลูกป่าถาวรเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว บ้านเขาแผงม้า หมู่ 4 ต.วังน้ำเขียว อ.วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา	24
ภาพที่ 3.3	แผนผังแปลงปลูกที่วางแผนการทดลอง แบบ split-split plot ที่ main plot วางแผนแบบสุ่มภายในบล็อก	30
ภาพที่ 3.4	แผนผังแสดงขั้นตอนการสกัดสาร 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone และสาร stigmasterol	31
ภาพที่ 4.1	การเจริญและพัฒนาของกวาวเครือขาวในรอบปี	34
ภาพที่ 4.2	กวาวเครือขาวระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน	35
ภาพที่ 4.3	กวาวเครือขาวระยะใบแก่	35
ภาพที่ 4.4	กวาวเครือขาวระยะออกดอก	36
ภาพที่ 4.5	อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำฝน	37
ภาพที่ 4.6	จำนวนช่อดอก/ต้นของกวาวเครือขาวที่ได้รับการปฏิบัติ ในแต่ละทรีตเมนต์	39
ภาพที่ 4.7	แสดงจำนวนฝัก/ช่อดอกและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกวาว เครือขาวที่ได้รับการปฏิบัติ ในแต่ละทรีตเมนต์	40

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 4.8	จำนวนเมล็ด/ฝักและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกวาวเครือขาวที่ได้รับการปฏิบัติในแต่ละทรีตเมนต์	40
ภาพที่ 4.9	แสดงน้ำหนัก 100 เมล็ดและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกวาวเครือขาวที่ได้รับการปฏิบัติในแต่ละทรีตเมนต์	41
ภาพที่ 4.10	vegetative, leaf primordial (LP) inflorescence primordia (IP)	42
ภาพที่ 4.11	IP induction, round mounding of IP and extended LP	42
ภาพที่ 4.12	IP initiation clearly initiation IP and bract primordial (BP)	42
ภาพที่ 4.13	the development of IP and BP	43
ภาพที่ 4.14	floral primordia (FP) induction, the development of FP	43
ภาพที่ 4.15	the extension of FP and the development of sepal primordia (S)	43
ภาพที่ 4.16	carpel and petal induction, carpel primordia (CP) and petal primordial (PP)	44
ภาพที่ 4.17	petal and stamen initiation, vexillum petal (V), wing petal (W) and keel petal (K)	44
ภาพที่ 4.18	all organ development, growth of V, W, K and stamen with 5 outer anther (5A) and 5 inner anther (5a)	44
ภาพที่ 4.19	end of flower development, epidermal hairs (EH).	45
ภาพที่ 4.20	เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว	47
ภาพที่ 4.21	เปอร์เซ็นต์ความชื้นเฉลี่ยของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว	47
ภาพที่ 4.22	ปริมาณ puerarin เฉลี่ยจากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว	48
ภาพที่ 4.23	การหดและคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวเมื่อได้รับสาร acetylcholine และ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาว ทรีตเมนท์ที่ 4	49
ภาพที่ 4.24	เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) ของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาว เมื่อให้สารสกัดกวาวเครือขาวทรีตเมนท์ต่างๆ	50
ภาพที่ 4.25	เส้นผ่าศูนย์กลางเครือเถาของกวาวเครือขาวที่ระดับผิวดินที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน	51
ภาพที่ 4.26	ช่วงเวลาและเปอร์เซ็นต์การออกดอกของกวาวเครือขาวในแต่ละเดือน	53

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 4.27	เปอร์เซ็นต์ความชื้นและน้ำหนักเฉลี่ยของหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน	54
ภาพที่ 4.28	ความหนาแน่นเฉลี่ยของหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน	54
ภาพที่ 4.29	การสะสมสารเคมีของหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน	56
ภาพที่ 4.30	การเจริญและพัฒนาของกวาวเครือแดงในรอบปี	58
ภาพที่ 4.31	สภาพแวดล้อมของแปลงทดลอง	59
ภาพที่ 4.32	การจำแนกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกวาวเครือแดงโดยใช้ dendrogram	65
ภาพที่ 4.33	โครมาโตแกรมของสาร A และ B จากรากที่เก็บจากแปลงทดลอง	68
ภาพที่ 4.34	อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร A	69
ภาพที่ 4.35	อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร B	69
ภาพที่ 4.36	อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone	70
ภาพที่ 4.37	TLC โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับสารสกัดกวาวเครือแดง	72
ภาพที่ 4.38	ปริมาณ phytosterol ในรากกวาวเครือแดงแต่ละทรีตเมนต์	72
ภาพที่ 4.39	ผลการหดตัวของมดลูกหนูขณะไม่ได้ใส่สารสกัด (นาทีที่ 0-60) และผลของสารสกัดกวาวเครือแดงในทรีตเมนต์ที่ได้รับปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ (T7) (นาทีที่ 60-90)	74
ภาพที่ 4.40	ผลการหดตัวของมดลูกหนูขณะไม่ได้ใส่สารสกัด (นาทีที่ 0-60) และผลของสารสกัดกวาวเครือแดงในทรีตเมนต์กลุ่มควบคุม (นาทีที่ 60-90)	74

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

กวาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรพื้นเมืองของไทยพบทั่วไปในป่าของไทย นิยมใช้กันมาตั้งแต่สมัยโบราณ มีสรรพคุณที่มีประโยชน์ทั้งด้านการรักษาโรค บำรุงกำลัง รวมทั้งเสริมสมรรถภาพทางเพศและเสริมความงาม ทั้งนี้ เนื่องจากรากสะสมอาหาร (หัว) ของกวาวเครือขาวได้สะสมสารเคมีที่มีประโยชน์หลายชนิด ด้วยเหตุดังกล่าวจึงมีการขุดหัวกวาวเครือออกจากป่ามากจนปริมาณของกวาวเครือลดน้อยลง กวาวเครือเป็นพืชในตระกูลถั่ว เป็นไม้เถาเนื้อแข็งเลื้อยพันต้นไม้อื่น หรือเลื้อยไปตามดิน ส่วนของใบเป็นใบประกอบ ก้านหนึ่งมี 3 ใบย่อย ใบย่อยมีรูปไข่ ปลายแหลม ดอกเป็นช่อโปร่ง ความยาวประมาณ 30 ซม. มีสีม่วง ฝักลักษณะคล้ายฝักถั่ว มีขนสั้นๆ ฝัก มี 3-5 เมล็ด และมีสีน้ำตาลจุดๆ มีหัวใต้ดินทำหน้าที่สะสมอาหาร เนื้อในมีสีขาว

1.2 ชนิดของกวาวเครือ

จากตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร กล่าวว่า กวาวเครือ มี 4 ประเภท ได้แก่ กวาวเครือขาว กวาวเครือแดง กวาวเครือดำและกวาวเครือมอ (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

1. กวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. Var. Mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdhum] (ภาพที่ 1.1 และ 1.2) เป็นไม้เลื้อย มีอายุหลายปีอยู่ในวงศ์ leguminosae อนุวงศ์ papilionoideae ดอกคล้ายดอกถั่ว มีหลายสี เช่น สีน้ำเงินอมม่วง ม่วงอ่อน และสีขาวอมม่วง ออกดอกช่วงต้นเดือนธันวาคมถึงเดือนมีนาคม ฝักมีสองแบบคือ แบบมีขนและไม่มีขนและเมล็ด มีรูปร่าง สีและขนาดแตกต่างกัน มีหัวใต้ดิน (tuberous roots) ไว้สะสมอาหารหลายรูปแบบ เช่น กลม รี ยาวรีและแบน มีวงเนื้อเทียบได้กับวงปีชี้วัดอายุของหัวได้ ความแตกต่างของ ใบ ดอก หัว ฝักและเมล็ดขึ้นอยู่กับแหล่งของพันธุ์ ลักษณะโดยทั่วไปของกวาวเครือขาวมีดังนี้

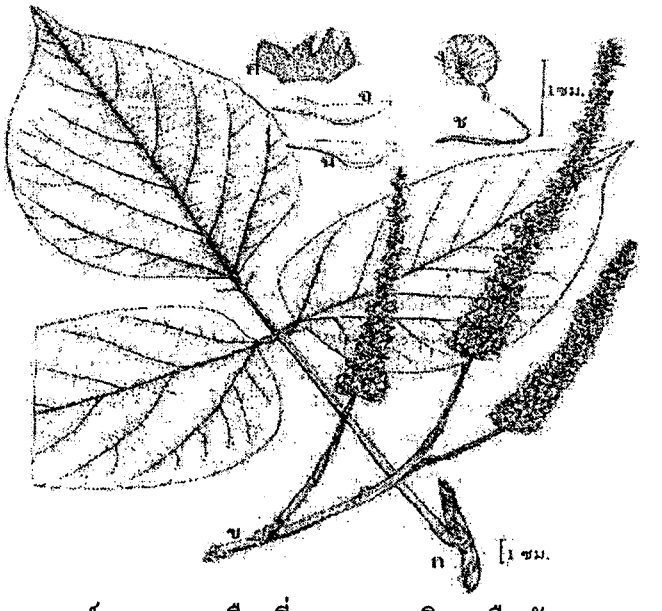
ลำต้น	จัดเป็นไม้พุ่มรอเลื้อย ผลัดใบ ลำต้นเกลี้ยง ยาวถึง 5 ม. กิ่งอ่อน ยอดอ่อนมีขนสั้นๆ
หัว	หัวใต้ดินมีขนาดใหญ่ค่อนข้างกลมและคอดยาวเป็นตอนๆ ต่อเนื่องกัน ส่วนที่กลมมีเส้นผ่าศูนย์กลางถึง 20 ซม. ส่วนที่คอดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 ซม.

ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนก มีใบย่อยสามใบ เรียงสลับ ก้านใบประกอบยาว 10-28 ซม. หูใบรูปไข่ โคนมนหรือเป็นติ่งยื่นลงมาทางด้านล่างกว้าง 3-5 ซม. ยาว 0.5-1 ซม. ใบย่อยด้านบนเกลี้ยง ด้านล่างมีขนสั้นๆ ประปราย ใบย่อยใบกลางรูปไข่ กว้าง 9-15 ซม. ยาว 15-30 ซม. ปลายมนถึงเรียวแหลม โคนสอบถึงมน เส้นแขนงใบข้างละ 5-7 เส้น คู่แรกออกจากโคนใบ ใบย่อยคู่ข้างขนาดใกล้เคียงกับใบกลาง ปลายมนถึงเรียวแหลม โคนเบี้ยว ก้านใบย่อยยาว 5-7 มม. หูใบย่อยเรียวแคบกว้างประมาณ 1 มม. ยาวประมาณ 5 มม.

ดอก เป็นช่อเดี่ยวและช่อแยกแขนง ออกตามปลายกิ่งยาว 20-30 ซม. ก้านดอกมีขนสั้นๆ ดอกรูปดอกถั่ว ออกเป็นกระจุกในระยะผลัดใบ กระจุกละ 3-5 ดอก ก้านดอกยาว 1-5 มม. ใบประดับมีลักษณะเป็นเกล็ด ขนาดเล็กมาก ใบประดับย่อยเล็กรูปไข่ติดที่ปลายก้านดอก กลีบเลี้ยงยาว 6-7 มม. โคนติดกันเป็นรูปถ้วยปลายแยกเป็น 4 แฉก แฉกบนสุดใหญ่กว่าแฉกอื่นๆ กลีบเลี้ยงมีขนสั้น กลีบดอก 5 กลีบ สีน้ำเงินอ่อน กลีบกลางค่อนข้างกลม ก้านสั้น เส้นผ่าศูนย์กลาง 7-8 ซม. กลีบคู่ล่างติดกันเป็นรูปท้องเรือ เกสรเพศผู้ 10 อัน ก้านชูอับเรณูติดกัน

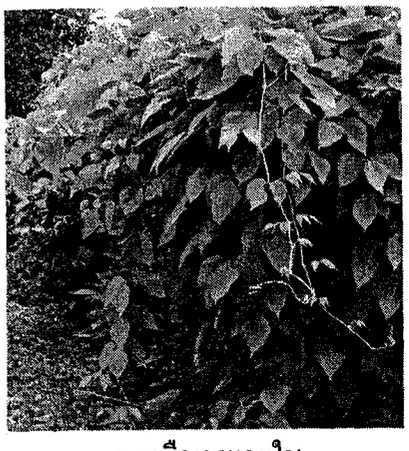
ผลและเมล็ด ลักษณะเป็นฝักแบนรูปขอบขนาน ผิวมีขนสั้นๆ ประปรายถึงเกลี้ยง กว้างประมาณ 7 มม. ยาวประมาณ 3 ซม. มี 3-4 เมล็ด/ฝัก เมล็ดค่อนข้างกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 มม.

ก. ใบ
ข. ช่อดอก
ค. กลีบเลี้ยงผ่าด้านข้างแล้วออก
ง. กลีบกลาง
จ. กลีบล่าง
ฉ. รังไข่

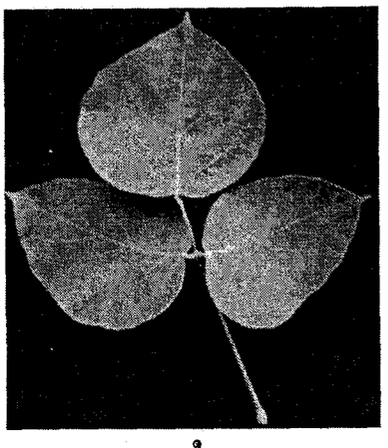


ภาพที่ 1.1 แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือ (ที่มา: อนุกรมวิธานพืช อักษร ก.)

นอกจากลักษณะต่างๆ ดังกล่าวแล้ว อรดี สหวัชรินทร์ (2541) รายงานว่าพบกวาวเครือขาวขึ้นอยู่ตามที่ลาดชันในป่าเบญจพรรณหรือป่าไผ่ มีเถาค่อนข้างเหนียว เลื้อยพันไปตามไม้ยืนต้น หนึ่งต้นมีได้หลายเถา มีการเจริญเติบโตของลำต้นตลอดฤดูฝน เมื่อถึงหน้าแล้งใบจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและหลุดร่วงที่โคนต้นส่วนที่อยู่ใต้ดินจะมีรากอยู่เป็นจำนวนมาก แต่ละรากจะโป่งออกเป็นหัวสะสมอาหาร



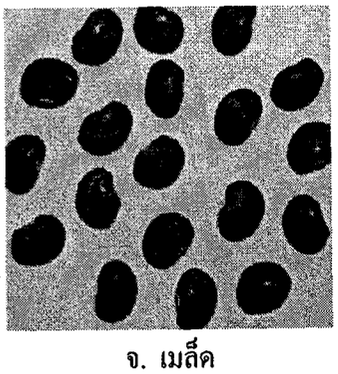
ก. เครือเถาและใบ



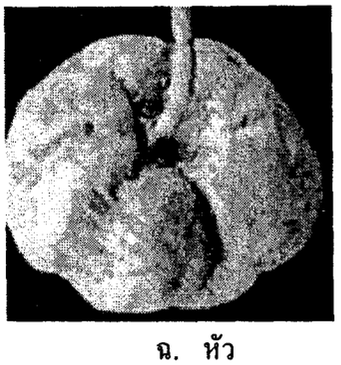
ข.ใบ

ค. ฝัก

ง. ดอก



จ. เมล็ด



ฉ. หัว

ภาพที่ 1.2 ลักษณะส่วนต่างๆ ของกวาวเครือขาว

2. กวาวเครือแดง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Butea superba* Roxb. เป็นพืชตระกูลถั่ว (family: leguminosae) อยู่ในอนุวงศ์พาพิไลออนอยดี (sub-family: papilionoideae) ชื่อท้องถิ่นของพืชชนิดนี้ใช้เรียกในแต่ละพื้นที่แตกต่างกันเช่น ภาคกลางเรียกทองเครือ ภาคเหนือเรียกกวาวเครือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกจานเครือ (จิรศักดิ์ กีรติคุณากร และ ไพฑูรย์ พิศุทธ์สินธุ์, 2543) จ.ชุมพรเรียกตานจอมทอง ชาวกะเหรี่ยงกาญจน์เรียกโพ้ตะกุหรือโพะตะกุ ชาวกะเหรี่ยงแม่ฮ่องสอนเรียกโพมือ (เต็ม สมิตินันท์, 2523; ชวลิต นิยมธรรม, 2538; วุฒิ ธรรมวุฒิเวช, 2540)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือแดง (ภาพที่ 1.3 และ 1.4)

ลำต้น เป็นไม้เถายืนต้นขนาดใหญ่ เนื้อไม้แข็งและผลัดใบ ถ้าในธรรมชาติแสงแดดไม่เพียงพอลำต้นจะเลื้อยพันต้นไม้อื่น แต่ถ้าอยู่ที่โล่งลำต้นจะตรงและเป็นพุ่มแทนการเลื้อยพัน

ใบ เป็นใบประกอบแบบฝ่ามือ มีใบย่อยสามใบ ใบกลางมีปลายใบโค้งมน โคนใบเรียว ผิวด้านบนเรียบ ด้านล่างมีขนอ่อนสั้นๆ ใบย่อยลักษณะเป็นรูปไข่ มีเส้นใบข้างละ 5-7 เส้น ใบแข็งและหนามีหลายขนาดตั้งแต่ขนาดเล็กถึงขนาดใหญ่ ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของดินและสภาพป่า (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2537; ชวลิต นิยมธรรม, 2538; สมพร ภูติยานันท์, 2542)

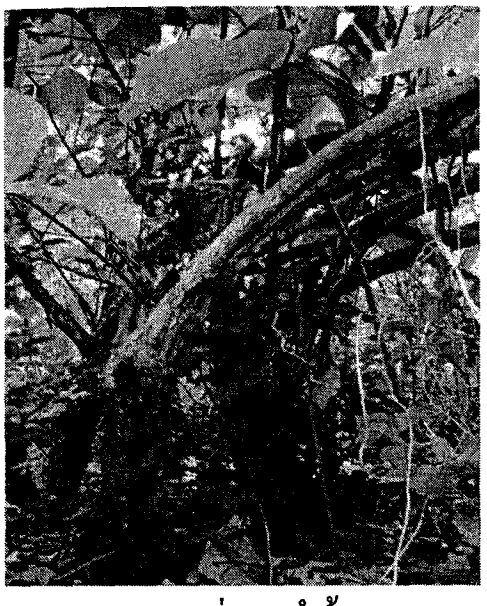
ดอก เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ช่อดอกเป็นแบบอินดีเทอร์มิเนท ชนิดราซีม เกิดจากตาที่โคนใบที่ร่วงแล้ว ก้านดอกย่อยมีขนหนา ดอกที่อยู่ล่างสุดจะบานและแก่ก่อนดอกที่อยู่เหนือขึ้นไป ก้านดอกย่อยยาวใกล้เคียงกัน ลักษณะคล้ายดอกแคและสีส้ม เกสรตัวผู้ 10 อัน มีก้านเชื่อมติดกัน รังไข่เป็นชนิด superior ซึ่งจะวางอยู่เหนือฐานรองดอก ภายในรังไข่มี 1 ห้อง มีไข่ตั้งแต่ 1 อันขึ้นไป ดอกของกวาวเครือแดงจะออกตามซอกกิ่งในระยะผลัดใบ (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2537; ชวลิต นิยมธรรม, 2538; วุฒิ ธรรมวุฒิเวช, 2540; สมพร ภูติยานันท์, 2542)

ฝัก ฝักแบน ฝักที่ยังอ่อนเป็นสีเขียว เมื่อแก่จะเป็นสีน้ำตาล แต่ละฝักมีเมล็ดสมบูรณ์ 1 เมล็ด (อรดี สหวัชรินทร์, 2542)

ราก เป็นรากสะสมอาหาร (tuberous root) ลักษณะเรียวยาวคล้ายหัวมันสำปะหลัง เมื่อเกิดบาดแผลจะมียางสีแดงซึมออกมา (ชวลิต นิยมธรรม, 2538; อรดี สหวัชรินทร์, 2542)

การกระจายพันธุ์ของกวาวเครือแดง

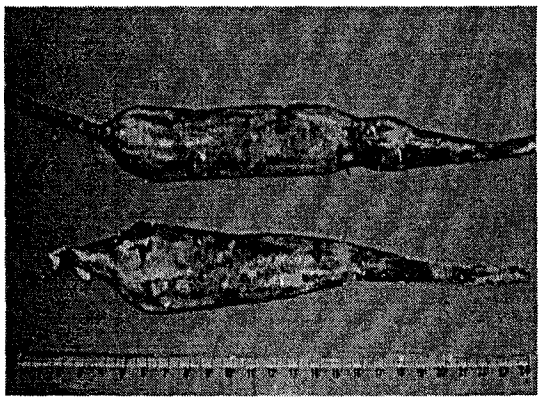
พบกวาวเครือแดงตามป่าดิบแล้งและป่าเบญจพรรณ บริเวณป่าพื้นราบทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ป่าแถบศรีราชาจนถึงจันทบุรี ภาคตะวันตกของประเทศไทย และมีรายงานพบในประเทศพม่าในบริเวณป่าทั่วไป ตั้งแต่ pegu และ mortaban ลงไปถึงตอนบนของ tenasserim (จิรศักดิ์ กีรติคุณากร และ ไพฑูรย์ พิศุทธ์สินธุ์, 2543)



ก. ทรงพุ่มและลำต้น

ข. ดอก

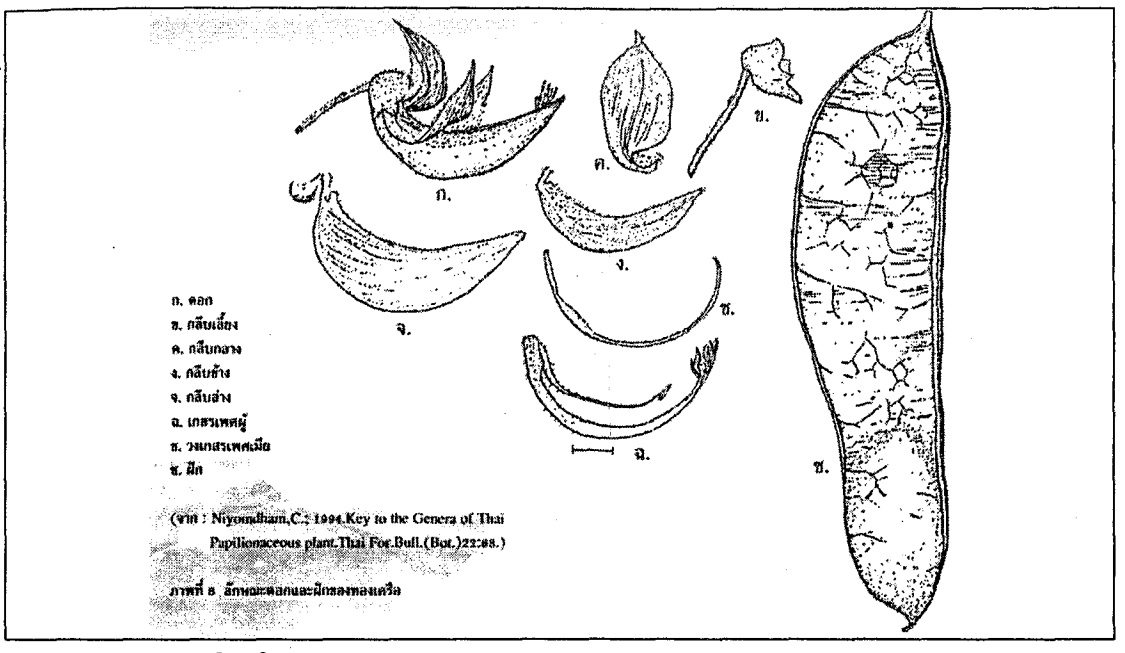
ค. ฝัก



ง. หัว

ภาพที่ 1.3 ลักษณะส่วนต่างๆ ของกวาวเครือแดง

ในธรรมชาติกวาวเครือแดงมีการกระจายพันธุ์และขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด เช่นเดียวกันกับกวาวเครือขาวที่มีการกระจายพันธุ์ด้วยเมล็ดและมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง (จิรศักดิ์ กีรติคุณากร และ ไพฑูรย์ พิศุทธ์สินธุ์, 2543) แต่ อรดี สหวัชรินทร์ (2542) กล่าวว่ากวาวเครือเป็นพืชวงศ์ถั่วมีการผสมตัวเอง ดังนั้นความแปรปรวนทางพันธุกรรมจากการเพาะเมล็ดน่าจะมีน้อย ส่วนเรื่องความหลากหลายทางพันธุกรรมของกวาวเครือแดงยังไม่มีการศึกษาเท่าที่ควร



หมายเหตุ จาก ชวลิต นิยมธรรม (2537)

ภาพที่ 1.4 ลักษณะดอกและฝักของกวาวเครือแดง

3. กวาวเครือดำ

ลำต้นและเถาเหมือนชนิดแดง ใบ มี 3 ใบ เช่นกัน แต่เล็กกว่า มียางสีดำ เถาอ่อนนุ่ม หัวเช่นเดียวกับชนิดแดง แต่เล็กกว่า ค่อนข้างหายาก

4. กวาวเครือมอ

ทุกส่วนของต้น เถา ใบ หัว เหมือนกับชนิดดำ แต่เนื้อในหัวและยางมีสีมอๆ ค่อนข้างจะหายากเช่นเดียวกับชนิดดำ มีหัวเล็กขนาดมันเทศ

ทั้งกวาวเครือดำและกวาวเครือมอมีข้อมูล และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องน้อยมาก

1.3 สารเคมี

สารเคมีที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญสะสมในหัวกวาวเครือขาว พบว่ามีอยู่หลายกลุ่ม ดังที่ นันทวัน บุญยะประภัสสร และอรนุช โชคชัยเจริญพร (2539), Ingham และ คณะ (1989) และ นิสากร ปานประสงค์ (2542) ได้รายงานไว้ ดังนี้คือ

1. สารพวก coumestans ได้แก่
   - coumestrol
   - mirificoumestan
   - mirificoumestan hydrate
   - mirificoumestan glycol
2. สารพวก isoflavone ได้แก่
   - daidzein
   - genistein
   - kwakhurin
   - kwakhurin hydrate
3. isoflavone glycosides
   - daidzin
   - genistin
   - puerarin
   - mirificin
   - puerarin-6-monoacetate
4. steroids
5. สารพวก miroestrol ได้แก่ สารชนิดนี้เป็นสารที่มีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน จัดว่าเป็นสารที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง และพบว่ามีประมาณ 15 มก. / น้ำหนักแห้ง 1 กก.
6. สารอื่นๆ ได้แก่ น้ำตาลซูโครส แคลเซียมออกซาเลต ไขมัน โปรตีน ใยอาหาร และแร่ธาตุชนิดต่างๆ เช่น โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม ฟอสฟอรัส

1.4 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารในหัวกวาวเครือขาว นันทวัน บุญยะประภัสสร และอรนุช โชคชัยเจริญพร (2539) รายงานว่ามีฤทธิ์เหมือนเอสโตรเจน ทำให้แท้ง คุมกำเนิด ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อน ยับยั้งการสร้างอสุจิ ยับยั้งการหลั่งน้ำนม ฆ่าอสุจิ ผลต่อปริมาณคอเลสเตอรอลและโปรตีนในเลือด ทำให้เกิดการจับตัวของแคลเซียมที่เนื้อเยื่อทำให้ปริมาณแคลเซียมในเลือดสูง ผลต่อยุงก้นปล่องเป็นพิษต่อนกกระทา ยับยั้งการไข่ของนกกระทา เร่งการเจริญเติบโตของนกกระทา

สารเคมีที่พบในกวาวเครือแดง พบว่ามี oestrogenic substance และกลูโคไซด์อยู่ 2 ชนิด คือ ชนิดหนึ่งเป็นผลึกสีขาว และอีกชนิดหนึ่งเป็นผลึกสีเหลือง (ซึ่งชนิดนี้อาจจะเป็นกลูโคไซด์ชนิดเดียวกับที่มีอยู่ในทองกวาว (*butea frondosa*) สารเคมีในหัวกวาวเครือแดงมีสาร butein และ butin (Pangsrivongra, 1938; Subba and Seshandri, 1949); butenin (อวย เกตุสิงห์, 2484) สารในกวาวเครือแดงจะกดการทำงานของหัวใจ ทำให้หลอดเลือดหดตัว เพิ่มความดันโลหิต กระตุ้นการหายใจ ฤทธิ์เหมือนเอสโตรเจน (อวย เกตุสิงห์, 2484; Vatna, 1939; Sukhavachana, 1941)

จากประโยชน์และสรรพคุณของกวาวเครือที่เผยแพร่ให้คนส่วนใหญ่ได้ทราบเป็นผลทำให้ความต้องการพืชชนิดนี้สูงมากขึ้น ทั้งเพื่อการศึกษาค้นคว้าวิจัย การใช้เป็นสมุนไพร เครื่องสำอาง หรือใช้เป็นยาคุมกำเนิดในสัตว์ ทำให้ปัจจุบันมีการนำหัวกวาวเครือซึ่งเป็นพืชที่เจริญอยู่ในป่าตามธรรมชาติออกมาใช้ประโยชน์ในปริมาณมาก และผิดวิธีจึงเป็นสาเหตุทำให้กวาวเครือลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ (2541) กล่าวว่าการขุดหัวกวาวเครือขาวออกมาจากป่าในพื้นที่ต่างๆ หลายจังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี สระบุรี เพชรบุรี น่าน แพร่ เชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน ซึ่งเป็นแหล่งที่มีกวาวเครืออาศัยอยู่ตามธรรมชาติ โดยนำไปขายให้กับพ่อค้าทั้งในลักษณะหัวกวาวเครือสดและตากแห้ง ความต้องการวัตถุดิบจากหัวกวาวเครือมีมากเท่าไรจะยิ่งเป็นการกระตุ้นให้กวาวเครือที่มีอยู่ตามธรรมชาติถูกทำลายให้หมดไปอย่างรวดเร็วและอาจทำให้สูญพันธุ์ได้ในอนาคต ไม่เพียงแต่เฉพาะกวาวเครือเท่านั้น พืชชนิดอื่นๆ ที่มีลักษณะคล้ายกวาวเครือก็ถูกขุดขึ้นมาจำหน่ายด้วย เนื่องจากความเข้าใจผิดและอาจทำให้ผู้บริโภคได้รับอันตรายจากการปลอมปนของพืชหัวชนิดอื่นๆ ที่มีลักษณะภายนอกเหมือนกวาวเครือ และจากรายงานของ อรดี สหวัชรินทร์ (2541) เกี่ยวกับการขุดหัวกวาวเครือของชาวบ้านพบว่า ปกติชาวบ้านจะขุดกวาวเครือทั้งปีเพื่อเป็นรายได้ของครอบครัว และยังไม่มีข้อมูลว่าการขุดฤดูกาลไหนจะได้หัวที่คุณภาพดี การขุดหัวกวาวเครือของชาวบ้านจะหาต้นที่มีขนาดใหญ่ทำการถางพืชทุกชนิดที่อยู่ใกล้เคียงออก เพื่อให้ง่ายต่อการติดตามรากที่เลื้อยไปในดิน บางครั้งหัวขนาดใหญ่อาจอยู่ลึกถึง 1 ม. ดินที่ขุดออกมามีจำนวนมาก ชาวบ้านจะไม่กลบฝังดินให้เรียบร้อย ทำให้รากจำนวนมากที่เหลืออยู่ไม่มีโอกาสเจริญเติบโตต่อไป

และเป็นการทำลายพืชชนิดอื่น ๆ ที่อยู่ข้างเคียงและก่อให้เกิดการชะล้างพังทลายของดินในบริเวณนั้นด้วย

ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตหัวกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดงเป็นวัตถุดิบทดแทนการนำเข้าออกมาจากป่าธรรมชาติ ยังมีข้อมูลน้อยมาก และเพื่อการแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้น ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญเกี่ยวกับสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อลักษณะนิสัยการเจริญเติบโต ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตตลอดจนการศึกษาถึงการพัฒนาของดอกและติดผลและเมล็ด ซึ่งการวิจัยนี้จะทำให้ทราบถึงข้อมูลบางประการที่สำคัญและเทคโนโลยีที่ใช้ในการผลิตหัวกวาวเครืออย่างมีประสิทธิภาพในอนาคตต่อไป

1.5 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงปัจจัยสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดง
2. เพื่อศึกษาฤดูกาลออกดอก การพัฒนาของดอก การติดผลและเมล็ดของกวาวเครือทั้ง 2 ชนิด
3. เพื่อศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์กวาวเครือแดง
4. เพื่อศึกษาระยะเวลาต่างๆ ในรอบปีที่มีผลต่อปริมาณการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดง
5. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญเติบโต และการสร้างสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดง
6. เพื่อการผลิตหัวกวาวเครือขาวที่มีคุณภาพสูง
7. เพื่อเป็นแนวทางให้เกษตรกรและผู้สนใจปลูกกวาวเครือเป็นการค้าได้อย่างมีประสิทธิภาพและพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพที่มีคุณภาพดี

1.6 ขอบเขตของการศึกษาวิจัย

การวิจัยครั้งนี้มีขอบเขตของการวิจัยที่มุ่งเน้นการศึกษาเพื่อนำไปสู่การผลิตหัวกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดงที่มีประสิทธิภาพ

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงการจัดการสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดง
2. ทำให้ทราบถึงการเขตกรรมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการสะสมสารประกอบทางเคมีในกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดง
3. ทำให้ทราบถึงฤดูกาลออกดอก การพัฒนาดอก การติดผลและเมล็ดของกวาวเครือทั้ง 2 ชนิด
4. ทำให้ทราบถึงปริมาณการสะสมการประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาว ที่ช่วงเวลาต่างๆ กันในรอบปี
5. ทำให้เข้าใจถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโต และการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาว
6. ได้วิธีการผลิตหัวกวาวเครือทั้ง 2 ชนิด ที่มีประสิทธิภาพเหมาะแก่การเพาะปลูกในเชิงพาณิชย์ สำหรับเกษตรกรและผู้สนใจทั่วไป
7. เป็นการลดปัญหาการนำหัวกวาวเครือออกมาจากป่าตามธรรมชาติมากเกินไป ซึ่งอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดการสูญพันธุ์และทำลายความหลากหลายทางชีวภาพในอนาคต

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 กวาวเครือขาว

กวาวเครือขาวเป็นสมุนไพรที่ใช้กันมาแต่สมัยโบราณ โดยเฉพาะทางภาคเหนือใช้กันมากในรูปของยาอายุวัฒนะ บำรุงเลือด บำรุงกำลัง ทำให้ทรวงอกเต่งตึงผมดำ ผิวพรรณดี นอนหลับสนิท แก้โรคตาฟาง ต้อกระจก ความจำดีและอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่า กวาวเครือขาวมีคุณสมบัติของสารหลายกลุ่มที่มีสารออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนในเพศหญิงอีกด้วย ส่วนโทษของกวาวเครือขาวมีผู้รายงานว่า ในหัวกวาวเครือขาวมีสารพิษบางตัวที่มีผลต่อเซลล์ของตับ ต่อมหมวกไต และเซลล์เม็ดเลือดแดงในสัตว์ทดลอง

จากตำราแต่โบราณบอกว่า พระสงฆ์นามอุนารตะและอุนันติยะ ที่ประเทศพม่าเป็นผู้ประกาศตำรานี้ไว้จนต่อมาเมื่อพระมหาเจดีย์แห่งหนึ่งที่เมืองพุกาม ถูกลมพายุพัดจนพังลงมาเป็นเหตุให้ตำราที่คนโบราณเขียนจารึกบนใบลานและบรรจุไว้ในพระเจดีย์องค์นั้นปรากฏแก่มหาชนทั้งหลาย ตามตำรานั้นบอกว่าให้เอาหัวกวาวเครือตำเป็นผงแล้วกินกับน้ำนมวัว เนื้อหนังจะเหมือนเด็กอายุ 6 ปี จะมีอายุยืนนาน ถ้ากินกับน้ำข้าวจะมีเนื้อหนังผิวพักตร์อันนิ่มนวล จะกินกับน้ำมันเนยก็ดี หรือกินกับน้ำผึ้งก็ดี จะมีอายุยืน หรือถ้ากินกับน้ำนมต้มจะมีอายุยืน และศีรษะที่หงอก ฟันหลุด เนื้อหนังเหี่ยวยานจะไม่เกิดขึ้น ยาชนิดนี้ต้องรับประทานเท่าเมล็ดพริกน้อย ผู้รับประทานต้องรักษาศีล 5 อย่างเคร่งครัดแล้วจะเกิดประโยชน์ แต่ยานี้มีฤทธิ์มากต้องระวัง อย่าได้รับประทานเกินส่วนของตำรา

ตำรากวาวเครือเล่มแรกของไทย หลวงอนุสารสุนทรได้เขียนตำราขึ้นมาทั้งหมด 2 ฉบับ ฉบับแรก เขียนเมื่อ ปี 2472 เป็นภาษาล้านนา และเขียนฉบับที่สองในปี 2474 เป็นภาษาไทยชื่อตำรายาหัวกวาวเครือ (ภาพที่ 2.1) ซึ่งบางส่วนในตำรากล่าวว่าตนได้สร้างยานี้รับประทานแล้วครั้งแรกรู้สึกว่านอนหลับดี รับประทานอาหารได้ โรคภัยก็น้อยลง มีกำลังแข็งแรงดี และเป็นยาที่หาง่ายคนชั้นใดก็ผลิตได้ โดยกวาวเครือดำให้ปั้นเท่าเมล็ดพริกไทย ผ่า 3 กินแค่หนึ่งส่วน กวาวเครือขาว ให้ปั้นเท่าเมล็ดพริกไทย กินวันละ 1 เม็ด ท่านยังบอกอีกว่า ถ้าผู้หญิงที่มีอายุ 70-80 ปี รับประทานแล้วจะมีระดูเหมือนผู้หญิงสาวและห้ามคนหนุ่มสาวไม่ให้รับประทานยานี้ (สากล เจรจา, 2548)

ภาพที่ 2.1 ตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร

2.1.1 แหล่งกวาวเครือในธรรมชาติ

มี 9 แหล่ง ที่พบ คือ (1) เชียงใหม่ (2) กำแพงเพชร (3) เลย (4) กาญจนบุรี (5) แหล่งโคราช (ลพบุรี สระบุรี โคราช) (6) ประจวบคีรีขันธ์ (7) เชียงราย (8) ปราจีนบุรี (9) เพชรบูรณ์ (เขาค้อ) โดยจะพบมากในป่าเต็งรัง ป่าผลัดใบผสม ป่าไผ่ ป่าเบญจพรรณแล้ง ป่าก่อเชิงเขาหินปูน ริมห้วยหรือริมธารที่มีน้ำไหลตามฤดูกาล มักจะมีหินปูน หินทราย หรือดินลูกรังผสมอยู่ด้วย ซึ่งมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างราว 5.5 พบได้ในภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ บนที่ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลประมาณ 250-800 ม. พบกวาวเครือกระจายพันธุ์อย่างน้อยใน 13 จังหวัด พบมากในภาคเหนือ โดยเฉพาะในดินที่มีอินทรีย์วัตถุสูง ลงมาจนถึงเทือกเขาตะนาวศรีในภาคตะวันตกและในแนวเทือกเขาเพชรบูรณ์ ทางฝั่งขวาของแม่น้ำป่าสัก จากทางจังหวัดเลย ลงมาจนถึงจังหวัด ลพบุรี สระบุรี และนครราชสีมา (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

2.1.2 การใช้ประโยชน์กวาวเครือ

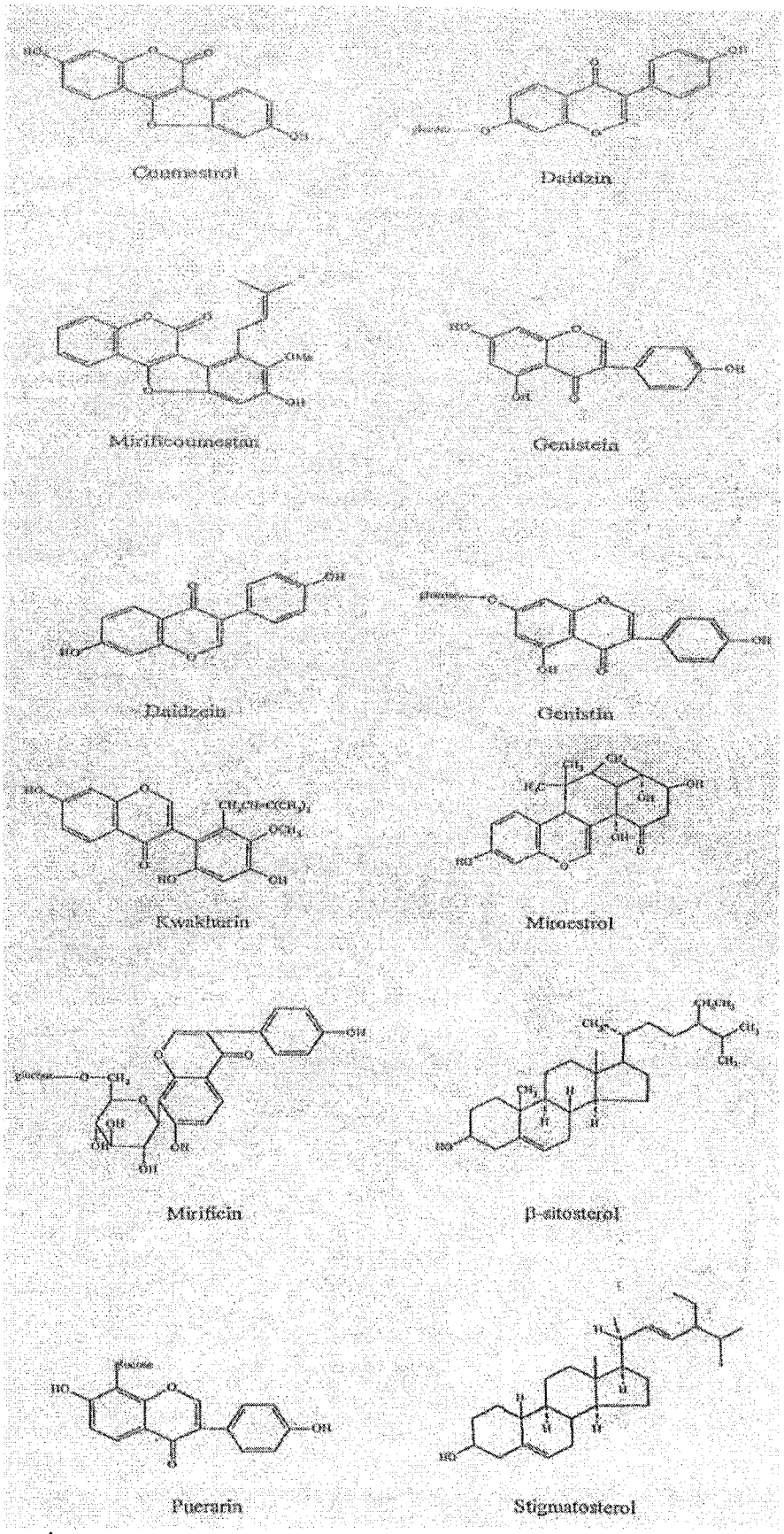
เนื่องจากสรรพคุณของกวาวเครือมีใช้ทั้งในรูปแบบของยาอายุวัฒนะ อาหารเสริม และเครื่องสำอาง ตลอดจนการใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ใน พ.ศ. 2542 เป็นปีที่มีการตื่นตัวเรื่องกวาวเครือมาก มีการขอขึ้นทะเบียนตำหรับยาแผนโบราณที่มีกวาวเครือขาวเป็นส่วนประกอบกว่า 30 ชนิด (กรมวิชาการเกษตร, 2548) การใช้เป็นยา ปั้นให้เท่าเมล็ดพริกไทยซึ่งจะได้ปริมาณ 30 มก./วัน ผสมตัวยาอื่นๆ ตามตำรับ กรณียาสมัยใหม่ ควรให้ได้ตัวยาประมาณ 30-50 มก./วัน จะมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้ การใช้เป็นอาหารเสริมจะต้องระบุกลุ่มผู้บริโภคโดยให้ใช้ในสตรีวัยทองเท่านั้น การใช้เป็นเครื่องสำอางนิยมทำในรูปครีมเพื่อการรักษาและให้ใช้ได้ไม่เกิน 50 มก. ถ้ามากกว่านั้นอาจมีปัญหาผลข้างเคียงได้

สรรพคุณของกวาวเครือขาวนั้น วุฒิ วุฒิธรรมเวช (2540) กล่าวว่าคนไทยในภาคเหนือใช้หัวกวาวเครือบดเป็นผงหรือนำมาต้มกับน้ำดื่ม เชื่อว่ามีผลทำให้กระชุ่มกระชวย เป็นยาอายุวัฒนะ ยาบำรุงเลือด บำรุงกำลัง และเสริมทรวงอกให้เต่งตึง ในตำราหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร (2472) ได้กล่าวถึงสรรพคุณของหัวกวาวเครือไว้หลายประการ คือ เป็นยาอายุวัฒนะ แก้โรคต่างๆ ทำให้ความจำดี ทำให้ผิวหนังที่เหี่ยวย่นกลับเต่งตึง ช่วยเสริมหน้าอก ทำให้ผมหงอกกลับดำ ใช้ได้ทั้งหญิงและชายสูงอายุ คนหนุ่มห้ามรับประทาน การรับประทานกวาวเครือมากเกินไปทำให้เกิดอาการวิงเวียน คลื่นเหียนและอาจถึงตายได้ มีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของกวาวเครือกับสัตว์ทดลองหลายชนิด โดยเฉพาะการศึกษาเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน ตัวอย่างเช่น การทดลองกับนกพิราบ ยุทธนา สมิตสิริ และสันติ ศักดารัตน์ (2538) รายงานว่านกพิราบที่ได้รับสารสกัดจากหัวกวาวเครือขาวโดยผสมกับข้าวสุกให้นกพิราบกิน พบว่าสามารถคุมกำเนิดนกพิราบได้ โดยยับยั้งพฤติกรรมเกี้ยวพาราศี พฤติกรรมการผสมพันธุ์ และการเจริญของอัณฑะในนกพิราบเพศผู้ และยับยั้งการออกไข่ การเจริญของฟอลลิเคิลในนกพิราบเพศเมีย นอกจากนี้ยังมีรายงานทดลองกับสัตว์ทดลองอีกหลายชนิดที่ให้ผลในทำนองเดียวกัน

การทดสอบความเป็นพิษพบว่า บูเตนิน (butein) ขนาดประมาณ 600 มก./กก. ฉีดเข้าช่องท้องของสัตว์ทดลอง และขนาด 360 มก./กก. ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง พบความผิดปกติของการหายใจ การเต้นของหัวใจ สัตว์ทดลองจะชักและตาย การฉีดสารละลายเข้าหลอดเลือดดำ 350 มก./กก. ในกระต่ายทำให้ชักและตาย ขณะที่ขนาด 40 มก./กก. ในสุนัขทำให้ซึมและกลับเป็นปกติได้ภายใน 2 ชั่วโมง (อวย เกตุสิงห์, 2484) สารละลายน้ำของผงยา 0.06 ก. มีความเป็นพิษต่อหนูถีบจักร (Vatna, 1939) ขนาดที่ทำให้สัตว์ทดลองตายมีค่า 25 มก./กก. ในกระต่ายและ 20 มก./กก. ในสุนัข (อวย เกตุสิงห์, 2484) ขนาดที่ไม่แสดงอาการเป็นพิษในหนูถีบจักร โดยการกินหรือฉีดเข้าใต้ผิวหนังมีค่า 10 มก./กก. (มงคล โมกขะสมิต และคณะ, 2513)

2.1.3 ชนิดของสารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว

จากรายงานของนักวิจัยทั้งในและนอกประเทศในขณะนี้ ได้จัดกลุ่มของสารสำคัญในหัวกวาวเครือขาว เป็น 6 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1) **isoflavones** ได้แก่ daidzein, genistein, kawakhurin และ kawakhurin hydrate กลุ่ม 2) **isoflavone glycoside** ได้แก่ daidzin, genistin, puerarin, mirificin และ puerarin-6-monoacetate กลุ่มที่ 3) **coumestans** ได้แก่ coumestrol, mirificoumestan, mirificoumestan glycol และ mirificoumestan hydrate กลุ่มที่ 4) **chromene** ได้แก่ miroestrol และ deoxymiroestrol กลุ่มที่ 5) **steroids** ได้แก่ ß-sitosterol และ stigmasterol กลุ่มที่ 6) **สารอื่นๆ** ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส ไขมัน โปรตีน ใยอาหาร และแร่ธาตุต่างๆ เช่น ลิเทียม โปแตสเซียม โซเดียม แคลเซียม และฟอสฟอรัส (กรมวิชาการเกษตร, 2548) ดังแสดงในภาพที่ 2.2

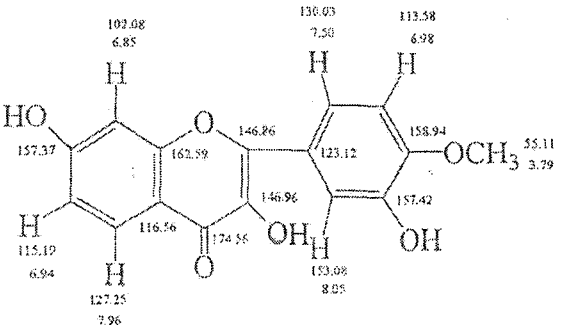


ภาพที่ 2.2 สารที่พบในหัวกวาวเครือขาว Ingham et al. (1986); Ingham et al. (1989); William et al. (1989)

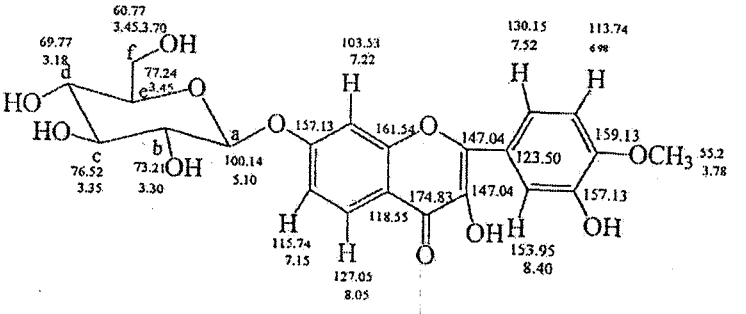
2.2 กวาวเครือแดง

กวาวเครือแดงมีสรรพคุณเป็นยาอายุวัฒนะบำรุงสมอง บำรุงโลหิต บำรุงกำลัง บำรุงผมทำให้ผมหงอกกลับดำ (นิสากร ปานประสงค์, 2542) นิยมใช้มากในกลุ่มชายไทยเพื่อเสริมสมรรถภาพทางเพศ เนื่องจากมีสารที่สามารถออกฤทธิ์เป็น phytoandrogen ที่มีโครงสร้างและทำหน้าที่คล้ายฮอร์โมนเพศชาย (androgen) เมื่อร่างกายได้รับในปริมาณที่พอเหมาะจะออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเพศชาย ซึ่งไปกระตุ้นให้ผมดกดำ กระตุ้นให้น้ำอสุจิมากขึ้น กระตุ้นให้หลอดเลือดในร่างกายขยายตัว ทำให้ไขมันในเส้นเลือดลดลง ลดอาการปวดข้อกระดูกและความดันโลหิตสูง ช่วยให้ระบบไหลเวียนโลหิตดีขึ้น โดยเฉพาะหลอดเลือดที่อวัยวะเพศชายไหลเวียนเข้าไปได้มากยิ่งขึ้น ทำให้เซลล์ในอวัยวะเพศชายขยายตัวได้มากกว่าเดิม ยืดระยะเวลาการมีเพศสัมพันธ์นานกว่าปกติ ป้องกันมะเร็งที่ต่อมลูกหมาก และป้องกันไม่ให้ต่อมลูกหมากโต กวาวเครือแดงยังมีสารกลุ่ม phytosterol ที่สามารถออกฤทธิ์เป็น phytoestrogen ที่มีโครงสร้างและทำหน้าที่คล้ายกับฮอร์โมนเพศหญิง (estrogen) ทำให้ร่างกายแสดงผลฮอร์โมนเพศได้มากขึ้น ทำให้ทรวงอกเพิ่มขึ้น ผิวพรรณดีและผมนุ่มสลวย ป้องกันมะเร็งในระยะยาวและทำให้ทรวดทรงกระชับ ร่างกายอยู่ในภาวะที่สมดุล (ทองทิศ ทองใหญ่, 2546) และเป็นฮอร์โมนควบคุมลักษณะทางเพศ ตลอดจนการทำงานของระบบสืบพันธุ์ในเพศหญิง (มยุรี ตันติสิระ, 2542)

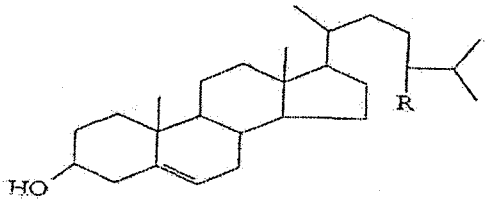
สารในรากของกวาวเครือแดงส่วนใหญ่เป็นประกอบสารฟลาโวนอยด์ โดยเฉพาะสารในกลุ่มฟลาโวน (flavones) เช่น 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone (โสภณ เริงสำราญ และคณะ, 2543) สารอื่นๆ เช่น สารไขมันพืช (phytosterols) และกรดอินทรีย์โซ่ตรง (ธนาธิป รักศิลป์, 2537) เป็นต้น ดังแสดงในภาพที่ 2.3



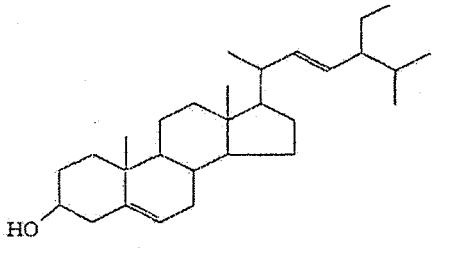
3,7,3'–trihydroxy-4'–methoxyflavone



3,3'–dihydroxy-4'–methoxyflavone–7-O-β-D-glucopyranoside



β-sitosterol (R = C_2H_6) และ campesterol (R = CH_3)



stigmasterol

ภาพที่ 2.3 สารต่างๆ ที่พบในหัวกวาวเครือแดง (ธนาธิป รักศิลป์, 2537)

2.2.1 ลักษณะพื้นที่และสภาพภูมิอากาศที่พบกวาวเครือแดง

อรดี สหวัชรินทร์ (2542) รายงานว่า กวาวเครือแดงสามารถเจริญได้ดีในดินที่มีระดับความเป็นกรดเป็นด่างที่ 5.5 สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล (2544) และ อธิพงษ์ มานะเสถียร (2544) รายงานว่าที่ อ.สูงเม่น จ.แพร่ พบกวาวเครือแดงในที่ดอน ความลาดชันไม่เกิน 20 องศาและอยู่เหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง 300-700 ม. อากาศหนาวเย็นในฤดูหนาวและร้อนจัดในฤดูร้อน ดินเป็นดินร่วนปนทราย พบกวาวเครือแดงขึ้นปนอยู่ในสภาพที่เคยเป็นป่าเบญจพรรณแล้วถูกทำลาย และพบกวาวเครือแดงที่ อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา บนภูเขาที่มีความลาดชันปานกลาง มีเนินเขาและที่ราบสลับกันกระจายอยู่ทั่วไป ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 280-762 ม. อากาศหนาวเย็นในฤดูหนาวและค่อนข้างร้อนในฤดูร้อน ดินเป็นดินร่วนปนทราย ลักษณะภูมิอากาศในบริเวณที่พบกวาวเครือแดงของทั้งสองพื้นที่ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ลักษณะภูมิอากาศในบริเวณที่พบกวาวเครือแดง

ภูมิอากาศ	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	อ.สูงเม่น จ.แพร่
อุณหภูมิสูงสุด (°ซ)	34.98 ± 0.67	39.60 ± 0.90
อุณหภูมิต่ำสุด (°ซ)	23.17 ± 0.61	20.53 ± 0.59
ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	96.91 ± 2.31	83.88 ± 2.35
ปริมาณน้ำฝน (มม./ปี)	1,072 ± 139.41	1,157.43 ± 224.02

หมายเหตุ จาก สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล (2544) และอธิพงษ์ มานะเสถียร (2544)

2.2.2 ชนิดของสารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง

องค์ประกอบทางเคมีที่สะสมในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดงจัดได้หลายกลุ่ม ดังการศึกษาของธนาธิป รักศิลป์ (2538); อรัญญา มโนสร้อย สมศักดิ์ ทะระถา พิศิษฐ์ ใจนนถีย์ และจีรเดช มโนสร้อย (ม.ป.ป.) และ Yadava and Reddy (1998) ได้รายงานไว้ดังนี้

กลุ่มที่ 1 อินทรีย์โซ่ตรง (carboxylic acid) ได้แก่

(1) dodecosanoic acid สูตรโมเลกุล $C_{22}H_{44}O_2$

(2) tricosanoic acid สูตรโมเลกุล $C_{23}H_{46}O_2$

(3) tetracosanoic acid สูตรโมเลกุล $C_{24}H_{48}O_2$

(4) pentacosanoic acid สูตรโมเลกุล $C_{25}H_{50}O_2$

(5) hexacosanoic acid สูตรโมเลกุล $C_{26}H_{52}O_2$

กลุ่มที่ 2 สารกลุ่มไขมันพืช (phytosterol) ได้แก่

(1) β-sitosterol

(2) stigmasterol

(3) campesterol

กลุ่มที่ 3 สเตอรอยด์ไกลโคไซด์ (steroid glycosoid) ได้แก่

(1) β-sitosteryl-3-o-β-D-glucopyranoside

(2) stigmasteryl-3-o-β-D-glucopyranoside

กลุ่มที่ 4 ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ได้แก่

(1) 3,7,5'–trihydroxy-4'–methoxyflavone

กลุ่มที่ 5 ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ (flavonoid glycosoid) ได้แก่

(1) 3,3'–dihydroxy-4'–methoxyflavone–7-o-β-D-glucopyranoside

(2) 3,5,7,3',4'–pentahydroxy-8–methoxy-flavonol–3-o-β-D-xylopyranosyl-(1-2)-alpha-L-rhamnopyranoside

กลุ่มที่ 6 ไอโซฟลาโวน (isoflavone) ได้แก่

(1) puerarin

(2) daidzein

(3) genistein

2.2.3 ประโยชน์จากกวาวเครือแดง

มีการศึกษาด้านฤทธิ์ทางชีวภาพ ด้านพิษวิทยา และความปลอดภัยของผู้บริโภคของกวาวเครือแดง เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ อรดี สหวัชรินทร์ (2542) รายงานการนำเอาดอกของกวาวเครือแดงมาตากแห้งแล้วหั่น ชงเป็นชาได้

สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล (2544) ได้ศึกษาโดยให้หนูขาวกินผงป่นรากกวาวเครือแดง 5 มก./ครั้ง/วัน เป็นเวลา 21 วัน พบว่า น้ำหนักตัวและปริมาณอสุจิของหนูขาว เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการให้เป็นเวลา 21 วัน และ 42 วัน พบว่า หนูขาวแสดงพฤติกรรมทางเพศมากขึ้น และพบว่าขนาดและความยาวขององคชาตของหนูขาวโตและยาวขึ้น องคชาตแข็งตัวนานขึ้นและสรุปว่าน่าจะเป็นผลมาจากสารประกอบ steroids และ flavonoid glycosoids ที่มีผลต่อเทสโทสเตอร์โรน (testosterone) ฮอร์โมนเพศชาย ทำให้หลอดเลือดของหนูขาวขยายตัว

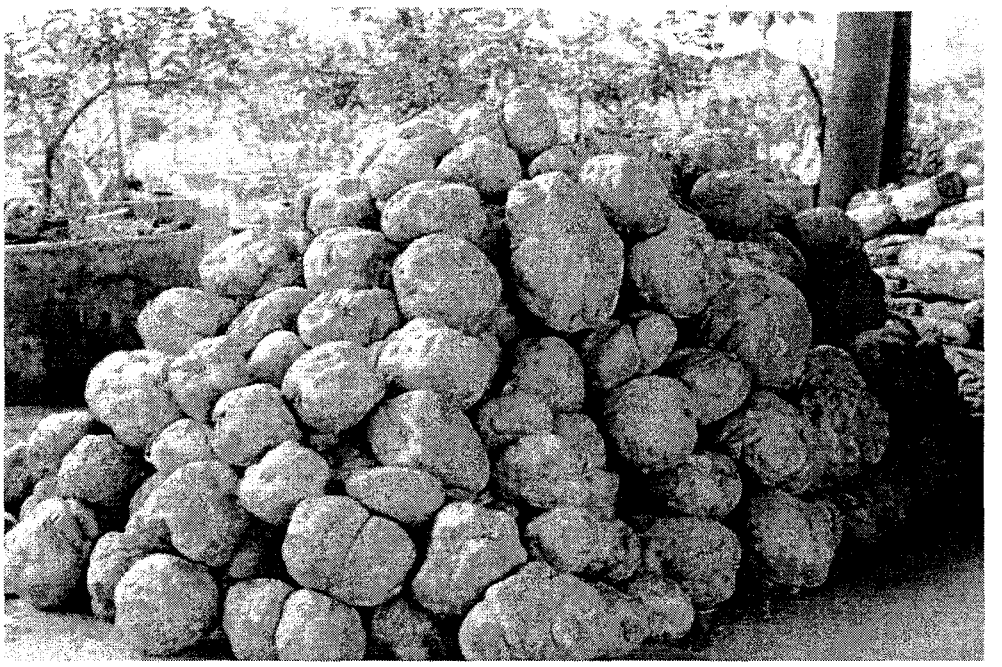
ไพลิน สิทธิวิเชียรวงศ์ (2542) พบว่าสาร 3,7,3'–trihydroxy-4'–methoxyflavone ในรากกวาวเครือแดง สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclic-adenosine 3',5'-monophosphate phosphodiesterese (cAMP–phosphodiesterese) ได้สูงกว่า 50% ที่ความเข้มข้นของสารสกัดจาก

กวาวเครือแดง 200 ไมโครกรัม (มคก.)/มล. โดยเอนไซม์ cAMP–phosphodiesterese ตัวนี้จะไปยับยั้งการแข็งตัวขององคชาตโดยทำให้เลือดไหลเข้าสู่องคชาตได้ไม่เต็มที่ ทำให้เกิดอาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศของผู้ชาย เช่นเดียวกับโสภณ เริงสำราญ และคณะ (2543) พบว่าสาร 3,7,3'–trihydroxy-4'–methoxyflavone และ 3,3'–dihydroxy-4'–methoxyflavone–7-o-β-d-glucopyranoside ในรากกวาวเครือแดง มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP–phosphodiesterese ได้ที่ระดับค่า inhibitory concentration 50% (IC_{50}) เท่ากับ 190 และ 58 มคก./มล. ตามลำดับ การที่กวาวเครือแดงสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP–phosphodiesterese จึงสามารถรักษาอาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศของผู้ชายได้ด้วย

ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์หลายชนิดที่มีส่วนประกอบของกวาวเครือแดง โดยอ้างสรรพคุณในการบำรุงร่างกายและรักษาอาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศของบุรุษ ในรูปยาลูกกลอน ยาเม็ด ยาแคปซูล และสารสกัดทำเป็นครีม (กองบรรณาธิการ, 2542) แต่ยังไม่มีรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำกวาวเครือแดงมาใช้ในการคุมกำเนิด ส่วนผลข้างเคียงของกวาวเครือแดง ถ้าใช้ในปริมาณที่เกินขนาดทำให้เกิดอันตรายต่ออวัยวะภายในของสัตว์ทดลองและการได้รับติดต่อกันนานๆ มีส่วนทำให้เสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งบางชนิดสูงขึ้น (มยุรี ตันติสิระ, 2542; อธิพงษ์ มานะเสถียร, 2544)

2.3 สถานการณ์ราคาและความต้องการวัตถุดิบของกวาวเครือ

เฉพาะยอดสินค้าที่ผลิตจากกวาวเครือภายในประเทศในปี พ.ศ. 2542 คาดว่ามีไม่ต่ำกว่า 500 ล้านบาท และปัจจุบันมูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์กวาวเครือและผลิตภัณฑ์ที่มีกวาวเครือเป็นองค์ประกอบไปยังตลาดต่างประเทศ คาดว่ามีมูลค่าประมาณ 1,500 ล้านบาท (กรมวิชาการเกษตร, 2548) และราคาของกวาวเครือตากแห้ง ประมาณ 300-500 บาท/กก. โดยวัตถุดิบส่วนใหญ่ (ภาพที่ 2.4 และ 2.5) คือ กวาวเครือที่ขุดออกจากแหล่งต่างๆ ในป่าธรรมชาติ โดยไม่มีการอนุรักษ์ และการควบคุม ที่ดีพอ จึงทำให้กวาวเครือลดปริมาณลงอย่างรวดเร็ว และอาจหมดไปในที่สุด ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้ด้วยการปลูกเพื่อใช้ประโยชน์แทนการลักลอบขุดจากป่า



ภาพที่ 2.4 กวาวเครือขาวที่ขุดจากป่าเพื่อรอขาย

ภาพที่ 2.5 การเก็บเกี่ยวกวาวเครือแดงของชาวบ้าน

2.4 การปลูกกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดง

กรมวิชาการเกษตรแนะนำให้เกษตรกรปลูกกวาวเครือขาว โดยเตรียมหลุมปลูกขนาด 50 x 50 x 50 ซม. ใส่ปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมักรองพื้นอัตรา 1-3 ตัน/ไร่ ควรปลูกในดินร่วนหรือดินร่วนปนทราย การระบายน้ำดี pH 5.23 - 6.46 ภาพที่ 2.6 แสดงให้เห็นถึงลักษณะของกวาวเครือในแปลงปลูก

ก.

ข.

ภาพที่ 2.6 กวาวเครือขาว และระยะ 2 x 2 ม. ที่ฟาร์มมมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (ก) และ กวาวเครือแดงที่ปลูกเหง้าที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (ข)

2.5 พระราชบัญญัติพันธุ์พืช

ปี พ.ศ. 2542 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้ประกาศให้กวาวเครือขาวอยู่ในบัญชีพืชสงวนอันดับที่ 8 ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518 (ฉบับที่ 1) (กรมวิชาการเกษตร, 2548) ซึ่งห้ามส่งออก และสงวนให้ใช้เพาะปลูกภายในประเทศ เนื่องจากเกรงว่าหากพืชนี้ถูกนำไปปลูกในต่างประเทศแล้ว ก็จะกลับมาเป็นคู่แข่งทางการค้าได้ จึงห้ามส่งออก หลังจากที่บริษัทผลิตเครื่องสำอางของญี่ปุ่นและเกาหลีได้จดสิทธิบัตรกวาวเครือถึง 20 รายการในรูปของเครื่องสำอางและยา กระทรวงสาธารณสุขจึงตั้งคณะกรรมการเพื่อรวบรวมหลักฐาน ฟ้องศาลทรัพย์สินทางปัญญา เพื่อเพิกถอนสิทธิบัตร และหลักฐานที่สำคัญคือ ตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร ซึ่งท่านได้รวบรวมสูตรยากวาวเครือไว้เป็นเล่มแรกของไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2474

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ศึกษาการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือขาวในธรรมชาติในรอบปี (phonological cycle)

ทำการทดลองที่โครงการปลูกป่าถาวรเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ภาพที่ 3.1 และ 3.2 ระยะเวลาทำการทดลอง กุมภาพันธ์ 2543-เมษายน 2545 โดยทำการคัดเลือกต้นกวาวเครือขาวที่อยู่ในธรรมชาติและอยู่ในระยะแตกเครือเถาและใบอ่อนเพื่อเป็นตัวอย่างในการศึกษา จำนวน 40 ต้น จากนั้นแบ่งจำนวนต้นกวาวเครือขาวออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ต้น เพื่อทำ การศึกษาการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ในรอบเวลาหนึ่งปีดังนี้ กลุ่มที่ 1 ศึกษาการเจริญของเครือเถาและใบอ่อน กลุ่มที่ 2 ศึกษาการเจริญและการพัฒนาของเครือเถาและใบ กลุ่มที่ 3 ศึกษาการผลัดใบ กลุ่มที่ 4 ศึกษาการออกดอก ทำการแบ่งการทดลองเป็น 2 ขั้นตอนคือ 1) การศึกษาการเจริญและพัฒนาที่ระยะต่างๆ ในรอบปี โดยสังเกตและเก็บรวบรวมข้อมูลจากต้นกวาวเครือขาวในแต่ละกลุ่มที่ติดหมายเลขไว้ ทุกๆ 15 วัน โดยสังเกตลักษณะการแตกเครือเถาและใบอ่อน การเจริญและพัฒนาของใบ การผลัดใบ การออกดอก การติดฝักและการแก่ของฝัก โดยประเมินด้วยสายตา แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละ 2) นำข้อมูลทางสภาพแวดล้อม จากสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ข้อมูลทางสภาพแวดล้อมที่ใช้คือค่าเฉลี่ยทุกๆ 15 วัน ของอุณหภูมิสูงสุดและอุณหภูมิต่ำสุด (°ซ) ปริมาณน้ำฝน (มล./วัน) และเปอร์เซ็นต์ความชื้นสัมพัทธ์ จากนั้นนำข้อมูลการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือขาวในรอบปี เปรียบเทียบหาความสัมพันธ์กับข้อมูลสภาพแวดล้อม

รวบรวมข้อมูลโดยทำการรวบรวมข้อมูลด้านการพัฒนาการด้านลำต้นและใบ (vegetative stage) ได้แก่ การแตกเครือเถาและใบอ่อน การเจริญและพัฒนาของใบ การผลัดใบ ข้อมูลการพัฒนาการด้านสืบพันธุ์ (reproductive stage) ได้แก่การออกดอก การติดฝักและเมล็ด และรวบรวมข้อมูลต่าง ๆ เกี่ยวกับปัจจัยทางสภาพแวดล้อมเช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณน้ำฝน วิเคราะห์ข้อมูลโดยนำค่าที่ได้จากการประเมินการเปลี่ยนแปลงการเจริญและการพัฒนาในด้านต่างๆ ที่เกิดขึ้นในรอบปี คำนวณผลเป็นเปอร์เซ็นต์และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางภูมิอากาศกับการเปลี่ยนแปลงในระยะต่างๆ ของกวาวเครือขาวที่เกิดขึ้น

ภาพที่ 3.1 พื้นที่โครงการปลูกป่าถาวรเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวบ้านเขาแผงม้า หมู่ 4 ต.วังน้ำเขียว อ.วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา

ภาพที่ 3.2 พื้นที่โครงการปลูกป่าถาวรเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวบ้านเขาแผงม้า หมู่ 4 ต.วังน้ำเขียว อ.วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา

3.2 ผลของการเขตกรรมต่อการออกดอก การติดฝักและการสะสมสาร coumestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว

ทำ 2 การทดลองในปี 2545-2547 ที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีเพื่อศึกษาการออกดอก ติดฝักและเมล็ดของกวาวเครือขาวที่ได้รับปุ๋ยเคมีสูตร 12-24-12, แคลเซียมโบรอน และ NAA โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก 4 ซ้ำ และเพื่อศึกษาการสะสมสาร coumestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่ฉีดพ่นด้วย $CuCl_2$, $MnCl_2$ และ $FeCl_2$ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก 4 ซ้ำ

3.3 ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวและ ผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว

puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว มีฤทธิ์ช่วยในการคลายตัวของหลอดเลือด ทำ 2 การทดลองในปี 2549-2550 ที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เพื่อศึกษาผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว วางแผนการทดลองแบบ RCBD 4 ซ้ำ จำนวน 5 ทรีตเมนท์ คือ ฉีดพ่นด้วยสังกะสีที่ความเข้มข้น 0 (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น), 50, 100, 200 และ 300 มล./ล. และเพื่อศึกษาผลของสารสกัดกวาวเครือขาว ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว

3.4 การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาว

3.4.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของกวาวเครือขาวในแปลงทดลอง

เพาะเมล็ดกวาวเครือขาวในเรือนเพาะชำ โดยใช้ดินร่วนผสมกับปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 2 ต่อ 1 รดน้ำเวลาเช้าและเย็น เมื่อต้นกล้าอายุ 7 วัน จึงย้ายปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 ซม. หลังจากนั้น 21 วันจึงทำการย้ายต้นกล้าไปปลูกในแปลงทดลองโดยใช้ระยะระหว่างต้นและระหว่างแถวเท่ากับ 2 x 2 ม. ก่อนปลูกทำค้างให้ต้นกวาวเครือขาวเลื้อยพันโดยใช้ไม้ยูคาลิปตัสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.5-12 ซม. ความสูง 2 ม. ฝังลงดิน 50 ซม. ให้น้ำแบบน้ำหยดวันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น แต่ละครั้งนาน 2 ชั่วโมง ทำการพรวนดินและกำจัดวัชพืชพร้อมกับใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา

15 ก. ต่อต้นทุกๆ 2 เดือน รวบรวมข้อมูล โดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเครือเถาที่ระดับผิวดินที่อายุ 4 8 12 และ 16 เดือน จากต้นกวาวเครือขาวที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างจำนวน 10 ต้น เก็บข้อมูลเกี่ยวกับระยะเวลาและเปอร์เซ็นต์การออกดอกจากต้นกวาวเครือขาวทั้งหมดจำนวน 100 ต้น และการนับจำนวนช่อดอก/ต้น การวัดความยาวของช่อดอก การนับจำนวนฝัก/ช่อดอก การวัดขนาดของฝัก การนับจำนวนเมล็ด/ฝักและการชั่งน้ำหนัก 100 เมล็ดจากต้นกวาวเครือขาวที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างจำนวน 10 ต้น ชั่งน้ำหนัก การหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น ของหัวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน จากต้นกวาวเครือขาวที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างจำนวน 10 ต้น แล้วคำนวณความหนาแน่นของหัวกวาวเครือขาวโดยนำน้ำหนักของหัวหารด้วยปริมาตรของหัว (ลบ. ซม.) ซึ่งหาได้จากการแทนที่น้ำดังสมการ ความหนาแน่นของวัตถุ = น้ำหนักของวัตถุ/ปริมาตรของวัตถุ (ความหนาแน่นของน้ำบริสุทธิ์ = 1 ก./ลบ.ซม.) (สุภาภรณ์ ภัทรสุทธิ, 2543) คำนวณและหาค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 10 ต้น

3.4.2 การศึกษาหาปริมาณสาร daidzein และ genistein ในหัวกวาวเครือขาว

เก็บตัวอย่างหัวกวาวเครือขาวที่ระยะต่างๆ ของการเจริญเติบโตและพัฒนา 4 ระยะคือ ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน ระยะใบเจริญเติบโตของใบและลำต้นเต็มที่ ระยะผลัดใบ และระยะออกดอก จากต้นกวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตตามธรรมชาติโครงการปลูกป่าถาวรเฉลิมพระเกียรติ และในแต่ละระยะเก็บตัวอย่างจำนวน 10 ต้น (10 ซ้ำ) เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสาร daidzein และ genistein และเก็บตัวอย่างหัวกวาวเครือขาวที่อายุต่างๆ กัน คือ 4, 8, 12 และ 16 เดือน โดยการสุ่มตัวอย่างจากต้นกวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีในแต่ละอายุจำนวน 10 ต้น (10 ซ้ำ) เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสาร daidzein และ genistein

วิเคราะห์ปริมาณสาร daidzein และ genistein (Murphy P.A., 1981 และ Frank A. et al., 1994) ล้างทำความสะอาดหัวกวาวเครือขาว แล้วผึ่งลมจนแห้ง จากนั้นนำหัวกวาวเครือขาวไปปอกเปลือก หั่น แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50°ซ. นาน 48 ชม. จากนั้นจึงนำไปบดด้วยเครื่องบด นำผงกวาวเครือที่บดแล้วไปเก็บในตู้ดูดความชื้น ชั่งผงกวาวเครือขาว 5 ก. นำไปละลายในเมทานอล 50 มล. เขย่าด้วยเครื่องเขย่า นาน 12 ชม. นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 แล้วนำสารสกัดที่ผ่านการกรองไปเซ็นตริฟิวซ์ที่ความเร็ว 4000 รอบ/นาที นาน 12 นาที กรองส่วนใสผ่านเมมเบรนไนลอนขนาด 47 ไมโครเมตร ทำการวิเคราะห์ปริมาณ daidzein และ genistein ด้วยวิธี HPLC โดยใช้ diode array เป็น detector ผ่านสารสกัดบนคอลัมน์ C_{18} ขนาด 8x250 มม. ซึ่งต่อกับการ์ดคอลัมน์ขนาด 8 x 25 มม. mobile phase ที่ใช้คือ MeOH : 100 mM ของ (NH_4) acetate เท่ากับ 55 : 45 % (v/v) อัตราการเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มล./นาที วัดการดูดกลืนแสงของ daidzein และ genistein ที่ 260

นาโนเมตร เปรียบเทียบปริมาณกับสารละลายมาตรฐานของ daidzein และ genistein ซึ่งเตรียมในเอทานอล 95% ความเข้มข้นของ daidzein และ genistein เท่ากับ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 ppm

รวบรวมข้อมูลปริมาณสาร daidzein และ genistein ของหัวกวาวเครือขาวที่ระยะต่างๆ ของการเจริญเติบโตและพัฒนา 4 ระยะคือ ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน ระยะใบเจริญเติบโตเต็มที่ ระยะผลัดใบ และระยะออกดอก และจากต้นกวาวเครือขาวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน หาค่าเฉลี่ยของสาร daidzein และ genistein จากต้นกวาวเครือขาวที่อยู่ในระยะการเจริญและพัฒนาต่างๆ รวม 4 ระยะ และจากต้นกวาวเครือขาวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน

3.4.3 การขยายพันธุ์กวาวเครือขาวโดยการปักชำ

วางแผนการทดลองแบบ split – plot มี **main plot** คือ วัสดุชำ มี 3 ระดับ คือ ดิน ทราย ขี้เถ้าแกลบ **sub-plot** คือ สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช มี 5 ระดับ คือ (1) T1 control แช่กิ่งด้วยน้ำเปล่า (2) T2 แช่กิ่งด้วย NAA ระดับความเข้มข้น 250 ppm (3) T3 แช่กิ่งด้วย NAA ระดับความเข้มข้น 500 ppm (4) T4 แช่กิ่งด้วย NAA ระดับความเข้มข้น 750 ppm (5) T5 แช่กิ่งด้วย NAA ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ใช้กิ่งกวาวเครือขาวที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดประมาณ 1-2 ซม. ลักษณะกิ่งมีสีเขียวปนสีน้ำตาล ทำการตัดกิ่งให้มีความยาวประมาณ 15 ซม. เฉือนบริเวณโคนกิ่งให้เป็นรูปลิ่มยาวประมาณ 2 ซม. นำกิ่งกวาวเครือขาวมาฆ่าเชื้อด้วยสาร clorox แช่กิ่งกวาวเครือขาวที่ฆ่าเชื้อแล้วใน NAA ระดับความเข้มข้น 0, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm และ 1,000 ppm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปักชำกิ่งกวาวเครือขาวในวัสดุเพาะทั้ง 3 ชนิด คือ ดิน ทราย และขี้เถ้าแกลบ โดยทำมุม 60 องศา กับผิวหน้าของวัสดุปลูก เก็บรวบรวมข้อมูลการเจริญเติบโตโดยการวัดความยาวของรากทุก 15, 30, 45 และ 60 วัน ตามลำดับ และเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของรากสะสมอาหารระหว่างวัสดุปลูก

3.5 การศึกษาถึงปัจจัยสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง

3.5.1. พันธุ์และความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับการเจริญและพัฒนา

เลือกต้นกวาวเครือแดงที่มีอายุและขนาดใกล้เคียงกัน จำนวน 10 ต้น ติดหมายเลขต้น สำรวจ และเก็บข้อมูล ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีสหสัมพันธ์ (correlation) และรีเกรชชั่น (regression) และทำการรวบรวมต้นกวาวเครือแดงจาก 3 จังหวัด รวม 27 ต้น ได้แก่ นครราชสีมา 10 ต้น (N1-N10) กาฬสินธุ์ 11 ต้น (K1-K11) และสกลนคร 6 ต้น (SK1-SK6) เพื่อคัดแยกต้นด้วยโมเลกุลเครื่องหมายร่วมกับลักษณะทางพฤษศาสตร์ของแต่ละต้น การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

1.1 ศึกษาการเจริญเติบโตและพัฒนาในรอบปี โดยการสำรวจและเก็บข้อมูลกวาวเครือแดงที่อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ที่มีอายุและขนาดใกล้เคียงกัน จำนวน 10 ต้น ทุก ๆ 15 วัน ตั้งแต่ มีนาคม 2547 - มีนาคม 2548 เพื่อศึกษาการแตกเครือเถาและใบอ่อน การแก่ของใบ การผลัดใบ การออกดอกและการติดฝัก โดยการประเมินด้วยสายตามแล้วนำมาเฉลี่ย

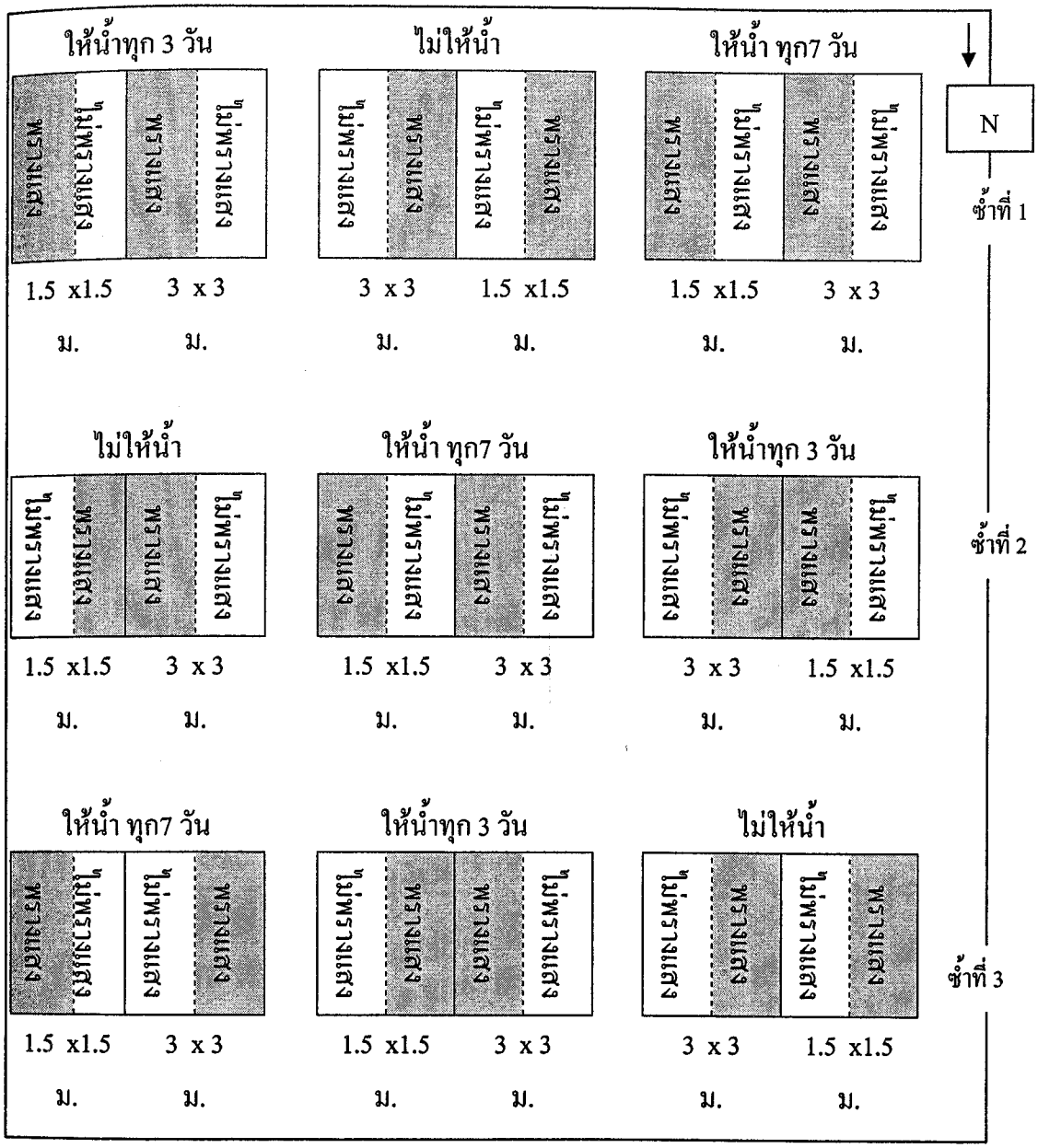
1.2 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือแดง นำข้อมูลทางสภาพแวดล้อม คือ อุณหภูมิสูงสุด (°ซ) อุณหภูมิต่ำสุด (°ซ) ปริมาณน้ำฝน (°ซ) และความชื้นสัมพันธ์ (%) จากสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา มาหาความสหสัมพันธ์ และวิเคราะห์ multiple linear regression กับเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของกวาวเครือแดงในหัวข้อ 1.1

1.3 การจำแนกต้นกวาวเครือแดงด้วยเทคนิค randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) รวบรวมสายพันธุ์ต้นกวาวเครือแดงจาก 3 จังหวัด รวม 27 ต้น คือ นครราชสีมา 10 ต้น (N1-N10) บางต้นใช้ร่วมกับ ข้อ 1.1 และ 1.2 กาฬสินธุ์ 11 ต้น (K1-K11) และสกลนคร 6 ต้น (SK1-SK6) ทำการคัดเลือกใบในแต่ละต้นในระยะใบเพสลาดมาสกัดดีเอ็นเอ โดยประยุกต์วิธีการของ Li and Midmore (Li and Midmore, 1999) ปฏิกิริยา polymerase chain reaction (PCR) ใช้ DNA ตั้งแต่ 10-40 ng ปฏิกิริยาประกอบด้วย 10X PCR buffer (20 mM Tris-HCl pH 8.0, 0.1 mM EDTA, 100 mM KCl, 50% glycerol, 1 μM DTT, 0.5% tween 20, 0.5% Nondidet P-40) 1.2% formamide, 200 mM dNTP, 1.5 mM $MgCl_2$ และ 0.9 U TagDNA polymerase (promega) ไพร์เมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยามี 40 ไพร์เมอร์ คือ A01 A02 A11 B11 B20 C04 C05 C07 C08 C19 D03 D04 D08 D10 D13 D18 D20 E01 E02 E06 E07 E14 E19 G03 G08 G10 G16 M05 P83 P85 P88 P2589 P2671 P2674 P2680 S05 S09 S11 S16 และ S19 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR จำนวน 45 รอบ คือ ที่ระดับอุณหภูมิ 94 °ซ นาน 1 นาที อุณหภูมิ 40 °ซ นาน 1 นาที อุณหภูมิ

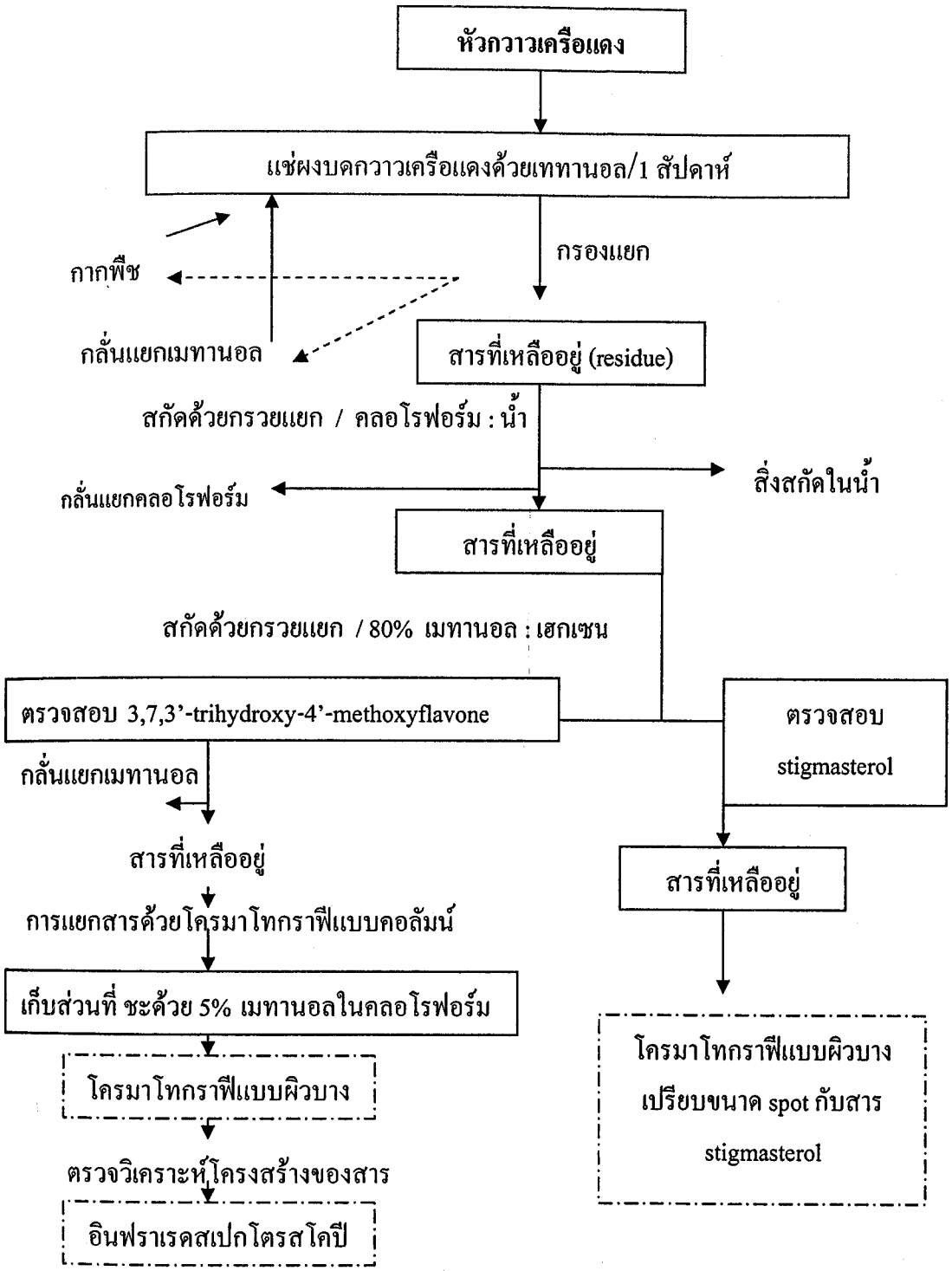
72 °ซ นาน 2 นาที และรอบที่ 46 สำหรับการสังเคราะห์ดีเอ็นเอให้สมบูรณ์ ที่อุณหภูมิ 72 °ซ นาน 7 นาที แยกขนาดดีเอ็นเอด้วย agarose gel clectrophoresis ใช้ 1% gel และ 0.5X TBE ย้อมด้วย ethidium bromide บันทึกข้อมูลการพบแถบดีเอ็นเอ ถ้าพบแถบดีเอ็นเอใช้สัญลักษณ์ "1" ในทุกตำแหน่ง ส่วนสายต้นที่ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันใช้สัญลักษณ์ "0" เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมดของกวาวเครือแดงทุกต้น โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ NTSYSpc เวอร์ชั่น 1.10 ซึ่งโปรแกรมคำนวณความสัมพันธ์ของกวาวเครือแดงแต่ละต้น และสร้างเป็น Tree plot ที่เหมาะสม การบันทึกข้อมูลลักษณะทางพฤกษศาสตร์โดยการสังเกตด้วยสายตา แล้วใช้สัญลักษณ์ "1" และ "0" ทั้ง 9 ลักษณะ คือ รูปร่าง ใบ ฐานใบ ปลายใบ สีก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝักและเมล็ด โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ NTSYSpc เวอร์ชั่น 1.10 ในการคำนวณ เช่นเดียวกับลักษณะของดีเอ็นเอ

3.5.2. อิทธิพลของการเขตกรรมบางประการและสภาพแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง

ทำ 2 การทดลอง ในปี 2545-2547 ที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เพื่อศึกษาผลของการจัดทรีตเมนต์ระหว่างปัจจัย การให้น้ำ การจัดระยะปลูก และการพรางแสง ต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นและรากของกวาวเครือแดงในแปลงปลูก ที่อายุ 6, 8, 10, 12 และ 14 เดือน วางแผนการทดลองแบบสปริต-สปริตพล็อต โดยจัดเมนพล็อตแบบสุ่มภายในบล็อก 3 ซ้ำ ดังแสดงในภาพที่ 3.3 และศึกษาผลของทรีตเมนต์ดังกล่าวต่อการสะสมสาร stigmasterol และ สาร 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone ด้วยการตรวจสอบสารตามขั้นตอนในภาพที่ 3.4



ภาพที่ 3.3 แผนผังแปลงปลูกที่วางแผนการทดลอง แบบ split-split plot ที่ main plot วางแผนแบบสุ่มภายในบล็อก



ภาพที่ 3.4 แผนผังแสดงขั้นตอนการสกัดสาร 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone และ สาร stigmasterol (ธนาธิป รักษ์ศิลป์, 2537)

3.5.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสาร phytosterol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง และผลของสารนี้ต่อการทำงานของมดลูกหนูขาวเพศเมีย

ทำ 2 การทดลอง ในปี 2548-2549 ที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เพื่อศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยเคมี NAA และ GA_3 ต่อการเจริญเติบโต และการสะสมสาร phytosterol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง วางแผนการทดลองแบบ 3^2 factorial in RCBD 3 ซ้ำ จำนวน 9 ทรีตเมนต์ ศึกษา 2 ปัจจัยๆ ละ 3 ระดับ คือ 1) ปัจจัยปุ๋ย (ไม่ให้ปุ๋ย ให้ปุ๋ยคอก อัตรา 1,500 กก./ไร่ และให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่) 2) ปัจจัย NAA และ GA_3 (ไม่ฉีดพ่น NAA 100 ppm และ GA_3 100 ppm ฉีดพ่น NAA 100 ppm และฉีดพ่น GA_3 100 ppm) ดังแสดงในตารางที่ 3.1 และเพื่อศึกษาผลของ phytosterol ในรากกวาวเครือแดงต่อการทำงานของมดลูกหนูขาว โดยวิเคราะห์ความแตกต่างของการหดตัวของมดลูกหนู ระหว่างการให้สารสกัดกวาวเครือแดงแต่ละทรีตเมนต์ เปรียบเทียบกับที่ไม่ได้ให้สารสกัดกวาวเครือแดง โดยวิเคราะห์ทางสถิติแบบ independent sample t-test และเปรียบเทียบทั้ง 9 ทรีตเมนต์แบบ 3^2 factorial in RCBD

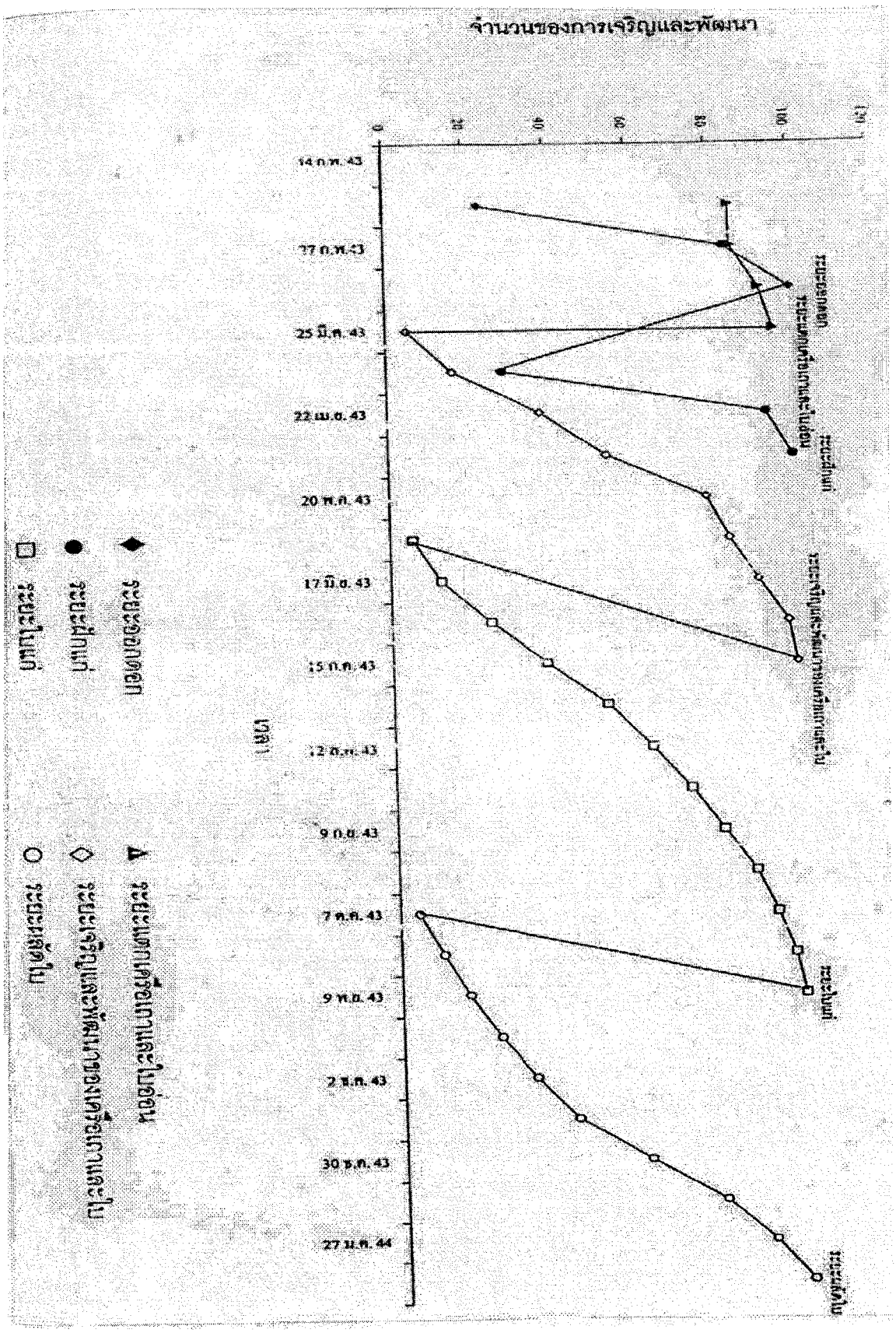
ตารางที่ 3.1 การจัดทรีตเมนต์ของการทดลองแบบ 3^2 factorial in RCBD จำนวน 9 ทรีตเมนต์

ปุ๋ย	สารควบคุมการเจริญเติบโต	สัญลักษณ์
ไม่ให้ปุ๋ย	ไม่ฉีดพ่น	T1
	ฉีดพ่น NAA 100 ppm	T2
	ฉีดพ่น GA_3 100 ppm	T3
ปุ๋ยคอก อัตรา 1,500 กก./ไร่	ไม่ฉีดพ่น	T4
	ฉีดพ่น NAA 100 ppm	T5
	ฉีดพ่น GA_3 100 ppm	T6
ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่	ไม่ฉีดพ่น	T7
	ฉีดพ่น NAA 100 ppm	T8
	ฉีดพ่น GA_3 100 ppm	T9

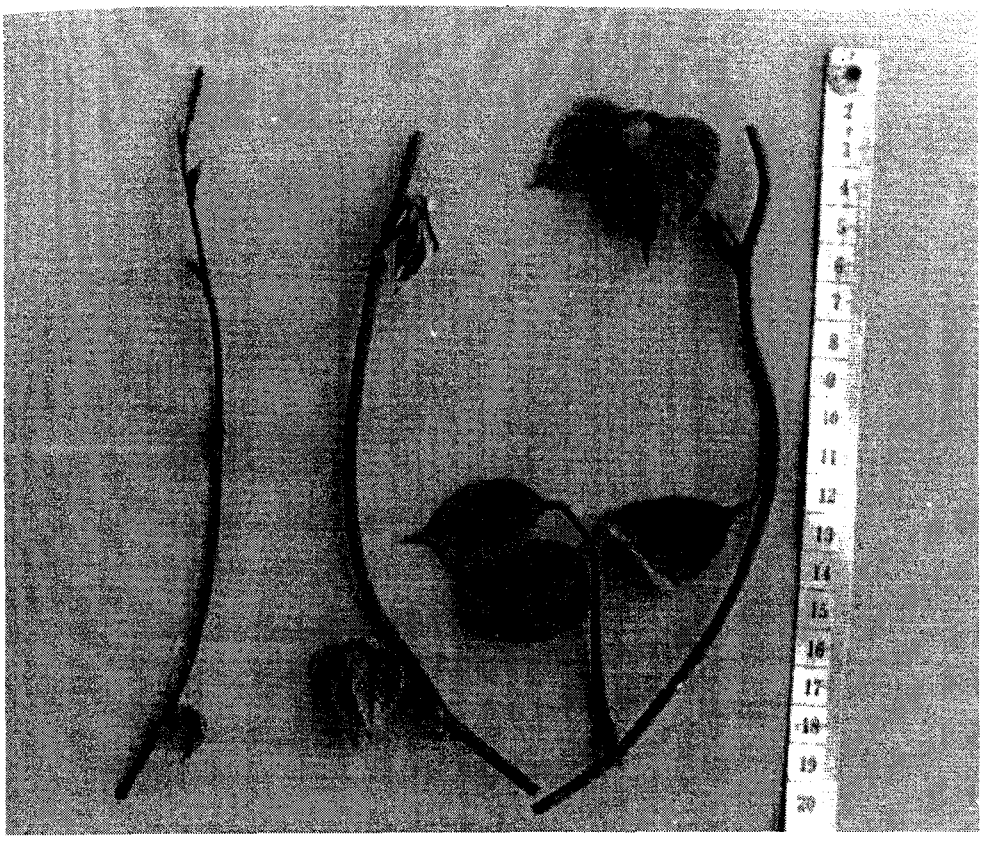
บทที่ 4
ผลการศึกษาวิจัย

4.1 ศึกษาการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือขาวในธรรมชาติในรอบปี

ภาพที่ 4.1 แสดงการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือขาวในระยะต่างๆ ในรอบปี ภาพที่ 4.2-4.4 แสดงระยะต่างๆ ของการเจริญเติบโตของพืช ภาพที่ 4.5 แสดงสภาพภูมิอากาศในขณะที่ศึกษาการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือในรอบปี และตารางที่ 4.1 แสดงค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การเจริญและการพัฒนาของกวาวเครือขาวในระยะต่างๆ กับ อุณหภูมิสูงสุดและอุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน พบว่า การแก่ของฝัก การเจริญและพัฒนาของใบ และการผลัดใบ มีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำฝน (มม./วัน) อุณหภูมิสูงสุด (^{o}ซ) และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ (%) ตามลำดับ



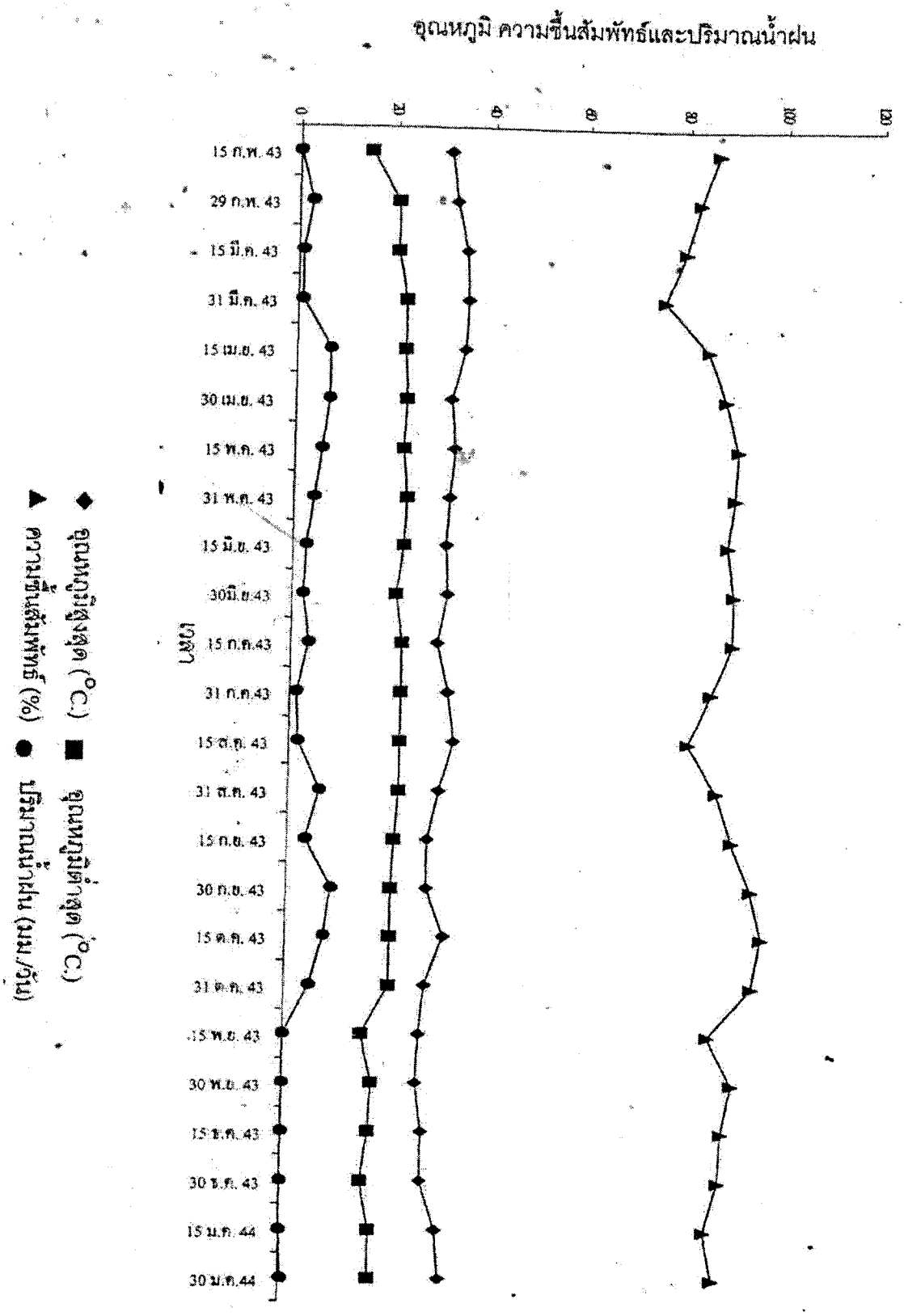
ภาพที่ 4.1 การเจริญและพัฒนาของกวาวเครือขาวในรอบปี



ภาพที่ 4.2 กวาวเครือขาวระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน

ภาพที่ 4.3 กวาวเครือขาวระยะใบแก่

ภาพที่ 4.4 กวาวเครือขาวระยะออกดอก



ภาพที่ 4.5 อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำฝน

ตารางที่ 4.1 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การเจริญและการพัฒนาของกวาวเครือขาวในระยะต่างๆ กับอุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำฝน

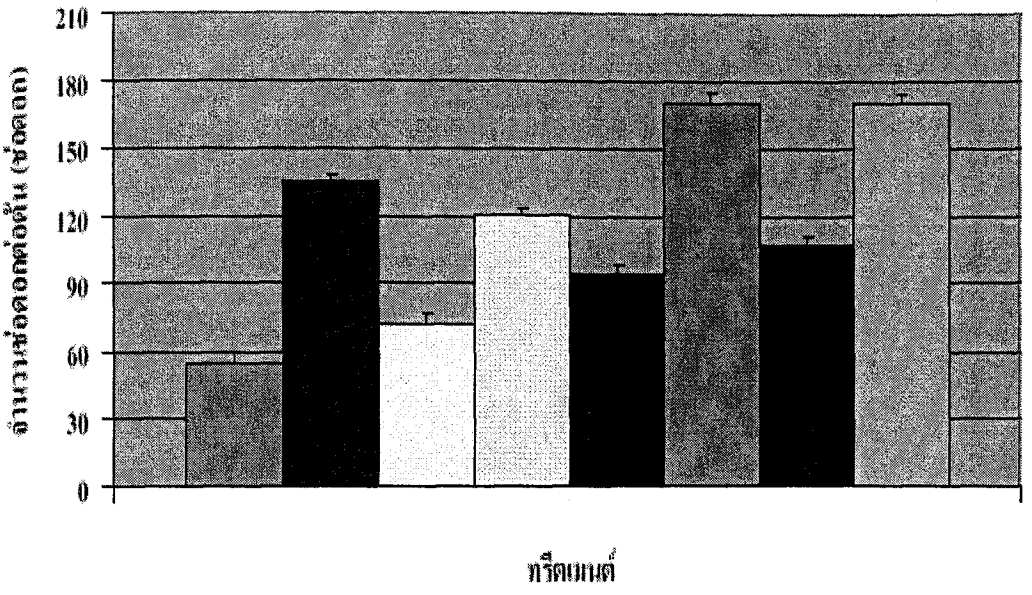
ข้อมูลภูมิอากาศ (เฉลี่ยทุกๆ 15 วัน)	เปอร์เซ็นต์การเจริญและพัฒนาในด้านต่างๆ					
	การออกดอก	การแก่ของฝัก	การแตกใบอ่อน	การเจริญและพัฒนาของใบ	การแก่ของใบ	การผลัดใบ
อุณหภูมิสูงสุด (°ซ.)	0.8223 ns	0.4028 ns	0.8731 ns	0.6829 *	0.3492 ns	0.3169 ns
อุณหภูมิต่ำสุด (°ซ.)	0.9419 ns	0.6535 ns	0.4684 ns	0.0082 ns	0.3492 ns	0.0645 ns
ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	0.9514 ns	0.9650 ns	0.8621 ns	0.4825 ns	0.1402 ns	0.6822 *
ปริมาณน้ำฝน (มม./วัน)	0.3301 ns	0.9911 *	0.0360 ns	0.1419 ns	0.0266 ns	0.1567 ns

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 5%

4.2 ศึกษาการออกดอก การติดฝักและการสะสมสาร coumestrol ในกวาวเครือขาว

กวาวเครือขาวออกดอกในเดือนพฤศจิกายน ติดฝักและพัฒนาเป็นฝักแก่ในเดือนเมษายนและการให้ปุ๋ยสูตร 12-24-12 อัตรา 35 กก./ไร่ ร่วมกับปุ๋ยแคลเซียมโบรอน 10 ppm ร่วมกับ NAA 100 ppm ทำให้กวาวเครือขาวมีความยาวช่อดอก จำนวนช่อดอก/ต้น (ภาพที่ 4.6) จำนวนฝัก/ช่อดอก (ภาพที่ 4.7) จำนวนเมล็ด/ฝัก (ภาพที่ 4.8) และน้ำหนัก 100 เมล็ดมากที่สุด (ภาพที่ 4.9) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกวาวเครือขาวที่ไม่ใส่ปุ๋ยสูตร 12-24-12 ไม่ให้ปุ๋ยแคลเซียมโบรอนและไม่ให้ NAA (กลุ่มควบคุม) และการให้ปุ๋ยสูตร 12-24-12 อัตรา 35 กก./ไร่ ร่วมกับปุ๋ยแคลเซียมโบรอน 10 ppm ทำให้กวาวเครือขาวมีความยาวฝักยาวที่สุด



ภาพที่ 4.6 แสดงจำนวนช่อดอก / ต้น ของกวาวเครือขาวที่ได้รับการปฏิบัติ ในแต่ละทรีตเมนต์

กลุ่มควบคุม

ปุ๋ย 12-24-12 35 กิโลกรัมต่อไร่

แคลเซียมโบรอน 10 ppm

ปุ๋ย 12-24-12 35 กิโลกรัมต่อไร่ + แคลเซียมโบรอน 10 ppm

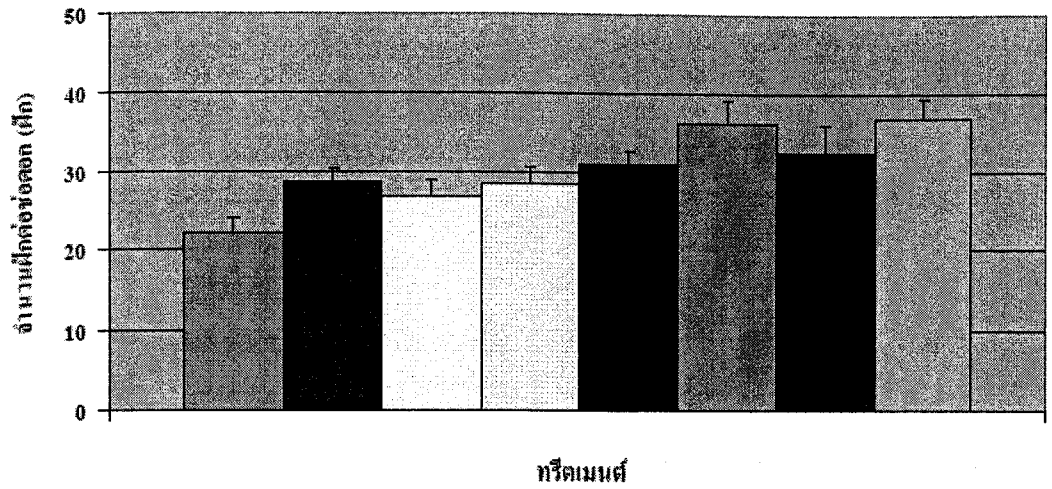
NAA 100 ppm

ปุ๋ย 12-24-12 35 กิโลกรัมต่อไร่ + NAA 100 ppm

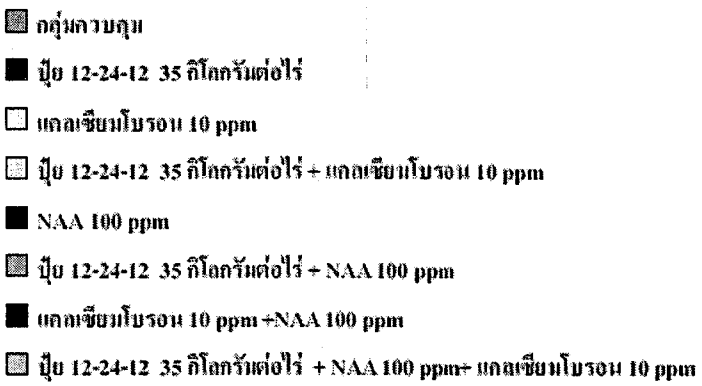
แคลเซียมโบรอน 10 ppm +NAA 100 ppm

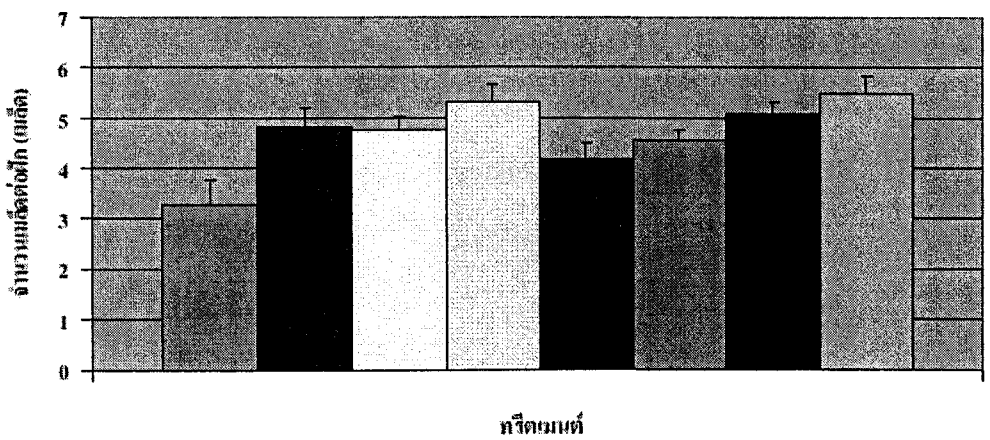
ปุ๋ย 12-24-12 35 กิโลกรัมต่อไร่ + NAA 100 ppm+ แคลเซียมโบรอน 10 ppm

I คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD.)

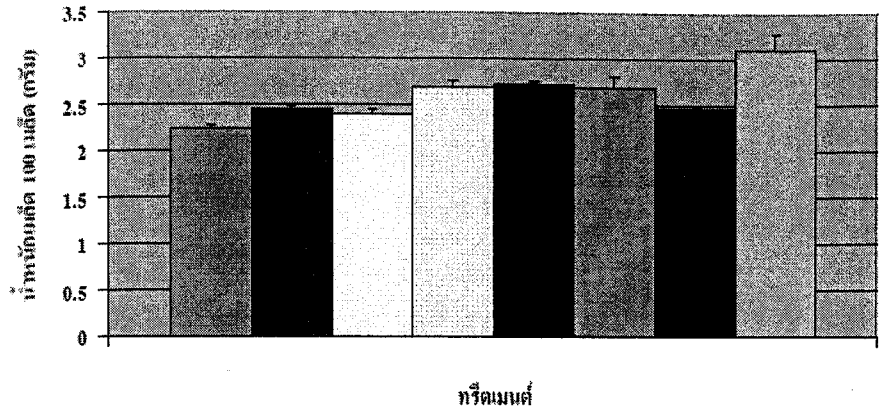


ภาพที่ 4.7 แสดงจำนวนฝัก/ช่อดอก และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกวาวเครือขาวที่ได้รับการปฏิบัติในแต่ละทรีตเมนต์





ภาพที่ 4.8 แสดงจำนวนเมล็ด/ฝัก และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกวาวเครือขาวที่ได้รับการปฏิบัติในแต่ละทรีตเมนต์

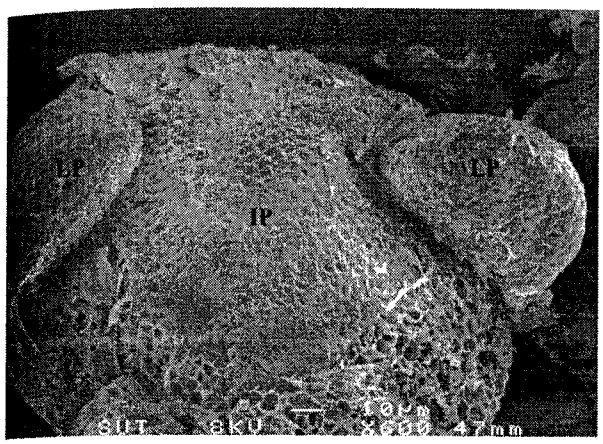


ภาพที่ 4.9 แสดงน้ำหนัก 100 เมล็ด และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกวาวเครือขาวที่ได้รับการปฏิบัติในแต่ละทรีตเมนต์

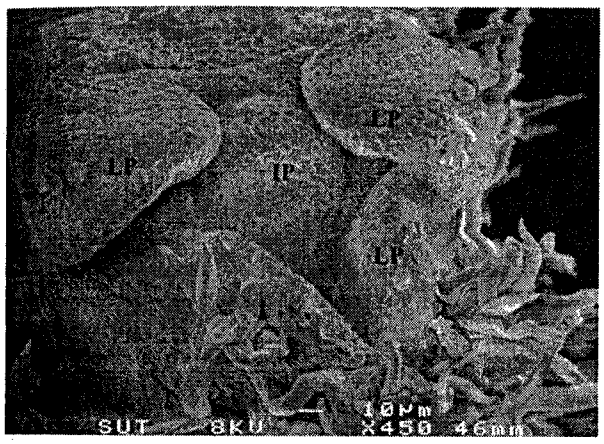
กลุ่มควบคุม
ปุ๋ย 12-24-12 35 กิโลกรัมต่อไร่
แคลเซียมโบรอน 10 ppm
ปุ๋ย 12-24-12 35 กิโลกรัมต่อไร่ + แคลเซียมโบรอน 10 ppm
NAA 100 ppm
ปุ๋ย 12-24-12 35 กิโลกรัมต่อไร่ + NAA 100 ppm
แคลเซียมโบรอน 10 ppm +NAA 100 ppm
ปุ๋ย 12-24-12 35 กิโลกรัมต่อไร่ + NAA 100 ppm+ แคลเซียมโบรอน 10 ppm

I คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD.)

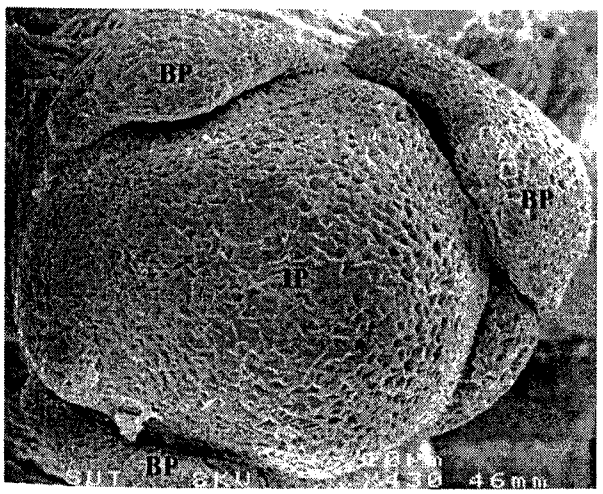
การพัฒนาของดอกกวาวเครือขาว สามารถแบ่งออกเป็น 10 ระยะ ดังแสดงในภาพที่ 4.10-4.19



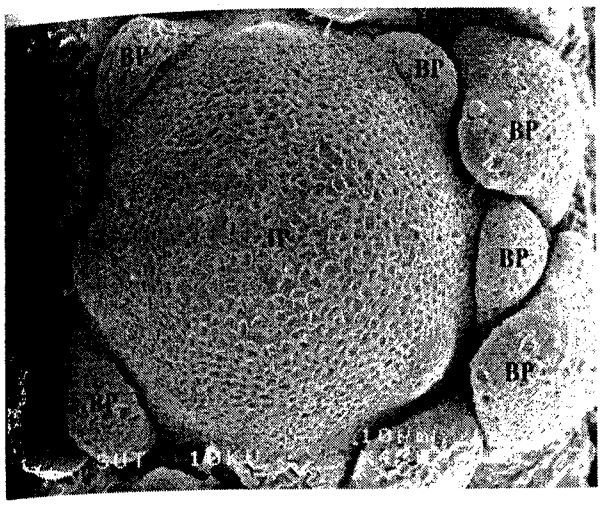
ภาพที่ 4.10 vegetative, leaf primordial (LP) inflorescence primordia (IP)



ภาพที่ 4.11 IP induction, round mounding of IP and extended LP

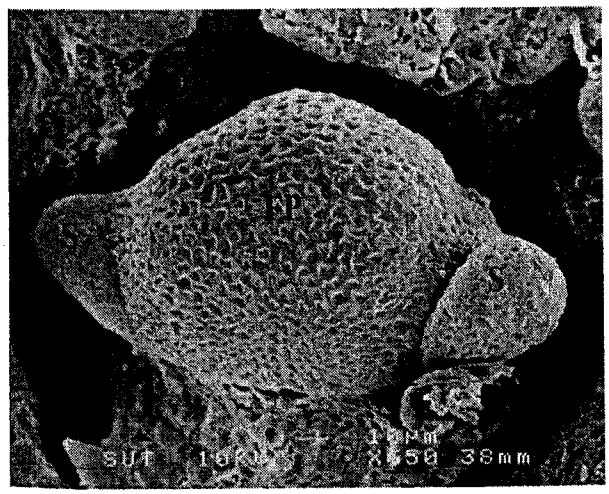


ภาพที่ 4.12 IP initiation clearly initiation IP and bract primordial (BP)

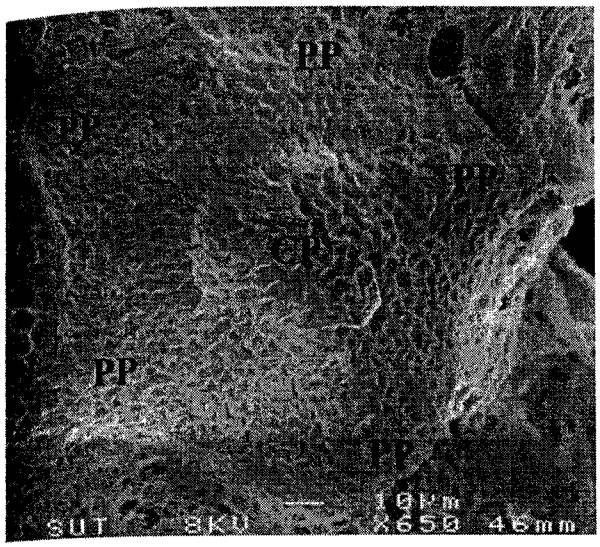


ภาพที่ 4.13 the development of IP and BP

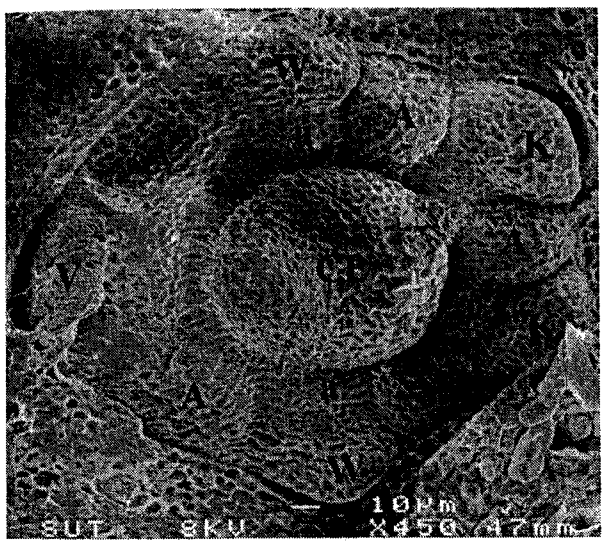
ภาพที่ 4.14 floral primordia (FP) induction, the development of FP



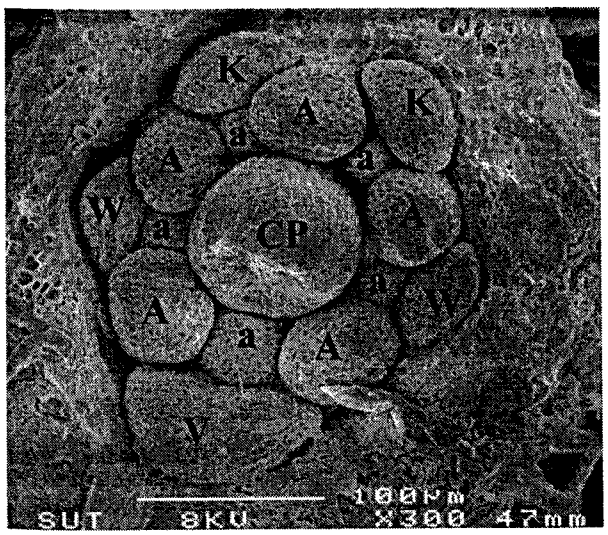
ภาพที่ 4.15 the extension of FP and the development of sepal primordia (S)



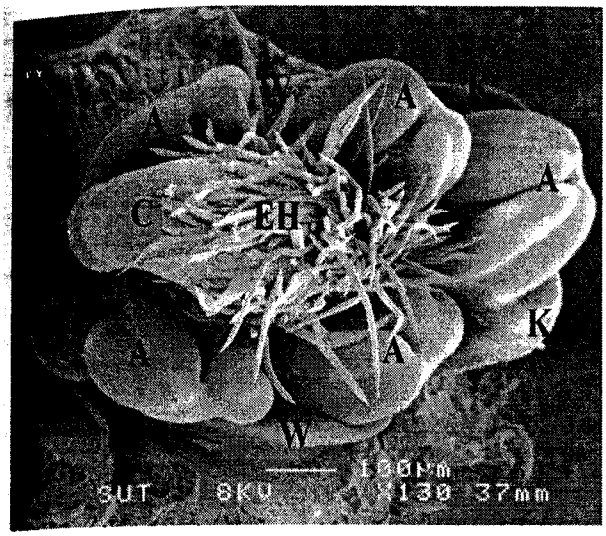
ภาพที่ 4.16 carpel and petal induction, carpel primordia (CP) and petal primordial (PP)



ภาพที่ 4.17 petal and stamen initiation, vexillum petal (V), wing petal (W) and keel petal (K)



ภาพที่ 4.18 all organ development, growth of V, W, K and stamen with 5 outer anther (5A) and 5 inner anther (5a)



ภาพที่ 4.19 end of flower development, epidermal hairs (EH).

กวาวเครือขาวที่ได้รับปุ๋ยสูตร 12-24-12 อัตรา 35 กก./ไร่ มีการพัฒนาของดอกเร็วที่สุด และพัฒนาดอกช้าที่สุดเมื่อได้รับปุ๋ยแคลเซียมโบรอน 10 ppm แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกวาวเครือขาวกลุ่มควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงวันออกดอกของกวาวเครือขาวในแต่ละทรีตเมนต์ โดยนับตั้งแต่วันฉีดพ่นสารครั้งแรก (ตั้งแต่วันที่ 5 เมษายน 2546 - วันออกดอก)

ทรีตเมนต์	วันออกดอก (วัน) **
กลุ่มควบคุม	235.75 [1/]
ปุ๋ย 12-24-12 กก./ไร่	226.75 a
แคลเซียมโบรอน 10 ppm	238.25 d
ปุ๋ย 12-24-12 กก./ไร่ + แคลเซียมโบรอน 10 ppm	234.50 c
NAA 100 ppm	321.00 b
ปุ๋ย 12-24-12 กก./ไร่ + NAA 100 ppm	235.00 c
ปุ๋ย 12-24-12 กก./ไร่ + แคลเซียมโบรอน 10 ppm + NAA 100 ppm	234.75 c

[1/] ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกัน ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %จากการวิเคราะห์แบบ Duncan's New Multiple RangeTest (DMRT)

** วันออกดอก นับจากวันฉีดพ่นสารครั้งแรกจนถึงวันพบระยะ inflorescence primordia induction phase ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscopy)

การทดลองที่ 2 พบว่าการฉีดพ่นด้วย $CuCl_2$ 1,000 ppm, $MnCl_2$ 1,000 ppm และ $FeCl_2$ 1,000 ppm ทำให้กวาวเครือขาวมีปริมาณสาร coumestrol มากกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ฉีดพ่นสารอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสาร coumestrol ของกวาวเครือขาวในกลุ่มทรีตเมนต์ต่างๆ

ทรีตเมนต์	ปริมาณของ coumestrol (มคก./ ก. น้ำหนักแห้ง)
กลุ่มควบคุม	60.30 a [1/]
$CuCl_2$ 1000 ppm	150.85 c
$MnCl_2$ 1000 ppm	101.65 b
$FeCl_2$ 1000 pm	87.60 b

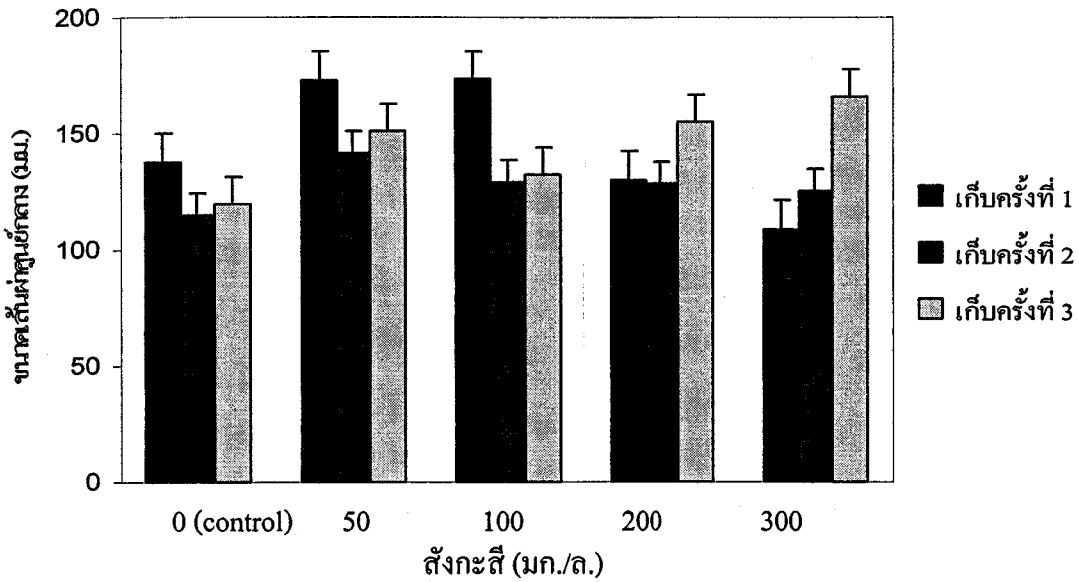
[1/] ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกัน ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการวิเคราะห์แบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ดังนั้นปุ๋ย 12-24-12 อัตรา 35 กก./ไร่ ร่วมกับแคลเซียมโบรอน 10 ppm ร่วมกับ NAA 100 ppm เป็นปัจจัยที่มีนัยสำคัญในการเพิ่มการพัฒนาในระยะออกดอกของกวาวเครือขาวและการฉีดพ่นด้วย $CuCl_2$ 1,000 ppm $MnCl_2$ 1,000 ppm และ $FeCl_2$ 1,000 ppm สามารถชักนำการสะสมสาร coumestrol ในหัวกวาวเครือขาวเพิ่มขึ้นได้ โดยเฉพาะการฉีดพ่นด้วย $CuCl_2$ 1,000 ppm ให้ปริมาณ coumestrol สูงสุด

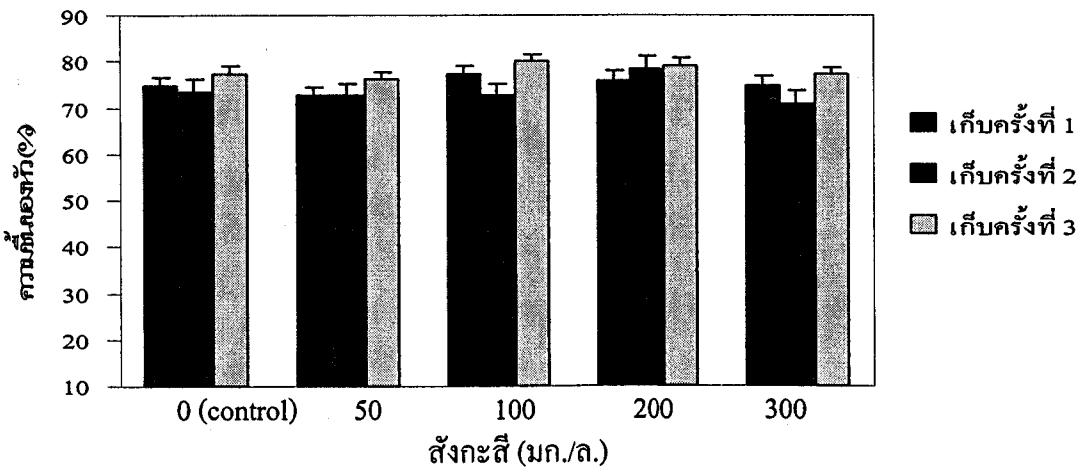
4.3 ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวและผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว

การฉีดพ่นด้วยสังกะสีทุกความเข้มข้นให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (ภาพที่ 4.20) น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหาร (ภาพที่ 4.21) ของกวาวเครือขาวไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ทำให้ปริมาณ puerarin แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การฉีดพ่นด้วยสังกะสีที่ความเข้มข้น 200 มก./ล.ให้ปริมาณ puerarin สูงที่สุด 194.3 มคก./ก. น้ำหนักแห้ง (ภาพที่ 4.22) สารสกัดกวาวเครือขาวทุกทรีตเมนท์ทำให้หลอดเลือดหนูมีการคลายตัวมากกว่าช่วงที่ไม่ได้

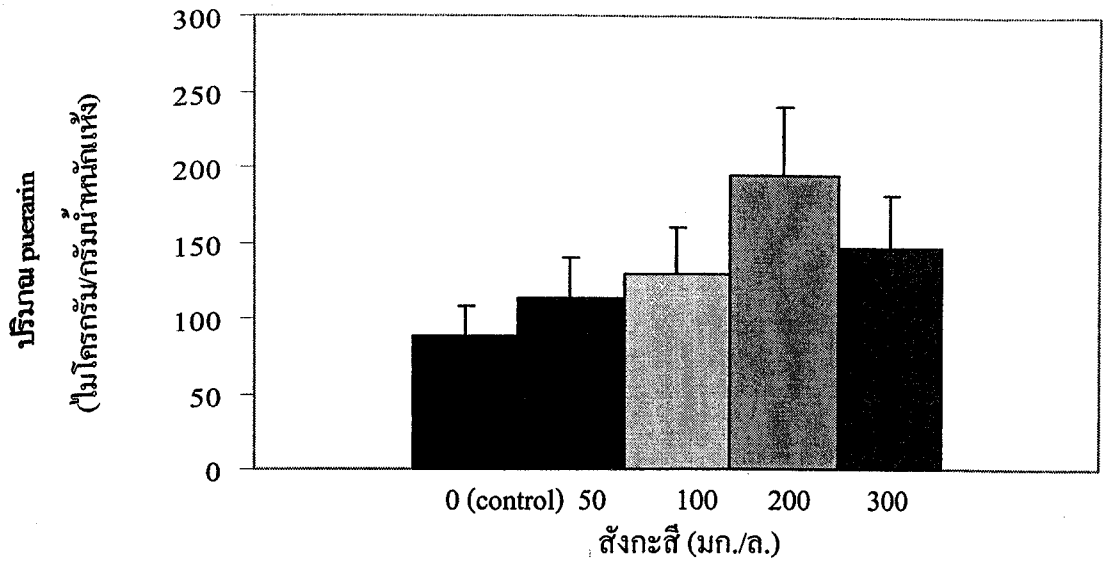
รับสารสกัดกวาวเครือขาวอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวที่ฉีดพ่นด้วยสังกะสีที่ความเข้มข้น 200 มก./ล. ทำให้หลอดเลือดหนูขาวมีการคลายตัวสูงที่สุด (ภาพที่ 4.23) โดยมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้งของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาวน้อยที่สุด 51.0 % (ภาพที่ 4.24) ดังนั้น สารสกัดกวาวเครือขาวมีผลทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวและจากการพ่นสังกะสีให้กับกวาวเครือขาวสามารถเพิ่มปริมาณ puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวได้



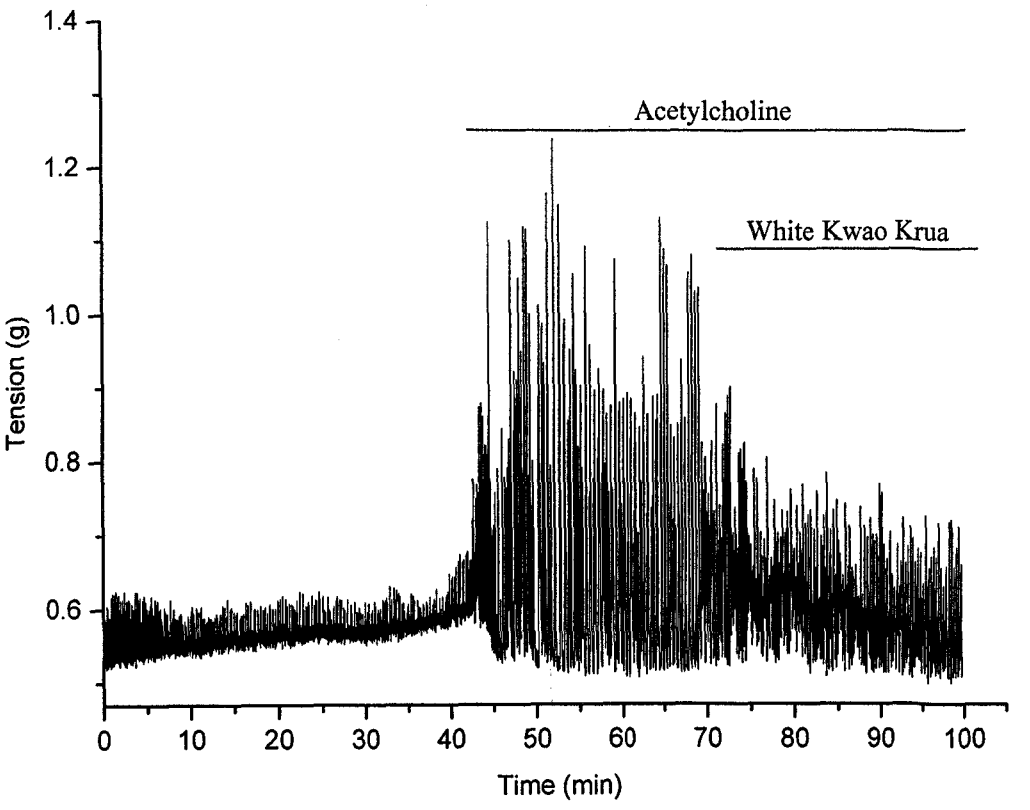
ภาพที่ 4.20 เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว (T=sd.)



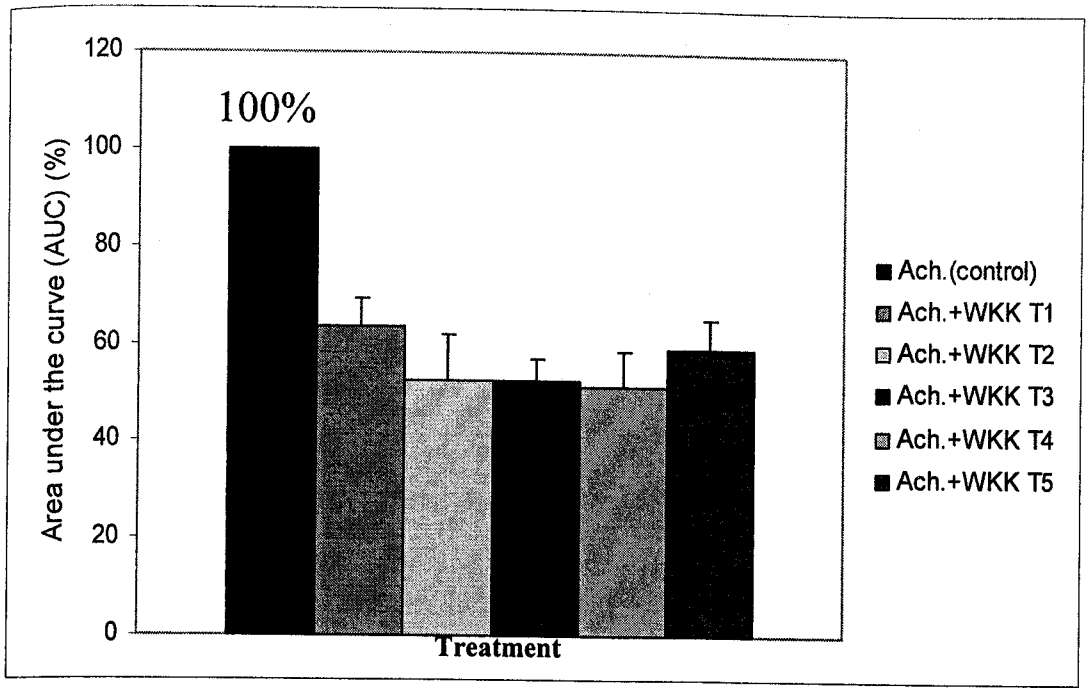
ภาพที่ 4.21 เปอร์เซ็นต์ความชื้นเฉลี่ยของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว (T=sd.)



ภาพที่ 4.22 ปริมาณ puerarin เฉลี่ย จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว (T = SD)



ภาพที่ 4.23 การหดและคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวเมื่อได้รับสาร acetylcholine และ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวทรีตเมนท์ที่ 4 (ช่วงเวลาตั้งแต่ 0-40 นาที เป็นการหดตัวแบบ spontaneous contraction หลังจากนั้นช่วงเวลาตั้งแต่ 40-70 นาที เป็นการกระตุ้นการหดตัวด้วย acetylcholine (1.0 μM) และช่วงเวลา 70-100 นาที เป็นการใส่สารสกัดกวาวเครือขาวร่วมกับ acetylcholine แกนตั้งของภาพแสดงแรงตึงในการหดตัว (tension) มีหน่วยเป็น ก. แกนนอนแสดงเวลาที่ใช้ในการทดลอง (time) มีหน่วยเป็นนาที บาร์ (—) แสดงเวลาที่ใส่สาร) (n=3)



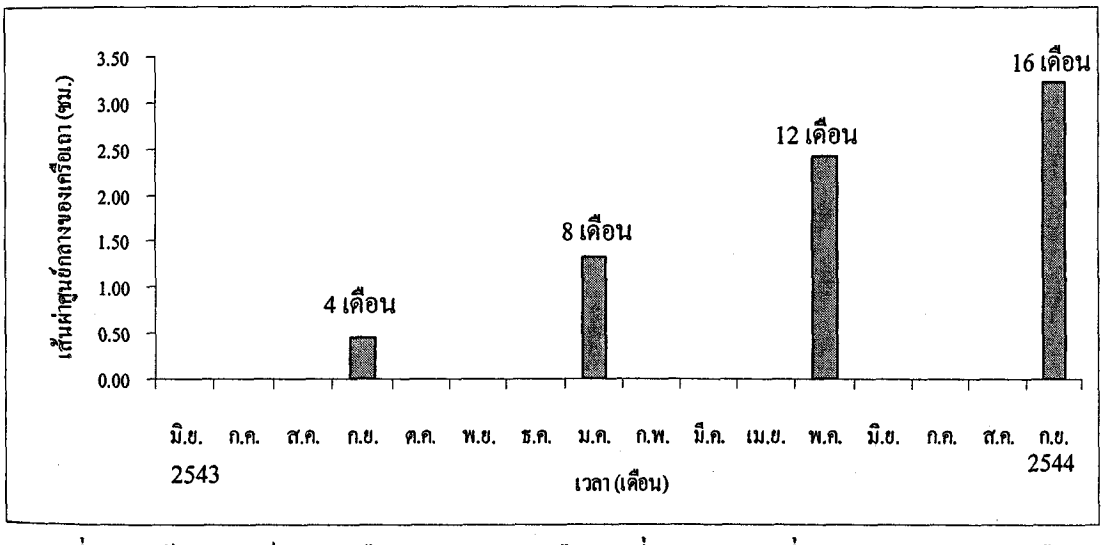
ภาพที่ 4.24 เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) ของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาว เมื่อให้สารสกัดกวาวเครือขาวทรีตเมนท์ต่างๆ ที่ได้จากการทดลองที่ 1 (T = SD)

4.4 การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาว

4.4.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของกวาวเครือขาวในแปลงทดลอง

1. จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเถาเครือ

เส้นผ่าศูนย์กลางของเครือเถาเฉลี่ยที่อายุ 4 เดือน มีค่าเฉลี่ย 0.45 ซม. และเพิ่มขึ้นเป็น 1.33, 2.43 และ 3.23 ซม. ที่อายุ 8, 12 และ 16 เดือน ตามลำดับ เครือเถาของกวาวเครือขาวมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วโดยการเลื้อยพันไปกับค้างซึ่งเป็นเสาไม้ความสูง 2 ม. นอกจากเครือเถาแรกที่งอกออกจากเมล็ดแล้วยังมีเครือเถาที่เกิดจากตาข้างอีกเป็นจำนวนมาก ทำให้กวาวเครือขาวมีทรงพุ่มที่แน่นทึบและเจริญเติบโตเลื้อยพันไปยังต้นข้างเคียงซึ่งมีระยะห่าง 2 ม. ทำให้ไม่สามารถวัดความยาวของเครือเถาได้ ดังนั้น ในการทดลองจึงทำการศึกษาการเจริญเติบโตของเถาเครือโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเครือเถาที่ระดับผิวดินที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน ได้ผลดังภาพที่ 4.25



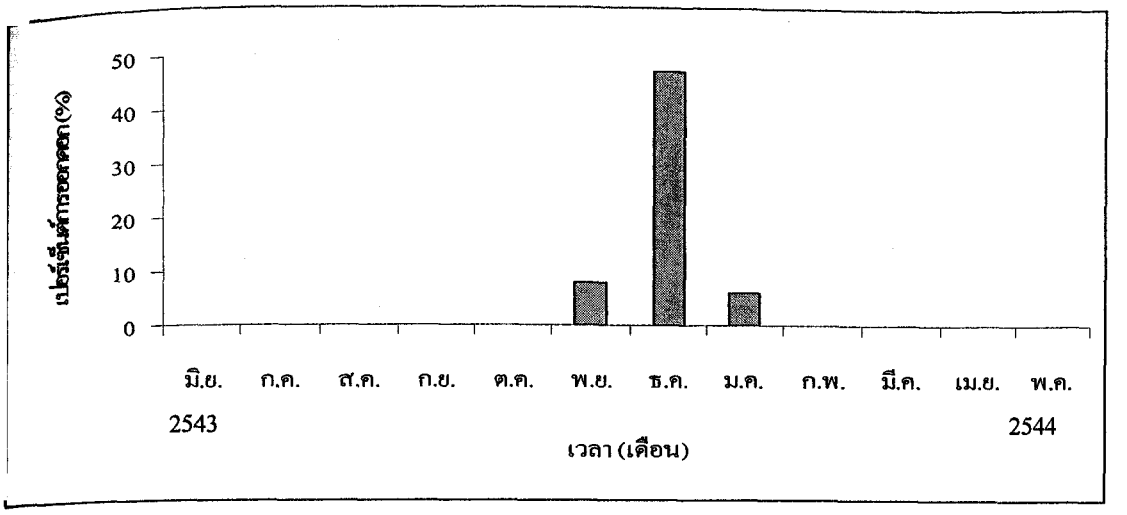
ภาพที่ 4.25 เส้นผ่าศูนย์กลางเครือเถาของกวาวเครือขาวที่ระดับผิวดินที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน

เส้นผ่าศูนย์กลางเครือเถาของกวาวเครือขาวมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 4-8 เดือน และในช่วง 9-16 เดือน จะมีอัตราการเพิ่มที่ต่ำกว่า เนื่องจากในระยะแรกของการเจริญเติบโตเครือเถาซึ่งมีอายุน้อยและเริ่มปลูกในช่วงต้นฤดูฝน การเจริญเติบโตของเครือเถาจึงรวดเร็ว เมื่อเครือเถาอายุมากขึ้นอัตราการเจริญเติบโตจึงช้าลง กวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองไม่มีการผลัดใบพร้อมกันทั้งต้น จะมีเพียงใบแก่ที่หมดอายุและหลุดร่วงไปตามกาลเวลาเท่านั้น จึงมีใบเขียวตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา ซึ่งแตกต่างจากกวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในธรรมชาติ จะมีการผลัดใบจนหมดต้น

ในช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนมกราคม วรรณลักษณ์ จันทร์เงิน และยุทธนา สมิตะสิริ (2530) พบว่าในธรรมชาติกวาวเครือขาวเป็นพืชที่มีการผลัดใบในช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนมกราคม ซึ่งเป็นช่วงที่แห้งแล้ง ปริมาณน้ำฝนและมีความชื้นในอากาศต่ำ กวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในแปลงทดลองนั้นมีการให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ ดินมีความชุ่มชื้นตลอดทั้งปี เครือเถาและใบมีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่องจึงไม่มีการผลัดใบ

2. การออกดอก การติดฝักและเมล็ด

กวาวเครือขาวออกดอกในระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2544 และมกราคม 2545 หรือ 6 เดือนนับจากวันเพาะเมล็ด จำนวนต้นที่ออกดอกคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การออกดอกในแต่ละเดือนมีค่าเท่ากับ 8, 47 และ 6 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.26) รวมจำนวนต้นที่ออกดอกทั้งหมด 61 % จำนวนช่อดอกเฉลี่ย/ต้น เท่ากับ 41.90 ช่อ และความยาวเฉลี่ยของช่อดอกเท่ากับ 36.80 ซม. จำนวนฝักเฉลี่ย/ช่อดอก เท่ากับ 23.40 ฝัก ความกว้างเฉลี่ยของฝักเท่ากับ 0.95 ซม. ความยาวเฉลี่ยของฝักเท่ากับ 6.52 ซม. และน้ำหนักเฉลี่ย 100 เมล็ด เท่ากับ 2.52 ก. (ตารางที่ 4.4) ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มออกดอกในเดือนพฤศจิกายนจนกระทั่งเมล็ดแก่ในเดือนมีนาคม ประมาณ 4 เดือน จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อทำการเปรียบเทียบกับการออกดอกของกวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในธรรมชาติที่ ยุทธนา สมิตะสิริ และชรินทร์ วังใจ (2529) รายงานว่ามีการออกดอกในเดือนกุมภาพันธ์ ช้ากว่ากวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในแปลงทดลองประมาณ 2.5 เดือน เมื่อเปรียบเทียบจากผลการทดลองของ ยุทธนา สมิตะสิริ และชรินทร์ วังใจ (2529) แสดงให้เห็นว่านอกจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมและความยาวของช่วงแสงจะมีผลต่อการออกดอกของกวาวเครือแล้ว ปัจจัยทางด้านการเกษตรกรรม ระยะปลูกที่เหมาะสมเพื่อลดการแข่งขันในเรื่องแสงแดดทำให้กวาวเครือเจริญเติบโตได้เต็มที่ การให้น้ำอย่างเพียงพอ การใส่ปุ๋ยเพื่อปรับปรุงบำรุงดิน และการกำจัดวัชพืชในระหว่างที่กวาวเครือเจริญเติบโต ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้จะทำให้ต้นกวาวเครือขาวมีความสมบูรณ์ทางสรีรวิทยาที่เหมาะสมต่อการออกดอก และพัฒนาไปเป็นฝักและเมล็ด สำหรับจำนวนช่อดอก/ต้น ความยาวของช่อดอก จำนวนฝัก/ช่อดอก จำนวนเมล็ด/ฝัก และน้ำหนักแห้ง 100 เมล็ด กวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองจะมีค่าต่างๆ เหล่านี้สูงกว่ากวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในธรรมชาติ (ตารางที่ 4.4)



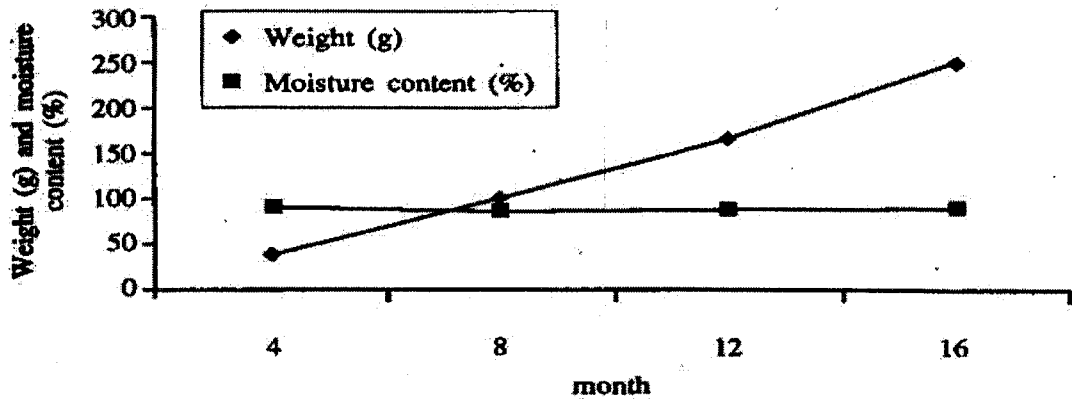
ภาพที่ 4.26 ช่วงเวลาและเปอร์เซ็นต์การออกดอกของกวาวเครือขาวในแต่ละเดือน

ตารางที่ 4.4 จำนวนช่อดอก/ต้น ความยาวของช่อดอก จำนวนฝัก/ช่อดอก ขนาดของฝัก จำนวนเมล็ด/ฝัก และน้ำหนักแห้ง 100 เมล็ด กวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองฟาร์มมหาวิทยาลัย

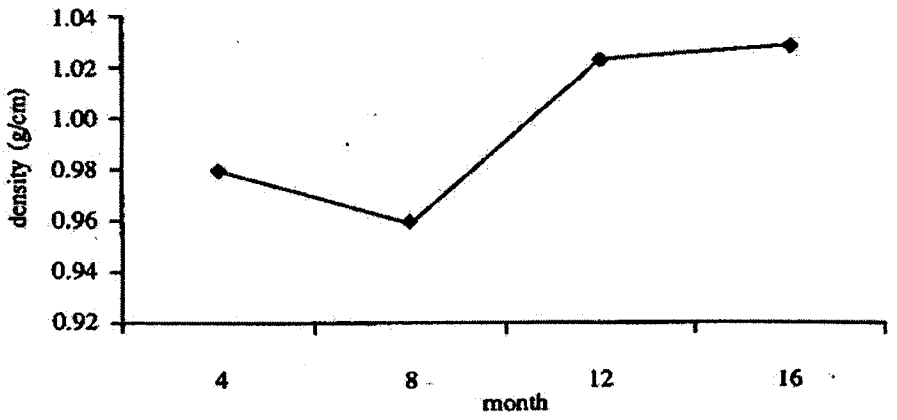
Plant No.	No. of inflorescence per plant	inflorescence length (cm)	No. of pod per inflorescence	Pod size		No. of seed per pod	Weight of 100 seeds (gm)
				Width (cm)	Length (cm)		
1	47.00	36.90	27.80	0.89	6.7	4.6	2.38
2	42.00	37.80	21.40	0.94	6.41	4.93	2.41
3	51.00	39.00	24.90	0.93	6.12	4.5	2.57
4	39.00	34.40	22.90	0.94	6.7	4.13	2.19
5	45.00	32.20	23.70	0.96	7.08	4.75	2.48
6	35.00	39.00	21.90	1.08	5.46	4	2.53
7	37.00	39.60	25.60	0.84	6.91	4.4	2.69
8	35.00	34.50	26.40	0.88	6.88	4.67	2.55
9	40.00	40.20	20.20	1.03	6.12	5.4	2.5
10	48.00	34.50	19.50	1.03	6.86	4.5	2.86
mean	41.90	36.80	23.40	0.95	6.52	4.59	2.52
Sd	±5.65	±2.74	±2.74	±0.08	±0.50	0.40	0.18

3. ระยะเวลาและการเจริญเติบโตของหัวกวาวเครือขาว

การเจริญเติบโตของหัวกวาวเครือขาวมีการเปลี่ยนแปลง ดังนี้ น้ำหนักหัวเฉลี่ยที่อายุ 4 เดือน เท่ากับ 38.59 ก. และเพิ่มขึ้นเป็น 99.13, 166.85 และ 249.88 ก. เมื่อต้นกวาวเครืออายุ 8, 12 และ 16 เดือนตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าอัตราการเพิ่มน้ำหนักเป็นไปอย่างสม่ำเสมอ เปอร์เซ็นต์ความชื้นเฉลี่ยของหัวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน เท่ากับ 90.29, 87.56, 89.23 และ 90.69 % ตามลำดับ ความหนาแน่นเฉลี่ยของหัวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน เท่ากับ 0.98, 0.96, 1.02 และ 1.03 ก./ลบ.ซม. ดังนั้น เมื่อกวาวเครือขาวอายุมากขึ้นจะมีการสะสมมวลสารต่างๆ มากขึ้น ทำให้มีความหนาแน่นสูงขึ้น (ภาพที่ 4.27 และ 4.28)



ภาพที่ 4.27 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและน้ำหนักเฉลี่ยของหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน

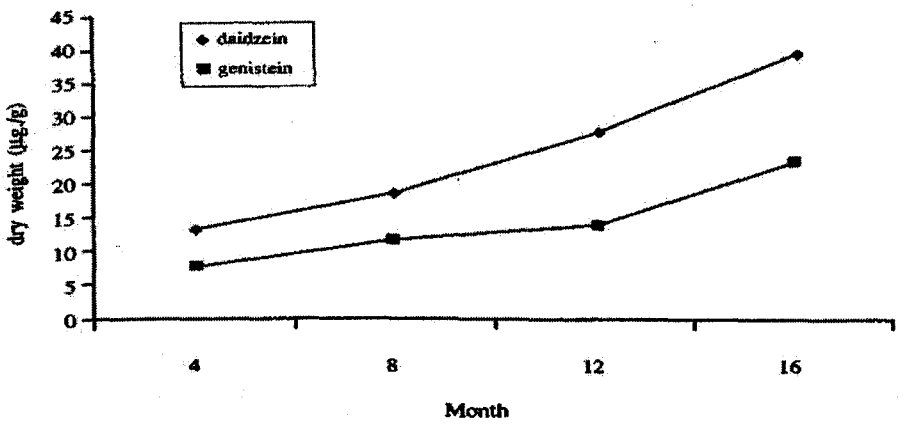


ภาพที่ 4.28 ความหนาแน่นเฉลี่ยของหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน

4.2 การศึกษาหาปริมาณสาร daidzein และ genistein ในหัวกวาวเครือขาว

จากหัวกวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในธรรมชาติปริมาณสาร daidzein และ genistein ของกวาวเครือขาวในธรรมชาติที่ระยะต่างๆ ของการเจริญและพัฒนา พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณสาร daidzein ในระยะออกดอกให้ค่าเฉลี่ยสูงสุด 88.47 ไมโครกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง ในระยะผลัดใบ ระยะใบแก่และระยะแตกใบอ่อนพบปริมาณสาร daidzein อยู่ในระดับต่ำรองลงมามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 75.26, 65.75 และ 59.07 ไมโครกรัม/กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ ปริมาณสาร genistein แสดงลักษณะเดียวกันกับปริมาณสาร daidzein แต่พบปริมาณที่ต่ำกว่าคือปริมาณสาร genistein ในระยะออกดอกให้ค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 38.06 ไมโครกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง สำหรับในระยะผลัดใบ ระยะใบแก่และระยะแตกใบอ่อนปริมาณสาร genistein พบในระดับต่ำรองลงมาคือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 33.48, 27.23 และ 22.89 ไมโครกรัม/กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ

จากแปลงปลูกการสะสมสาร daidzein และ genistein ในหัวกวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยการเก็บตัวอย่างหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน พบว่าปริมาณสาร daidzein ในหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4 เดือนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 13.27 มคก./ ก. น้ำหนักแห้ง และเพิ่มขึ้นเป็น 18.96, 28.38 และ 40.37 มคก./ ก. น้ำหนักแห้ง เมื่อหัวกวาวเครือขาวมีอายุ 8, 12 และ 16 เดือนตามลำดับ สำหรับปริมาณสาร genistein ในหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4 เดือนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.81 มคก./ ก. น้ำหนักแห้ง และเพิ่มขึ้นเป็น 12.04, 14.57 และ 24.48 มคก./ ก. น้ำหนักแห้ง (ภาพที่ 4.29) เมื่อหัวกวาวเครือขาวมีอายุ 8, 12 และ 16 เดือนตามลำดับ โดยมีอัตราการเพิ่มเฉลี่ยต่อเดือนของสาร daidzein และgenistein เท่ากับ 6.31 และ 3.68 มคก./ ก. น้ำหนักแห้งตามลำดับ การสะสมสาร daidzein และ genistein เกิดขึ้นตั้งแต่ก่อนอายุ 4 เดือน จากนั้นปริมาณสารจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อต้นกวาวเครือขาวอายุมากขึ้น ในระยะ 16 เดือนแรกจะมีการเพิ่มเป็นสัดส่วนโดยตรงกับเวลาที่ใช้ปลูก จากลักษณะการเพิ่มขึ้นของปริมาณสาร daidzein และ genistein จะเห็นว่าเมื่อกวาวเครือขาวเจริญเติบโตมากขึ้น เครือเถาและหัวมีขนาดเพิ่มขึ้น การสะสมสาร daidzein และ genistein จะเพิ่มสูงขึ้นด้วย



ภาพที่ 4.29 การสะสมสารเคมีของหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน

เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณสาร daidzein และ genistein ในทุกๆ อายุทำให้พบว่าปริมาณการสะสมสาร daidzein มีค่าเฉลี่ยสูงกว่าสาร genistein ทั้งนี้ อาจอธิบายได้โดยอ้างถึงวิถีของกระบวนการ biosynthetic pathway ทั้งนี้ เพราะ 5, 7, 4'-trithydroxyflavanone (naringenin) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในการสังเคราะห์สาร genistein นั้น สามารถถูกนำไปใช้เป็นสับสเตรทในการสังเคราะห์สารอื่น ๆ อีก 2 ชนิด คือ dithydroxyflavonol โดยเอนไซม์ flavonol-3-hydroxylase และการสังเคราะห์สาร flavonol โดยเอนไซม์ flavonol synthase (Yu et. al., 2000) ดังนั้น จึงทำให้เกิดการแข่งขันกันระหว่างเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้กับเอนไซม์ isoflavonol synthase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยน 5, 7, 4'-trithydroxyflavanone ไปเป็น genistein แต่การสังเคราะห์สาร daidzein นั้นใช้ 7, 4'-dihydroxyflavanone (liquiritigenin) ซึ่งสับสเตรทชนิดนี้มีความจำเพาะต่อเอนไซม์ isoflavonol synthase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยน 7, 4'-dihydroxyflavanone ไปเป็นสาร daidzein เท่านั้นจึงไม่เกิดการแข่งขันกับเอนไซม์ชนิดอื่นจึงมีผลทำให้ปริมาณสาร daidzein สูงกว่า genistein

4.4.3 การขยายพันธุ์กวาวเครือขาวโดยการปักชำ

การปักชำกิ่งกวาวเครือขาวที่แช่ในใน NAA ระดับความเข้มข้น 0 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm และ 1,000 ppm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในวัสดุเพาะชำทั้ง 3 ชนิด คือ ดิน ทราย และขี้เถ้าแกลบ พบว่ากิ่งปักชำอายุ 15 วัน ที่ชำในดินไม่มีการเกิดรากที่อายุ 30 วัน NAA ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm กวาวเครือขาวเกิดรากความยาวเฉลี่ย 0.6 ซม. ที่อายุ 45 วัน กวาวเครือขาวเกิดรากในทุก ๆ ระดับความเข้มข้น โดยความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm และ 0 ppm มีความยาวรากเฉลี่ย 4.33, 2, 1.33, 1.33 และ 0.83 ซม. ตามลำดับ ที่อายุ 60 วัน ความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm, 500 ppm และ

1,000 ppm มีความยาวรากเฉลี่ย 2.6, 1.0 และ 1.0 ซม. ตามลำดับ พบกิ่งตายที่ระดับความเข้มข้น 750 ppm และ 0 ppm กิ่งปักชำอายุ 15 วัน ที่ชำในทรายไม่พบการเกิดราก ที่อายุ 30 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm รากมีความยาวเฉลี่ย 0.5 ซม. ที่อายุ 45 วัน พบการเกิดรากในทุกความเข้มข้น ความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1,000 ppm และ 0 ppm มีความยาวรากเฉลี่ย 3.3, 1.33, 1.0, 0.66 และ 0 ซม. ตามลำดับ ที่อายุ 60 วัน พบความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm, 750 ppm, และ 0 ppm มีความยาวรากเฉลี่ย 2, 0.33, 1.0, และ 0.16 ซม.ตามลำดับ พบกิ่งตายที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm และ 1,000 ppm ในขี้เถ้าแกลบ ที่อายุ 15 วันไม่พบการเกิดราก ที่อายุ 30 วันพบการเกิดรากที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm มีความยาวรากเฉลี่ย 0.5 ซม. ที่อายุ 45 วัน พบการเกิดรากในทุกความเข้มข้น ความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm, 750 ppm, 0 ppm, 1,000 ppm และ 500 ppm มีความยาวรากเฉลี่ย 1.33, 0.5, 0.33, 0.16 และ 0.06 ซม. ตามลำดับ ที่อายุ 60 วัน พบความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm, 500 ppm, และ 0 ppm มีความยาวรากเฉลี่ย 3.33, 0.33, 1.33, และ 0.16 ซม. ตามลำดับ พบกิ่งตายที่ความเข้มข้น 750 ppm และ 1,000 ppm

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าการใช้ NAA มีผลต่อการเจริญของรากกวาวเครือขาวอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วัสดุปลูกแต่ละชนิดมีผลต่อการเจริญของรากกวาวเครือขาวไม่แตกต่างกันในทางสถิติ เมื่อนำข้อมูลมาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของ NAA พบว่า NAA ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm มีผลต่อการเจริญของรากกวาวเครือขาวมากที่สุด รองลงมา คือ 500, 1,000, 750 ppm โดยมีความยาวรากเท่ากับ 1.143, 0.504, 0.341 และ 0.291 ซม.ตามลำดับ พบการเจริญของรากน้อยที่สุดของกิ่งชำที่ไม่แช่ NAA วัสดุปลูกทั้ง 3 ชนิด มีผลต่อการเจริญของรากกวาวเครือขาวไม่แตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นของ NAA 250 ppm มีผลต่อการเจริญของรากกวาวเครือมากที่สุดในทุกวัสดุชำ (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 แสดงความยาวรากของกวาวเครือขาวที่ความเข้มข้นของ NAA ระดับต่าง ๆ

ความเข้มข้นของ NAA (ppm)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
0	0.123 a[1/]
250	1.143 a
500	0.504 ab
750	0.291 b
1,000	0.341 b

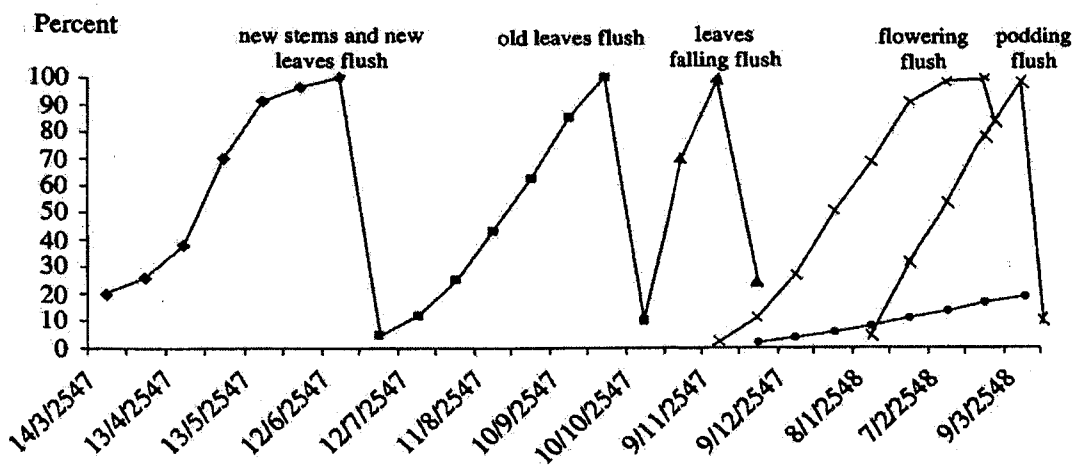
[1/] ในคอลัมน์เดียวกัน ค่าที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการวิเคราะห์แบบ DMRT

ทำการปลูกกิ่งปักชำจำนวน 3 ต้น ในวัสดุชำดิน ทรายและขี้เถ้าแกลบ พบว่ากิ่งชำตาย 1 ต้น เหลือจำนวน 2 ต้น ซึ่งปลูกในดิน 250 ppm และทราย 250 ppm อย่างละ 1 ต้น เกิดหัวทั้งหมด 4 หัว แบ่งเป็นหัวที่ 1 และ 2 จากกิ่งชำในดิน หัวที่ 3 และ 4 จากกิ่งชำในทราย ที่แช่ด้วย NAA ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางของหัว 96.7, 82.1, 75.1 และ 53.3 มม. และมีน้ำนักสด 498.12, 309.27, 189.50 และ 80.82 ก. ตามลำดับ

4.5 การศึกษาถึงปัจจัยสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการสะสม สารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง

4.5.1. พันธุ์และความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือแดง

กวาวเครือแดงจะมีการแตกเครือเถาและใบอ่อนเพียงชุดเดียว คือ เริ่มแตกเถาเครือและใบอ่อนปลายเดือนพฤศจิกายน เครือเถาและใบอ่อนแตกเต็มที่ 100 % ในต้นเดือนมิถุนายน ใบแก่เต็มที่ 100 % ปลายเดือนกันยายน หลังจากนั้นกวาวเครือแดงเริ่มผลัดใบต้นเดือนตุลาคม และผลัดใบอย่างรวดเร็ว ผลัดใบ 100 % กลางเดือนพฤศจิกายน เริ่มออกดอกต้นเดือนพฤศจิกายน ออกดอก 100 % ปลายเดือนกุมภาพันธ์ ดอกเริ่มบานปลายเดือนธันวาคม และเริ่มติดฝักในต้นเดือนมกราคม หลังจากนั้นฝักจะเริ่มเจริญและพัฒนาอย่างรวดเร็ว จนถึงระยะฝักแก่ 100 % ในกลางเดือนมีนาคม (ภาพที่ 4.30) ซึ่งลักษณะการเจริญและพัฒนาดังกล่าวใกล้เคียงกับกวาวเครือขาว



ภาพที่ 4.30 การเจริญและพัฒนาของกวาวเครือแดงในรอบปี

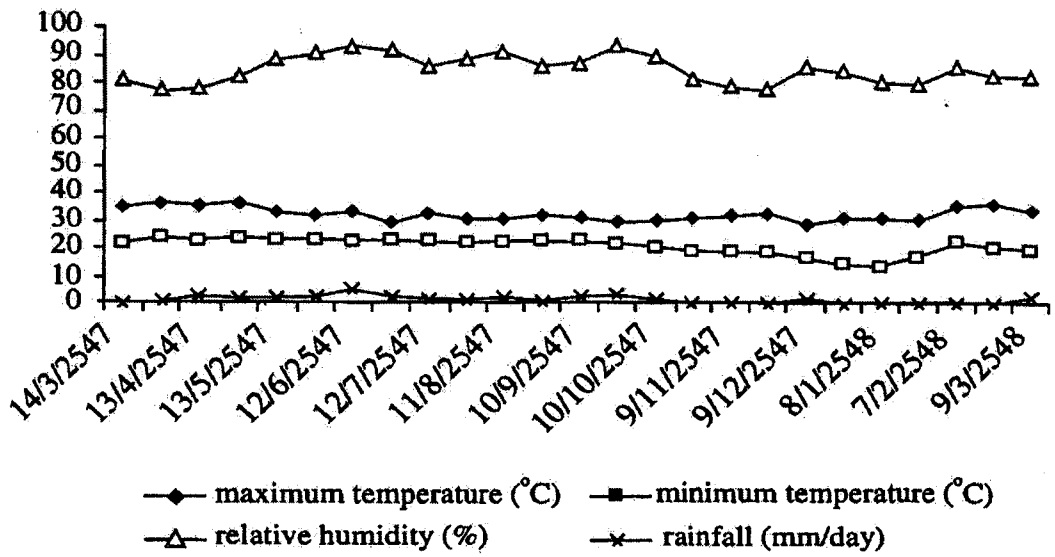
1. **การแตกเครือเถาและใบอ่อน**

อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝน ต่างมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การแตกเครือเถาและใบอ่อน โดยแสดงค่าดรรชนีสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.418*, 0.356* และ 0.517* ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) จากการวิเคราะห์ multiple linear regression

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

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

แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุด และปริมาณน้ำฝนมีอิทธิพลต่อการเจริญและพัฒนาของเครือเถาและใบอ่อนของกวาวเครือแดง 54 % และจากค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชชั่นของอุณหภูมิสูงสุด คือ b = 9.982** แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 °ซ จาก 32.93 °ซ (ภาพที่ 4.31) ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การเจริญและพัฒนาของเถาเครือและใบอ่อนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 9.982 % และค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชชั่นของปริมาณน้ำฝน คือ b = 12.521* แสดงว่าปริมาณน้ำฝนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 มม. จาก 0 มม. ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การเจริญและพัฒนาของเถาเครือและใบอ่อนเพิ่มขึ้นหรือลดลง 12.521 % อุณหภูมิสูงสุด 32.93 °ซ และปริมาณน้ำฝนประมาณ 0 มม. (ภาพที่ 4.31) ทำให้กวาวเครือแดงเริ่มแตกเครือเถาและใบอ่อน เช่นเดียวกับการศึกษาของ ชรินทร์ วังใจ และ ยุทธนา สมิตะสิริ (2530) ที่กล่าวว่าในสภาพแห้งแล้ง น้ำน้อย อุณหภูมิในกลางวัน 30-37 °ซ ลำต้นของกวาวเครือขาวจะยืดตัวอย่างรวดเร็ว



ภาพที่ 4.31 สภาพแวดล้อมของการทดลอง

2. ใบแก่

อุณหภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์ต่างมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การแก่ของใบ โดยแสดงค่าดรรชนีสหสัมพันธ์เท่ากับ -3.331* และ 0.416* ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) จากการวิเคราะห์ multiple linear regression

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

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

แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุด ความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝนโดยรวมมีความสัมพันธ์กับการแก่ของใบกวาวเครือแดง

ตารางที่ 4.6 ดรรชนีสหสัมพันธ์ของสภาพภูมิอากาศกับระยะการเจริญและพัฒนาในรอบปี

สภาพภูมิอากาศ (เฉลี่ยทุก 15 วัน)	% การแตกเครือเถาและใบอ่อน	% ใบแก่	% ผลัดใบ	% ออกดอก	% ติดฝัก
อุณหภูมิสูงสุด (ซ°)	0.418*	-0.331*	0.774^{ns}	0.177^{ns}	0.390*
อุณหภูมิต่ำสุด (ซ°)	0.356*	0.290^{ns}	-0.878*	-0.481**	-0.070^{ns}
ความชื้นสัมพัทธ์ (ซ°)	0.166^{ns}	0.416*	-0.936**	-0.244^{ns}	-0.174^{ns}
ปริมาณน้ำฝน (ซ°)	0.517**	0.320^{ns}	-0.914*	-0.490**	-0.163^{ns}
r^2	0.54*	0.325^{ns}	099*	0.534**	0.278*

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 5 %

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ 1 %

3. การผลัดใบ

อุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน ต่างมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์ใบ โดยแสดงค่าดรรชนีสหสัมพันธ์เท่ากับ -0.936* และ -0.914* ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) จากการวิเคราะห์ multiple linear regression

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

$r^2 = 0.99^{*}$

แสดงถึงอุณหภูมิต่ำสุด และความชื้นสัมพัทธ์ มีอิทธพลต่อการผลัดใบของกวาวเครือ 99 % จากค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชั่นของอุณหภูมิต่ำสุด คือ b = -22.409* แสดงว่าอุณหภูมิต่ำสุดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 °ซ จาก 20.62 °ซ (ภาพที่ 4.31) ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบเพิ่มขึ้นหรือลดลง 22.409 % และค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชั่นของความชื้นสัมพัทธ์ คือ b = -5.494* แสดงว่าความชื้นสัมพัทธ์ลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 % จาก 89.87 % (ภาพที่ 4.31) ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบเพิ่มขึ้นหรือลดลง 5.494 % อุณหภูมิต่ำสุดประมาณ 20.62 °ซ และความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 89.87 % กวาวเครือแดงเริ่มผลัดใบ (ภาพที่ 4.31) สอดคล้องกับการผลัดใบของกวาวเครือขาว Satoh (1982) กล่าวว่าการชราภาพและการหลุดร่วงของใบในต้นไม้ผลัดใบเป็นกลไกที่หลีกเลี่ยงสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปรไปอย่างรุนแรง เช่น สภาพอากาศหนาว แสงไม่เหมาะสม และ Gates (1955) รายงานว่าการขาดน้ำระยะสั้น ๆ สามารถเร่งการชราภาพของใบได้

4. การออกดอก และพัฒนาการของดอก

อุณหภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝน ต่างมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การออกดอกและพัฒนาการของดอกกวาวเครือแดง โดยแสดงค่าดรรชนีสหสัมพันธ์เท่ากับ -0.481* และ -0.490* ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) จากการวิเคราะห์ multiple linear regression

$Y = -445.954 + (-8.948^{**} \text{ min.temp}) + 10.360^{*} \text{ max. temp} + (-8.973^{ns} \text{ rainfall}) + (3.838^{*} \text{ rh})$

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

แสดงถึงอุณหภูมิต่ำสุด อุณหภูมิสูงสุด และความชื้นสัมพัทธ์ มีอิทธิพลต่อการออกดอกของกวาวเครือแดง ซึ่งมีความเป็นไปได้ถึง 53.4 % จากค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชั่นของอุณหภูมิต่ำสุด คือ b = -8.948** แสดงว่าอุณหภูมิต่ำสุดลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 °ซ จาก 19.02 °ซ (ภาพที่ 4.31) ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.948 % และค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชั่นของ

หภูมิสูงสุด คือ b = 10.362* แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุดลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 °ซ จาก 39.91 °ซ (ภาพ 4.31) ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 10.362* % และค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชั่นของความชื้นสัมพัทธ์ คือ b = 3.838* แสดงว่าความชื้นสัมพัทธ์ลดลงหรือเพิ่มขึ้น 1 % จาก 79.13 % (ภาพที่ 4.31) ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มขึ้นหรือลดลง 3.838 % ความชื้นสัมพัทธ์ 79.13 % อุณหภูมิต่ำสุด 19.02 °ซ อุณหภูมิสูงสุด 31.91 °ซ (ภาพที่ 4.31) จะทำให้กวาวเครือแดงออกดอก อุณหภูมิต่ำสุดมีผลต่อการชักนำให้เกิดตาดอกเช่นในมังคุด (Manakasem, 1995) เงาะ (Manakasem, 1995) และถ้าปริมาณน้ำฝนมากขึ้นจะทำให้การเกิดตาดอกและพัฒนาการของดอกลดลงเช่นเดียวกับเกิดในมังคุดและเงาะ Nobel (1988) กล่าวว่าอุณหภูมิสูงสุดที่เพิ่มขึ้นก็จะเร่งให้พืชแก่และชราภาพเร็วขึ้น

5. การติดฝัก

อุณหภูมิสูงสุด มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของฝักกวาวเครือแดง โดยแสดงค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.390* (ตารางที่ 4.6) จากการวิเคราะห์ multiple linear regression

$$Y = -358.772 + 8.317^{*}\ \text{max.temp} + 3.137^{ns}\ \text{min. temp} + 2.200^{ns}\ \text{rh} + (-2.361^{ns}\ \text{rainfall})$$
$$r^2 = 0.278^{*}$$

แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุด มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของฝักกวาวเครือแดง 27.8 % และได้ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชั่นของอุณหภูมิสูงสุด คือ b = 8.317* แสดงว่าเมื่ออุณหภูมิสูงสุดเพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 °ซ จาก 30.94 °ซ (ภาพที่ 2) ทำให้เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของฝักเพิ่มขึ้นหรือลดลงเพิ่มขึ้นหรือลดลง 8.317 % และอุณหภูมิสูงสุด 30.94 °ซ (ภาพที่ 4.31) จะทำให้กวาวเครือแดงเริ่มติดฝักและเจริญเติบโต Nobel (1988) กล่าวว่าอุณหภูมิสูงสุดที่เพิ่มขึ้นก็จะเร่งให้พืชแก่และชราภาพเร็วขึ้น ส่วนอุณหภูมิที่ต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์ และถ้าปริมาณน้ำฝนไม่มีอิทธิพลต่อการติดฝักของกวาวเครือแดง อิทธิพลเหล่านี้จะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและใบมากกว่าการเจริญเติบโตของฝัก

6. พันธุ์ การจำแนกต้นกวาวเครือแดงด้วยเทคนิค randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)

พบว่าสามารถตรวจจับตำแหน่งดีเอ็นเอของกวาวเครือแดงได้ 693 ตำแหน่ง เป็นตำแหน่งที่คงที่ในทุกต้น (monomorphic) จำนวน 276 ตำแหน่ง คิดเป็น 39.8 % ของตำแหน่งทั้งหมด และเป็นตำแหน่งที่มีความแตกต่างของต้น (polymorphic) จำนวน 417 ตำแหน่ง คิดเป็นร้อยละ 60.2 % ของตำแหน่งทั้งหมด จากการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยการสร้าง dendrogram พบว่าตัวอย่างมีความใกล้ชิดกัน 97-75 % สามารถแบ่งได้เป็น 5 กลุ่มใหญ่ ที่ระดับความใกล้ชิดประมาณ 85 % ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มี 5 ต้น ประกอบด้วยต้นจากจังหวัดกาฬสินธุ์ คือ K1 K2 K3 K4 และ K5 เป็นกลุ่มที่มีระดับความใกล้ชิดกันระดับที่ 87-91 % โดยเฉพาะ ต้น K4 และ K5 มีระดับความใกล้ชิดกันมากที่สุดที่ระดับ 91 % และต้น K1 มีความแตกต่างจากต้นอื่น ๆ มากที่สุด

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

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

กลุ่มที่ 4 มี 5 ต้น ประกอบด้วยต้นจากจังหวัดนครราชสีมา คือ N6 N7 N8 N9 และ N10 ต้นที่มีระดับความใกล้ชิดกันมากที่สุด คือ ต้นที่ N7 และ N8 ที่ระดับ 95 %

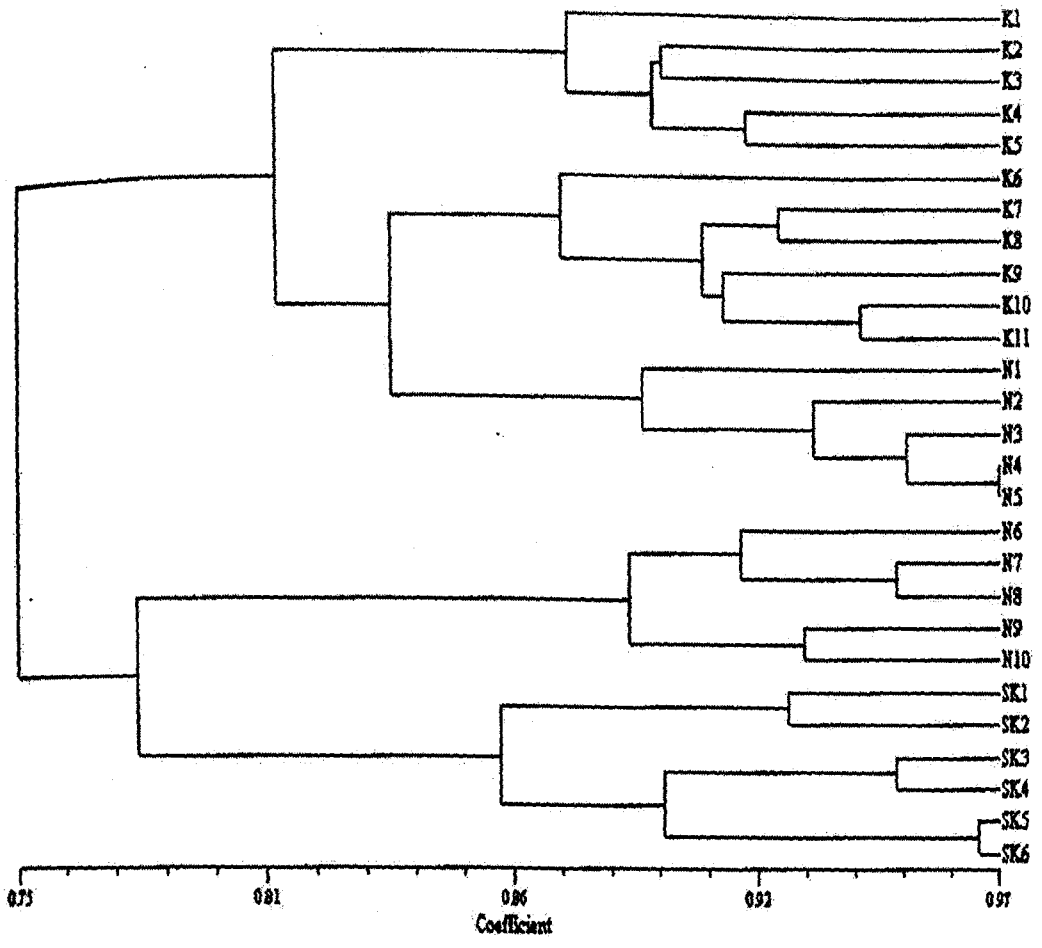
กลุ่มที่ 5 มี 6 ต้น ประกอบด้วยต้นจากจังหวัดสกลนคร คือ SK1 SK2 SK3 SK4 SK5 และ SK6 ต้นในกลุ่มนี้มีความใกล้ชิดกันระดับที่ 96-85 % แต่ต้น SK6 และ SK6 มีระดับความใกล้ชิดกันมากที่สุดที่ระดับ 96 %

จากการที่แบ่งกวาวเครือแดงออกเป็น 5 กลุ่ม ซึ่งสัมพันธ์กับแหล่งที่กวาวเครือแดงเจริญเติบโตหรือลักษณะภูมิประเทศ เป็นไปได้ว่าในบริเวณเดียวกันหรือแหล่งเดียว กวาวเครือแดงเหล่านั้นผสมพันธุ์จากต้นพ่อต้นและแม่ที่มีความสัมพันธ์กัน และพัฒนาเป็นต้น พร้อมทั้งสภาพแวดล้อมได้ช่วยคัดเลือกต้นที่แข็งแรงไว้ ลักษณะทางพันธุกรรมจึงออกมาใกล้เคียงกันในแต่ละกลุ่มย่อย

การจัดกลุ่มกวาวเครือแดงโดยใช้ลักษณะทางพฤกษศาสตร์จำนวน 9 ลักษณะ ได้แก่ รูปร่างใบ ฐานใบ ปลายใบ สีก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝัก และเมล็ด พบว่าต้นที่มีลักษณะเหมือนกัน 100 % จำนวน 2 ต้น มี 4 คู่ คือ คู่ที่ 1 คือ K2 และ K3 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐาน

ใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ obtuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนสีเขียวและเมื่อแก่มีสีน้ำตาล และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม คู่ที่ 2 คือ K4 และ K5 มีรูปร่างใบแบบ obovate ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ obtuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนสีเขียวและเมื่อแก่มีสีน้ำตาล และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม คู่ที่ 3 คือ N2 และ N8 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบเฉพาะส่วนยอดอ่อนเท่านั้น รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนสีเขียวและเมื่อแก่มีสีน้ำตาล และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม คู่ที่ 4 คือ SK5 และ SK6 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบส่วนที่ติดกับใบมีสีน้ำตาลอมม่วง เกิดเฉพาะใบที่เจริญเติบโตหลังใบเพสลาดไปแล้ว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนสีเขียวและเมื่อแก่มีสีน้ำตาล และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม

ต้นกวาวเครือแดงที่มีลักษณะเหมือนกัน 100 % มีมากกว่า 2 ต้น แบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มี 8 ต้น ได้แก่ K1 K6 K7 K8 K9 K10 K11 และ N9 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ obtuse ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนสีเขียวและเมื่อแก่มีสีน้ำตาล และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม กลุ่มที่ 2 มี 6 ต้น ได้แก่ N1 N3 N4 N5 N6 และ N7 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ obtuse ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนสีเขียวและเมื่อแก่มีสีน้ำตาล และเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม และกลุ่มที่ 3 มี 5 ต้น ได้แก่ N10 SK1 SK2 SK3 และ SK4 มีรูปร่างใบแบบ orbicular ฐานใบแบบ acute ปลายใบแบบ acuminate ก้านใบสีเขียว มีขนบนใบแบบกำมะหยี่ รากชนิดรากสะสมอาหาร ดอกสีส้ม ฝักอ่อนสีเขียวและเมื่อแก่มีสีน้ำตาล เมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะทางพฤกษศาสตร์มีความสัมพันธ์กับลักษณะของดีเอ็นเอจำนวน 7 คู่ การศึกษาระดับดีเอ็นเอ และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ในกวาวเครือแดงสอดคล้องกับการศึกษาในกวาวเครือขาว (Ditchaiwong et al., 2005)



ภาพที่ 4.32 การจำแนกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกวาวเครือแดงโดยใช้ dendrogram

ผลจาก dendrogram (ภาพที่ 4.32) พบว่าตำแหน่งดีเอ็นเอที่แสดงถึงความแตกต่างของต้นกวาวเครือแดงที่ระดับความใกล้ของดีเอ็นเอ 85 % แบ่งได้ 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มี 5 ต้น ได้แก่ K1 K2 K3 K4 และ K5 กลุ่มที่ 2 มี 6 ต้น ได้แก่ K6 K7 K8 K9 K10 และ K11 กลุ่มที่ 3 มี 5 ต้น ได้แก่ N1 N2 N3 N4 และ N5 กลุ่มที่ 4 มี 5 ต้น ได้แก่ N6 N7 N8 N9 และ N10 และกลุ่มที่ 5 มี 6 ต้น ได้แก่ SK1 SK2 SK3 SK4 SK5 และ SK6 จัดว่ากวาวเครือแดงมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง หรือมีความหลากหลายทางพันธุกรรมเช่นเดียวกันกับกวาวเครือขาว (Ditchaiwong et al., 2005) ความหลากหลายทางพันธุกรรมของกวาวเครือแดงมีความสัมพันธ์กับแหล่งกำเนิดของต้นกวาวเครือแดงที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ

4.5.2. อิทธิพลของการเขตกรรมบางประการและสภาพแวดล้อมต่อการเจริญเติบโต และการสะสม สารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง

ระดับการให้น้ำทำให้การเจริญเติบโตที่อายุ 12 และ 14 เดือน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การให้น้ำทุก 3 วัน และ 7 วัน ไม่แตกต่างกัน ยกเว้น จำนวนใบ/ต้น (ตารางที่ 4.7) และ ความยาวราก/ต้น มีการเจริญเติบโตดีที่สุดที่การให้น้ำทุก 3 วัน (ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.7 จำนวนใบ/ต้น ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับการให้น้ำ (หน่วย : ใบ) [1]

ระดับการให้น้ำ	6 เดือน	8 เดือน	10 เดือน	12 เดือน	14 เดือน
ไม่ให้น้ำ	3.47 a	3.92 a	3.92 a	8.08 a	8.34 a
7 วัน / ครั้ง	3.16 a	4.45 ab	3.53 a	13.04 ab	13.04 ab
3 วัน / ครั้ง	3.15 a	4.61 a	3.37 a	15.98 b	17.72 b

[1] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี duncan's new multiple rang test (DMRT) โดยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 4.8 ความยาวราก/ต้น ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับการให้น้ำ (หน่วย : ซม.) [1]

ระดับการให้น้ำ	6 เดือน	8 เดือน	10 เดือน	12 เดือน	14 เดือน
ไม่ให้น้ำ	20.8 a	34.83 a	43.67 a	58.25 ab	78.92 c
7 วัน / ครั้ง	18.50 a	33.00 a	48.08 a	63.33 b	91.50 b
3 วัน / ครั้ง	22.25 a	29.74 a	45.50 a	66.50 a	104.08 a

[1] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี duncan's new multiple rang test (DMRT) โดยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ผลของทรีตเมนต์ต่อการสะสมสาร stigmasterol ในแปลงทดลองกวาวเครือแดงอายุ 12 เดือน และ 14 เดือน ที่ให้น้ำทุก 3 วัน และทุก 7 วัน มี stigmasterol ประมาณ 500-1000 ppm ดังแสดงในตารางที่ (ตารางที่ 4.9)

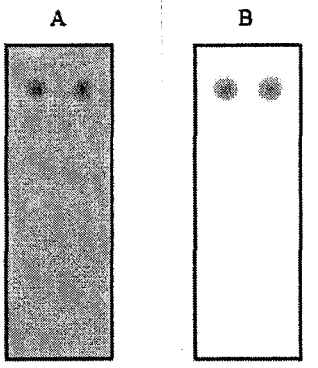
ตารางที่ 4.9 การประเมินปริมาณสาร stigmasterol ของกวาวเครือแดงจากแปลงปลูกที่อายุต่างๆ

ให้น้ำ	ระยะปลูก	แสง	ช่วงของความเข้มข้นของ stigmasterol (ppm)				
			6 เดือน	8 เดือน	10 เดือน	12 เดือน	14 เดือน
ไม่ให้น้ำ	1.5 x1.5	ไม่พราง	0-100	100-250	100-250	100-250	100-250
		พราง	0-100	100-250	100-250	100-250	100-250
	3 x 3	ไม่พราง	0-100	100-250	100-250	100-250	100-250
		พราง	0-100	100-250	100-250	100-250	100-250
ให้น้ำทุก 7 วัน	1.5 x1.5	ไม่พราง	0-100	100-250	250-500	500-750	750-1000
		พราง	0-100	100-250	250-500	500-750	750-1000
	3 x 3	ไม่พราง	0-100	100-250	250-500	500-750	750-1000
		พราง	0-100	100-250	250-500	500-750	750-1000
ให้น้ำทุก 3 วัน	1.5 x1.5	ไม่พราง	0-100	100-250	250-500	500-750	750-1000
		พราง	0-100	100-250	250-500	500-750	750-1000
	3 x 3	ไม่พราง	0-100	100-250	250-500	500-750	750-1000
		พราง	0-100	100-250	250-500	500-750	750-1000

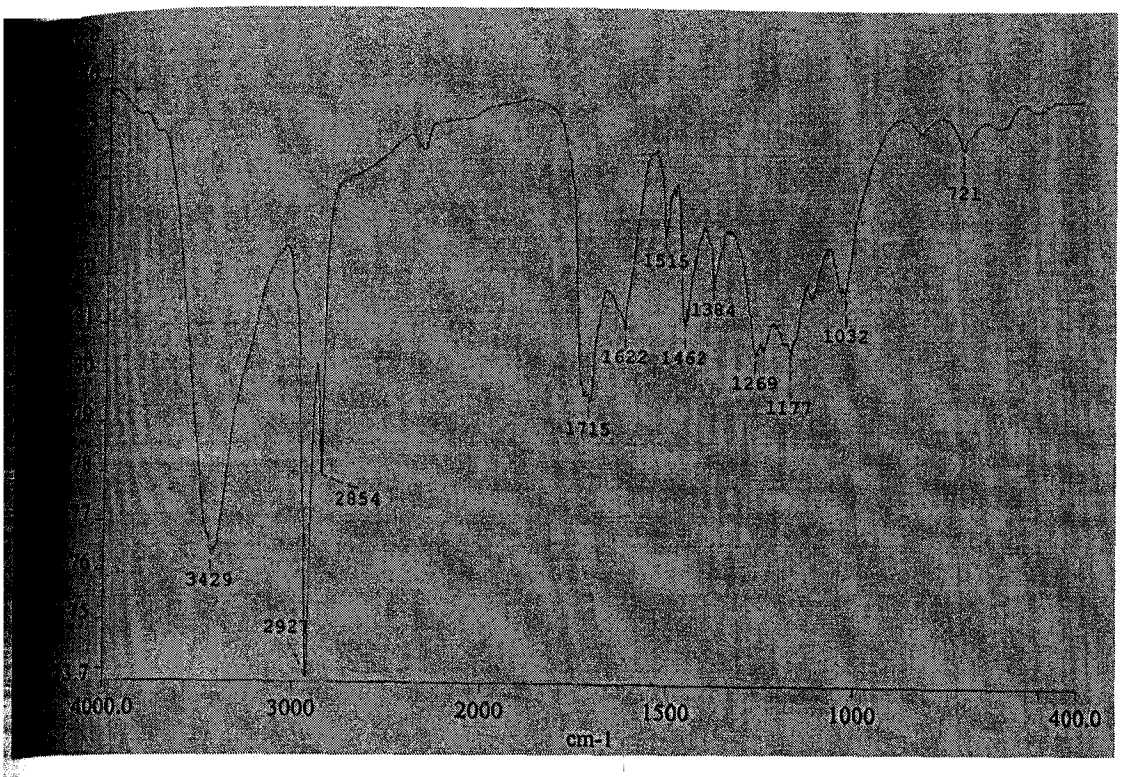
ขณะที่ผลของทรีตเมนต์ต่อการสะสมสาร 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone ในแปลงทดลองที่ตรวจสอบจนถึงอายุ 14 เดือนนั้น ไม่การสะสมสาร 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone

อาศัยการตรวจสอบสาร 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone จากการชะคอลัมน์ด้วย 5% เมทานอลในคลอโรฟอร์ม พบว่า ทุก fraction มีองค์ประกอบเหมือนกัน ซึ่งจากการวิเคราะห์โดย TLC เมื่อใช้ 20% เมทานอลในคลอโรฟอร์ม เป็นสารละลายในเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) พบว่า ได้สารที่มีค่า retention mobility (R_f) เท่ากับ 0.70 และ 0.73 รวมอยู่ใน fraction เดียวกัน เพื่อให้สารที่มีค่า R_f ทั้งสอง แยกจากกันได้ห่างขึ้น จึงลดลดสภาพความมีขั้วของ mobile phase ที่ใช้ทำ TLC จาก 20% เมทานอลในคลอโรฟอร์ม เป็น 10 % เมทานอลในคลอโรฟอร์ม พบว่า สามารถแยกสารทั้งสองออกจากกันได้ดีขึ้น คือ ได้ค่า R_f เป็น 0.76 และ 0.8 ตามลำดับ เพื่อให้ได้สารมากพอสำหรับการศึกษาโครงสร้างโดยวิธีอินฟราเรดเสปกโตรสโคปี จึงนำสารที่ชะจากคอลัมน์ด้วย 5% เมทานอลในคลอโรฟอร์ม มาผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจล อีกครั้งหนึ่ง แต่ชะด้วย 3% เมทานอลในคลอโรฟอร์ม พบว่า สามารถแยกสารได้เป็น 3 ส่วนใหญ่ๆ คือ สารที่ออกมาก่อนเป็นสารที่เมื่อวิเคราะห์ด้วย TLC โดยใช้ 20 % เมทานอลในคลอโรฟอร์มเป็น mobile phase แล้วได้ค่า R_f เป็น 0.73 (สาร B) เท่านั้น

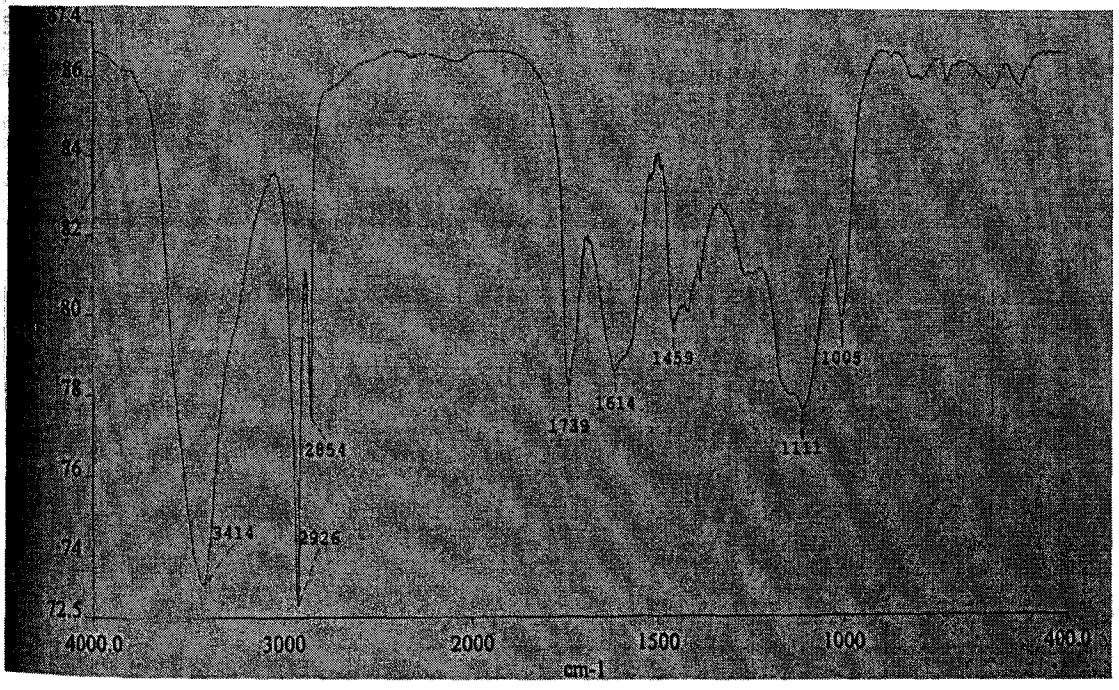
ภาพที่ 4.33) ส่วนที่ 2 เป็นสารผสมที่มีค่า R_f เป็น 0.7 (สาร A) และ 0.73 (สาร B) ส่วนที่ออกมาหลังสุดเป็นสารที่มีค่า R_f เป็น เป็น 0.7 (สาร A) เพียงสารเดียว (ภาพที่ 4.33) จากค่า R_f ที่ออกมาหลังสุดนี้ อาจเป็นสาร 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxy flavone ที่มี R_f เป็น 0.69 (ธนาธิป รักษ์ศิลป์, 2537) เมื่อนำสารทั้ง 2 fraction ดังกล่าว มาหาอินฟราเรดสเปกตรัม ได้สเปกตรัมของสาร A และ สาร B ดังแสดงในภาพที่ 4.34 และ 4.35 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 3,7,3'-Trihydroxy-4'-Methoxyflavone (ภาพที่ 4.36) พบว่ามีความแตกต่างกัน เช่น peak ตรงตำแหน่ง 1650 ซม.$^{-1}$ ของสาร3,7,3'-Trihydroxy-4'-Methoxyflavone ไม่ปรากฏในสเปกตรัมของสาร A และ สาร B [peak ดังกล่าวเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่คาร์บอนิลของสารประกอบประเภท conjugated ketone (ธนาธิป รักษ์ศิลป์, 2537)] ขณะที่พบการดูดกลืนแสงที่ 1715 ซม$^{-1}$ และ 1739 ซม$^{-1}$ ในสาร A และ B ตามลำดับ [ซึ่ง peak ดังกล่าว เป็นลักษณะเฉพาะของหมู่คาร์บอนิลของสารประกอบประเภท ketone



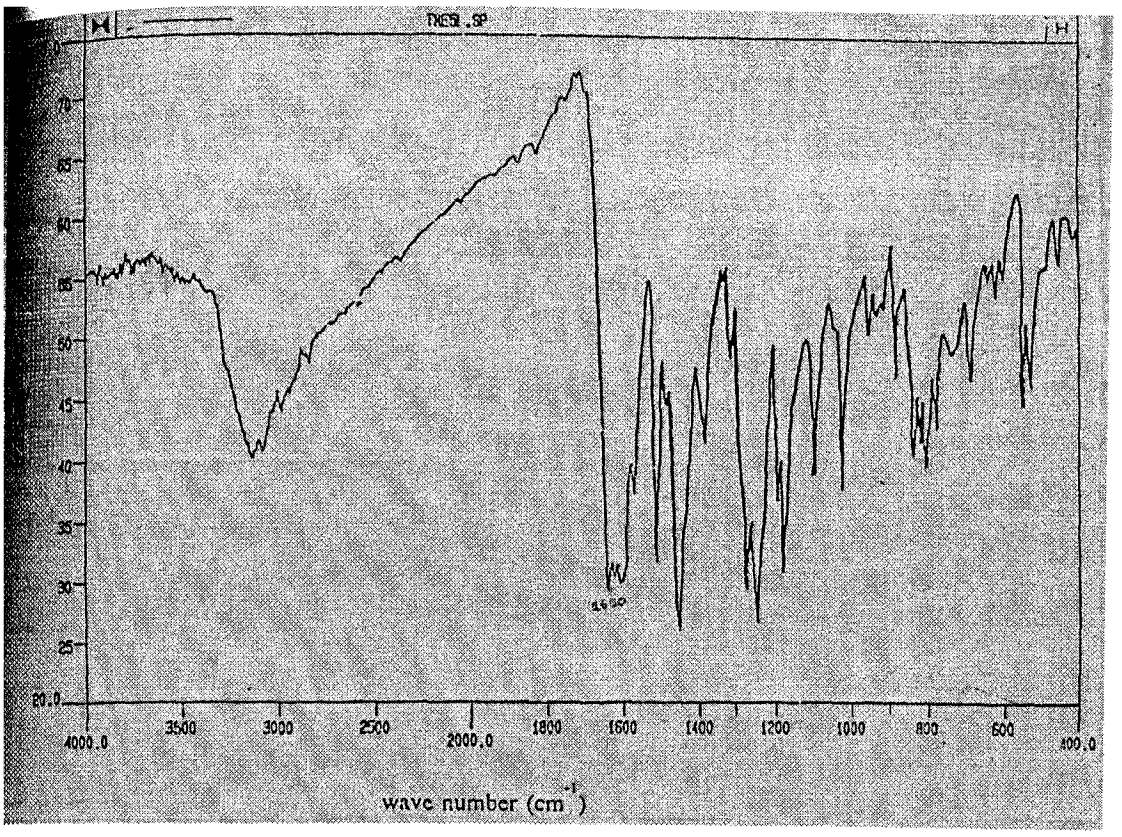
ภาพที่ 4.33 โครมาโตแกรมของสาร A และ B จากรากที่เก็บจากแปลงทดลอง



ภาพที่ 4.34 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร A



ภาพที่ 4.35 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร B



ภาพที่ 4.36 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone (ธนาธิป รักษ์ศิลป์, 2537)

4.5.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสาร phytosterol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง และผลของสารนี้ต่อการทำงานของมดลูกหนูขาวเพศเมีย

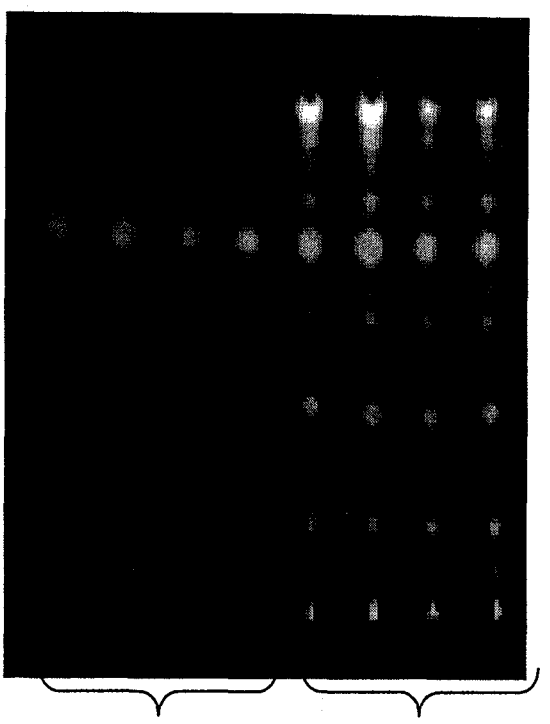
กวาวเครือแดงมีการเจริญเติบโตของลำต้นและการสะสม phytosterol ในราก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ NAA 100 ppm ทำให้ลำต้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากที่สุด ปุ๋ยคอก อัตรา 1,500 กก./ไร่ ร่วมกับ NAA 100 ppm และปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับ GA_3 100 ppm ทำให้รากมีปริมาณฟอสฟอรัสมากที่สุด (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.10 ผลของทรีตเมนต์ต่อ เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น และปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในต้นกวาวเครือแดง.

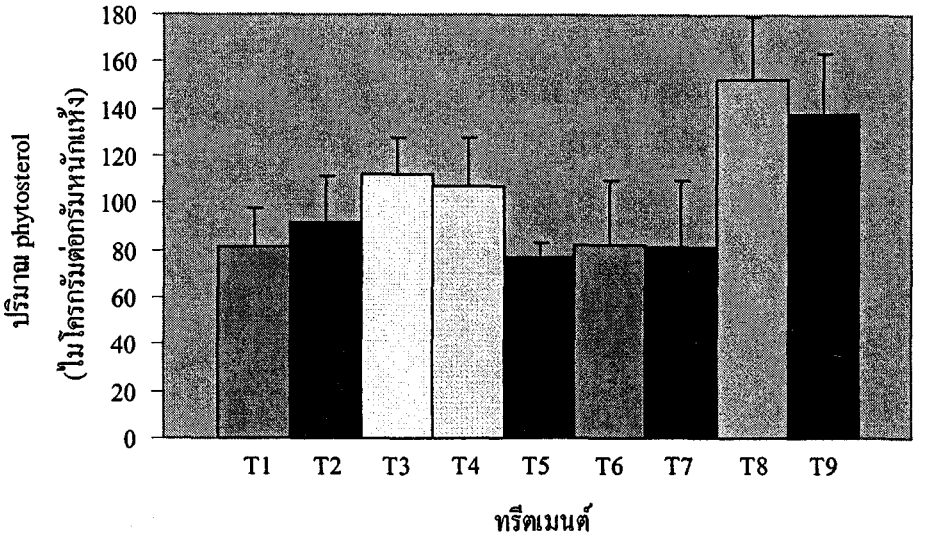
	ทรีตเมนต์	เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (มม.)	ฟอสฟอรัส (%)
T1	กลุ่มควบคุม	31.09 cd[1]	0.267 ab[1]
T2	NAA 100 ppm	31.84 d	0.283 ab
T3	GA_3 100 ppm	24.75 bcd	0.263 ab
T4	ปุ๋ยคอก 1,500 กก./ไร่	23.71 bcd	0.300 ab
T5	ปุ๋ยคอก 1,500 กก./ไร่ + NAA 100 ppm	14.21 a	0.354 b
T6	ปุ๋ยคอก 1,500 กก./ไร่ + GA_3 100 ppm	25.17 bcd	0.225 a
T7	ปุ๋ยสูตร 15-15-15 (N-P-K) 25 กก./ไร่	23.75 bcd	0.225 a
T8	ปุ๋ยสูตร 15-15-15 (N-P-K) 25 กก./ไร่ + NAA 100 ppm	17.88 ab	0.275 ab
T9	ปุ๋ยสูตร 15-15-15 (N-P-K) 25 กก./ไร่ + GA_3 100 ppm	22.75 bc	0.354 b

[1/] ในคอลัมน์เดียวกัน ค่าที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการวิเคราะห์แบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับ NAA 100 ppm และปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับ GA_3 100 ppm ทำให้รากมีปริมาณ phytosterol มากที่สุด (ภาพที่ 4.37 และ 4.38)



ภาพที่ 4.37 TLC โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับสารสกัดกวาวเครือแดง



ภาพที่ 4.38 ปริมาณ phytosterol ในรากกวาวเครือแดงแต่ละทรีตเมนต์ (I = SD)

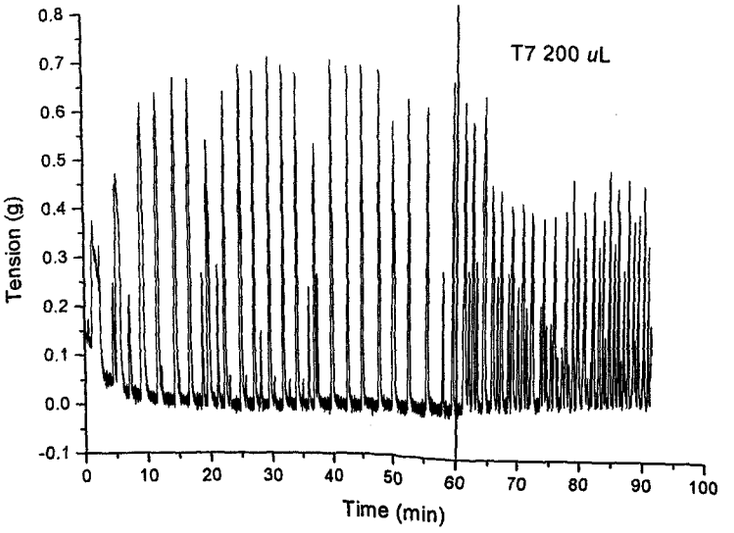
การให้สารสกัดจากรากกวาวเครือแดงที่ได้รับปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ทำให้การหดตัวของมดลูกหนูแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ได้ให้สารสกัด (ตารางที่ 4.11 และ ภาพที่ 4.39)

ตารางที่ 4.11 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้กราฟของการหดตัวมดลูกหนูขณะไม่ได้ให้สารสกัด (control) กับการได้รับสารสกัดกวาวเครือแดงในกลุ่มทรีตเมนต์ต่างๆ (T1-T9)

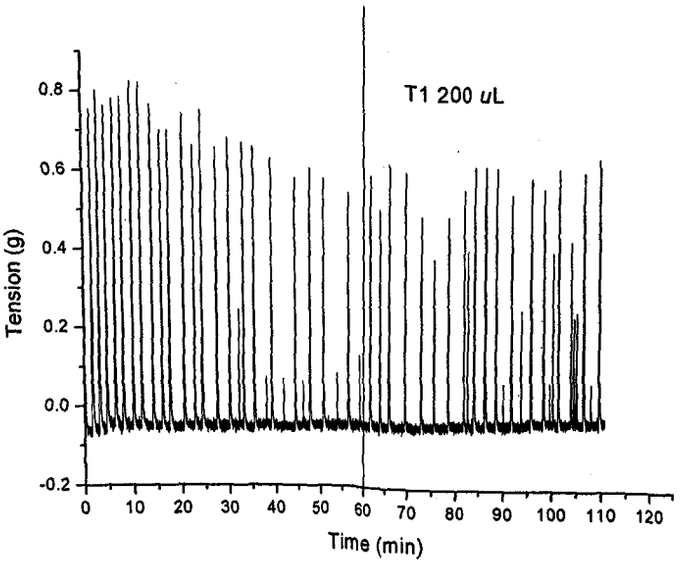
ทรีตเมนต์	AUC (mean ± sd.)
กลุ่มควบคุม	100.00
T1	138.77 ± 14.83 *
T2	166.03 ± 37.76
T3	108.69 ± 4.88
T4	128.64 ± 15.31
T5	130.63 ± 19.00
T6	137.98 ± 35.72
T7	116.06 ± 5.20 *
T8	120.03 ± 15.78
T9	156.76 ± 36.31

* $p \leq 0.05$

การนำสารสกัดจากรากกวาวเครือแดงมาเปรียบเทียบกันทั้ง 9 ทรีตเมนต์ ไม่พบความแตกต่างของการหดตัวของมดลูกหนู (ภาพที่ 4.39 และ 4.40)



ภาพที่ 4.39 ผลการหดตัวของมดลูกหนูขณะไม่ได้ใส่สารสกัด (นาทีที่ 0-60) และผลของสารสกัดกวาวเครือแดงในทรีตเมนต์ที่ได้รับปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ (T7) (นาทีที่ 60-90)



ภาพที่ 4.40 ผลการหดตัวของมดลูกหนูขณะไม่ได้ใส่สารสกัด (นาทีที่ 0-60) และผลของสารสกัดกวาวเครือแดงในทรีตเมนต์กลุ่มควบคุม (T1=control) (นาทีที่ 60-90)

ดังนั้นการให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับ NAA 100 ppm และปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับ GA_3 100 ppm เป็นปัจจัยที่มีนัยสำคัญในการทำให้รากมีปริมาณ phytosterol สูงสุด และสารนี้ทำให้มดลูกหนูมีการหดตัวเพิ่มขึ้น

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผล

5.1 สรุปผล

5.1.1 ศึกษาการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือขาวในธรรมชาติในรอบปี

1. ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อนเริ่มตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงมีนาคม
2. ระยะการเจริญและพัฒนาของเครือเถาและใบเริ่มตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงกรกฎาคม
3. ระยะผลัดใบเริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงกุมภาพันธ์
4. ระยะออกดอกของกวาวเครือขาว เริ่มตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์หลังจากนั้นเข้าสู่ ระยะการติดฝัก จนเจริญและพัฒนาเป็นเมล็ดแก่ในเดือนเมษายน
5. ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับการเจริญและการพัฒนาของกวาวเครือขาวในรอบปี ส่วนใหญ่ไม่มีความสัมพันธ์กันยกเว้นค่าสหสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณน้ำฝน กับการแก่ของฝัก อุณหภูมิสูงสุดกับการเจริญและพัฒนาของใบและความชื้นสัมพัทธ์กับการผลัดใบมีค่าสหพันธ์เท่ากับ 0.9911 0.6829 และ 0.6822 ตามลำดับซึ่งมีความสัมพันธ์กัน

5.1.2 ศึกษาการออกดอก การติดฝัก และการสะสมสาร coumestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว

1. การใส่ปุ๋ยสูตร 12-24-12 อัตรา 35 กก./ไร่ ร่วมกับพ่นแคลเซียมโบรอน 10 ppm และ NAA 100 ppm ทำให้ความยาวช่อดอก จำนวนฝักต่อช่อดอก จำนวนเมล็ดต่อฝักและน้ำหนัก 100 เมล็ดมากที่สุด
2. การใส่ปุ๋ยสูตร 12-24-12 อัตรา 35 กก. ร่วมกับปุ๋ยแคลเซียมโบรอน 10 ppm ร่วมกับ NAA 100 ppm และให้ปุ๋ยสูตร 12-24-12 อัตรา 35 กก. ร่วมกับ NAA 100 ppm ทำให้กวาวเครือขาวมีจำนวนช่อดอกต่อต้นมากที่สุด
3. ระยะการพัฒนาของดอกกวาวเครือขาวสามารถแบ่งได้เป็น 10 ระยะ ได้แก่ vegetative phase, inflorescence primordial induction phase, inflorescence primordia initiation

phase, inflorescence primordia and bract primordia development phase, floral primordia induction phase, floral primordia and sepal initiation phase, carpel and petal induction phase, petal and stamen initiation phase, all organ development phase , end of reproduction phase

5. การใส่ปุ๋ยสูตร 12-24-12 อัตรา 35 กก./ไร่ ทำให้การพัฒนาของดอกเร็วที่สุด แต่การใส่ปุ๋ยแคลเซียมโบรอน 10 ppm ทำให้การพัฒนาดอกช้าที่สุด
6. การปลูกกวาวเครือขาวให้ออกดอก ติดฝักและเมล็ดเพิ่มขึ้น ควรให้ปุ๋ยสูตร 12-24-12 อัตรา 35 กก./ไร่ และพ่นแคลเซียมโบรอน 10 ppm ร่วมกับ NAA 100 ppm ตั้งแต่ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น จะเพิ่มจำนวนฝักต่อช่อดอก จำนวนเมล็ดต่อฝักและน้ำหนัก 100 เมล็ด ได้ดีที่สุด
7. การพ่นด้วย $CuCl_2$ 1,000 ppm มีการสะสม coumestrol มากที่สุด โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของหัว ขณะที่การพ่นด้วย $MnCl_2$ และ $FeCl_2$ มีการสะสมสาร coumestrol เพิ่มขึ้นแต่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของหัวจึงควรศึกษาความเข้มข้นของ $MnCl_2$ และ $FeCl_2$ ที่เหมาะสมต่อไป

5.1.3 ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวและ ผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว

1. การฉีดพ่นสังกะสีทุกความเข้มข้นให้กับกวาวเครือขาวไม่ทำให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารแตกต่างกันทางสถิติ
2. กวาวเครือขาวที่ได้รับสังกะสี มีการสะสม puerarin เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น
3. ความเข้มข้นของสังกะสีที่ 200 มก./ล. ทำให้กวาวเครือขาวมีการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวมากที่สุด
4. ความเข้มข้นของสังกะสีที่ 300 มก./ล. ทำให้กวาวเครือขาวมีการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารลดลง ใบมีอาการไหม้และหงิกงอ
5. สารสกัดกวาวเครือขาวสามารถทำให้อัตราการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาวลดลง หรือหลอดเลือดมีการคลายตัวมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงที่ไม่ได้ให้สารสกัดกวาวเครือขาว
6. การให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดจากทรีตเมนท์ที่ 4 ให้เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) น้อยที่สุด หรือหลอดเลือดของหนูขาวมีการคลายตัวได้ดีที่สุด

5.1.4 การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาว

5.1.4.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของกวาวเครือขาวในแปลงทดลอง

1. ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเครือเถาที่ระดับผิวดินที่อายุ 4 เดือนมีค่าเท่ากับ 0.45 ซม. และเพิ่มขึ้นเป็น 3.24 ซม. เมื่อต้นกวาวเครือขาวอายุ 16 เดือน กวาวเครือขาวมีการออกดอกในระหว่างเดือนพฤศจิกายน ธันวาคม 2543 และมกราคม 2544 หรือมีอายุประมาณ 6 เดือนนับจากวันเพาะเมล็ด จำนวนต้นที่ออกดอกคิดเป็น 61 เปอร์เซ็นต์จำนวนช่อดอกเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 41.90 น้ำหนักเฉลี่ยต่อ 100 เมล็ดเท่ากับ 2.52 ก. ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มออกดอกในเดือนพฤศจิกายนจนกระทั่งเมล็ดแก่ในเดือนมีนาคมหรือประมาณ 4 เดือน
2. น้ำหนักหัวกวาวเครือขาวเฉลี่ยที่อายุ 4 เดือนเท่ากับ 38.59 ก. และเพิ่มขึ้นเป็น 249.88 กรัม เมื่อกวาวเครือขาวอายุ 16 เดือน เปอร์เซ็นต์ความชื้นเฉลี่ยของหัวที่อายุ 4 เดือนเท่ากับ 90.29 และเพิ่มขึ้นเป็น 90.69 % เมื่อกวาวเครือขาวอายุ 16 เดือน ความหนาแน่นเฉลี่ยของหัวที่อายุ 4 เดือนเท่ากับ 0.98 ก./ ลบ.ซม และเพิ่มขึ้นเป็น 1.03 ก./ลบ.ซม เมื่อกวาวเครือขาวอายุ 16 เดือน

5.1.4.2 การศึกษาหาปริมาณสาร daidzein และ genistein ในหัวกวาวเครือขาว

1. ปริมาณสาร daidzein และ genistein จากหัวของกวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในธรรมชาติที่อยู่ในระยะแตกเครือเถาและใบอ่อนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 59.07 และ 22.89 ไมโครกรัม/กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับและเพิ่มขึ้นเป็น 88.47 และ 38.06 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับเมื่อกวาวเครือขาวอยู่ในระยะออกดอกติดฝักและเมล็ด
2. ปริมาณสาร daidzein และ genistein จากหัวกวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในแปลงทดลอง เมื่อหัวกวาวเครือขาวมีอายุ 4 เดือนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 13.27 และ 7.81 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับและเพิ่มขึ้นเป็น 40.37 และ 24.48 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ เมื่อหัวกวาวเครือขาวมีอายุ 16 เดือน

5.1.4.3 การขยายพันธุ์กวาวเครือขาวโดยการปักชำ

1. ความเข้มข้นของ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm มีผลต่อการเจริญของรากกวาวเครือขาวมากที่สุด พบการเจริญของรากน้อยที่สุดของกิ่งชำที่ไม่แช่ NAA
2. วัสดุปลูกทั้ง 3 ไม่ทำให้การเจริญของรากแตกต่างกัน

5.1.5 การศึกษาถึงปัจจัยสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการสะสม สารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง

5.1.5.1. พันธุ์และความสัมพันธ์ของสภาพแวดล้อมกับการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือแดง

1. การเจริญและการพัฒนาของกวาวเครือแดงในรอบปี มี 5 ระยะ คือ 1) ระยะแตกเครือเถาและใบอ่อน 2) ระยะใบแก่ 3) ระยะผลัดใบ 4) ระยะออกดอก และ 5) ระยะติดฝัก
2. กวาวเครือแดงแตกเครือเถาและใบอ่อน 100 % ในต้นเดือนมิถุนายน ใบแก่เต็มที่ 100% ในปลายเดือนกันยายน ผลัดใบ 100 % กลางเดือนพฤศจิกายน ออกดอก 100 % ปลายเดือนกุมภาพันธ์ และฝักแก่100 % กลางเดือนมีนาคม
3. สหสัมพันธ์ของเจริญและการพัฒนากับสภาพภูมิอากาศ อุณหภูมิสูงสุด 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 % ทำให้เปอร์เซ็นต์การผลัดใบ เพิ่มขึ้นหรือลดลง 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 %
4. สภาพภูมิอากาศมีความสัมพันธ์กับการเจริญและการพัฒนาในรอบปีของกวาวเครือแดง

5. การศึกษาหาความสัมพันธ์ของสายพันธุ์กวาวเครือแดง 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
6. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม โปรแกรม NTSYSpc version 2.10X คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (similarity coefficient) ด้วย Jaccard และจัดกลุ่ม dendrogram ด้วย unweighted pair group method using arithmetic means (UPGMA) พบว่าการจัดกลุ่มตามแหล่งกำเนิด หรือแหล่งกระจายพันธุ์ของกวาวเครือแดง
7. ที่ระดับความใกล้ชิด 32 เปอร์เซ็นต์ สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ตรงกับที่มีการบันทึกไว้ของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) 27 สายต้น
8. ที่ระดับความใกล้ชิด 85 เปอร์เซ็นต์ แบ่งได้ 5 กลุ่มย่อย ประกอบด้วยกวาวเครือแดงจากจังหวัดกาฬสินธุ์ จำนวน 11 สายต้น นครราชสีมา จำนวน 10 สายต้น และสกลนคร จำนวน 6 สายต้น และกลุ่มที่ 2 มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ตรงกับที่มีการบันทึกไว้ของ เถาพันซ้าย (*Spatholobus parviflorus* [DC.] Kuntze) 22 สายต้น
9. ความสัมพันธ์ทางพฤกษศาสตร์จาก 11 ลักษณะ ได้แก่ ลำต้น รูปร่างใบ ฐานใบ ปลายใบ สีก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝักอ่อน ฝักแก่ และสีเมล็ด ของพืชทั้ง 2 กลุ่ม พบว่ามีความใกล้ชิดกันเพียง 19 เปอร์เซ็นต์ แต่พบสายต้นที่เหมือนกันจากทั้ง 2 กลุ่ม โดยเหมือนกัน100 % จำนวน 2 ต้น มี 7 คู่ และเหมือนกัน 100 % มากกว่า 2 ต้น มี 7 กลุ่ม แต่จากลักษณะทางพันธุกรรมมีความแตกต่างกันทุกสายต้น
10. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์แยกความแตกต่างกันได้ยาก จึงต้องอาศัยเทคนิคทางด้าน DNA fingerprint เพื่อตรวจสอบเอกลักษณ์ทางพันธุกรรม หรือตรวจสอบความแตกต่างของกวาวเครือแดง และเทคนิค RAPD สามารถใช้จำแนกสายต้นของกวาวเครือแดงได้

5.1.5.2 อิทธิพลของการเขตกรรมบางประการและสภาพแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง

1. การให้น้ำไม่มีผลให้กวาวเครือแดงมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันทางด้าน ลำต้น ใบ และราก ที่อายุ ต่ำกว่า 12 เดือน
2. การให้น้ำทุก 3 วัน และ 7 วัน ให้ผลการเจริญเติบโตของลำต้น ใบและ ราก ดีกว่าการไม่ให้น้ำ โดยเฉพาะเมื่อกวาวเครือแดงที่อายุ12 ถึง 14 เดือน
3. ที่อายุ 12 และ 14 เดือน การให้น้ำทุก 3 วัน ได้รากที่ยาวกว่า การให้น้ำทุก 7 วัน แต่การให้น้ำทุก 7 วัน มีเส้นผ่าศูนย์กลางรากมากกว่าการให้น้ำทั้งสองระยะไม่ทำให้น้ำหนักของรากแตกต่างกัน
4. การให้น้ำ ทุก 7 วัน เพียงพอต่อการเจริญเติบทางลำต้น ใบ และ ราก ของกวาวเครือแดง
5. ระยะปลูกที่ 1.5 เมตร X 1.5 เมตร และระยะปลูก 3 เมตร x 3 เมตร ทำ ให้ผลของการเจริญทางลำต้น ใบ และราก ไม่แตกต่างกันที่ อายุ 6 ถึง 14 เดือน
6. การพรางแสงและไม่พรางแสงไม่ให้การเจริญทางลำต้น ใบและรากของกวาวเครือแดงไม่แตกต่างกัน
7. ไม่พบสาร 3,7,3'–trihydroxy-4'–methoxyflavone ในกวาวเครือแดงจากอำเภอสมเด็จ จังหวัดกาฬสินธุ์ และในแปลงทดลองที่อายุ 6 8 10 12 และ 14 เดือน
8. การให้น้ำ ทุก 3 วัน และ 7 วัน ได้สาร stigmasterol มากกว่าการไม่ให้น้ำ และการให้น้ำ ทุก 3 วัน และ 7 วัน มีปริมาณสาร stigmasterol เพิ่มขึ้นเมื่ออายุมากขึ้นด้วย

5.1.5.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสาร phytosterol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง และผลของสารนี้ต่อการทำงานของมดลูกหนูขาวเพศเมีย

1. ปุ๋ยคอก อัตรา 1,500 กก./ไร่ ร่วมกับ NAA 100 ppm และปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับ GA_3 100 ppm ทำให้รากกวาวเครือแดงมีปริมาณฟอสฟอรัสมากที่สุด
2. ปุ๋ยคอก อัตรา 1,500 กก./ไร่ และปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ทำให้ดินในแปลงปลูกมีความเค็ม ปริมาณไนโตรเจน และปริมาณฟอสฟอรัสมากที่สุด

3. ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับ NAA 100 ppm และปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับ GA_3 100 ppm ทำให้รากกวาวเครือแดงมีปริมาณ phytosterol มากที่สุด
4. สารสกัดรากกวาวเครือแดงจากแต่ละทรีตเมนต์เปรียบเทียบกับขณะไม่ได้ให้สารสกัดซึ่งคิดเป็น 100 % สามารถทำให้เกิดการหดตัวของมดลูกหนูขาวเพศเมียเพิ่มขึ้น แต่ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง 9 ทรีตเมนต์แล้ว ไม่ทำให้การหดตัวของมดลูกหนูแตกต่างกัน แสดงว่ากวาวเครือแดงมีสารที่เป็นเอสโตรเจนอยู่ในปริมาณที่เพียงพอที่ทำให้เกิดการหดตัวของมดลูกหนู

5.2 วิจารณ์ผล

อิทธิพลของสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การออกดอกและติดเมล็ดของกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดงที่สำคัญ คือ ความชื้นทั้งในอากาศ (ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ) และความชื้นในดิน การเขตกรรมที่เหมาะสมจากการทดลองคือ 2 x 2 ม. โดยทำค้างสูง 2 ม. ให้กวาวเครือขาวเลื้อยพันในกรณีที่ปลูกในแปลงที่มีการให้น้ำหยดวันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็นแต่ละครั้งนาน 2 ชั่วโมง (ในฤดูแล้ง) จะป้องกันการหลุดร่วงของใบกวาวเครือขาวในฤดูแล้ง การหลุดร่วงของดอกและฝัก และการติดเมล็ดของกวาวเครือขาวได้ด้วย ซึ่งตรงกับการค้นพบของ Fisher and Khon (1966) นอกจากนี้จากงานวิจัยยังพบว่า sunshine duration และความเข้มแสงเป็นปัจจัยของสภาพแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการออกดอก การติดฝัก ของกวาวเครือขาวโดยมีผลผ่านการสะสมอาหาร (เฉลิมพล แซมเพชร, 2542) ในกวาวเครือแดง ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำจะทำให้ใบของกวาวเครือแดงร่วง การออกดอกและการติดฝักก็จะลดลงเช่นเดียวกัน ดังนั้นการให้น้ำทุกๆ 3 วัน จะทำให้กวาวเครือแดงมีการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งก้านสาขา การออกดอกและติดเมล็ด ดีกว่าการให้น้ำทุกๆ 7 วันและการไม่ให้น้ำเลย แต่แสงมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของกวาวเครือแดงน้อยกว่าการให้น้ำ เพราะอาจจะเนื่องมาจากกวาวเครือแดงเป็นพืชที่ปรับตัวได้สูงในระดับความเข้มแสงที่แตกต่างกัน

สภาพแวดล้อมและการเขตกรรมที่มีผลต่อการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดงยังเป็นความชื้นในดินและความชื้นในอากาศ สำหรับการเขตกรรมคือการให้น้ำ ให้ปุ๋ย และฉีดพ่นด้วย plant growth regulators และแร่ธาตุชนิดต่างๆ การเขตกรรมที่ดีโดยมีการให้น้ำที่เหมาะสมแก่กวาวเครือขาว ทำให้เกิดการสะสมสาร daidzein และ genistein ตั้งแต่ก่อนอายุ 4 เดือน จากนั้นปริมาณสารจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อต้นกวาวเครือขาวอายุมากขึ้น ดังนั้นในการนำหัวกวาวเครือขาวที่มีอายุมากไปใช้ประโยชน์จะทำให้ได้รับสาร daidzein และ genistein เพิ่มมากขึ้นด้วย

เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณสาร daidzein และ genistein ในทุกๆ อายุและระยะการเจริญและพัฒนาทำให้พบว่าปริมาณสาร daidzein มีค่าเฉลี่ยสูงกว่าสาร genistein ทั้งนี้อาจจะมีสาเหตุมาจากในกระบวนการชีวสังเคราะห์ทั้งนี้เพราะ 5,7,4'-trihydroxyflavanone (naringenin) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในการสังเคราะห์ genistein นั้นสามารถถูกนำไปใช้เป็นสับสเตรทในการสังเคราะห์สารอื่นๆ อีก 2 ชนิด คือ dihydroxyflavonol โดยเอนไซม์ flavanone 3 – hydroxylase และการสังเคราะห์สาร flavoneโดยเอนไซม์ flavone synthase (Yu et al., 2000) ดังนั้นจึงทำให้เกิดการแข่งขันกันระหว่างเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้กับเอนไซม์ isoflavone synthase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยน 5,7,4'-trihydroxyflavanone ไปเป็น genistein สำหรับการสังเคราะห์สาร daidzein นั้นใช้ 7,4'-dihydroxy flavanone (liquiritigenin) โดยที่สับสเตรทชนิดนี้มีความจำเพาะต่อเอนไซม์ isoflavone synthase ซึ่งเป็น เอนไซม์ที่เปลี่ยน 7,4'-dihydroxyflavanone ไปเป็นสาร daidzein เท่านั้นจึงไม่เกิดการแข่งขันกับเอนไซม์ชนิดอื่นจึงมีผลทำให้ปริมาณสาร daidzein สูงกว่าสาร genistein

การฉีดพ่นด้วย ธาตุโลหะหนัก เช่น $CuCl_2$, $MnCl_2$ และ $FeCl_2$ ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมสามารถเพิ่มการสังเคราะห์ daidzein, genistein และ coumestrol ในกวาวเครือขาวได้ เนื่องจากธาตุเหล่านี้เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในโครงสร้างของเอนไซม์หรือโคแฟกเตอร์หรือโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการเคลื่อนย้ายอีเล็กตรอน เช่น เอนไซม์ในกลุ่ม cytochrome oxidase complex ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีธาตุเหล็กและทองแดงเป็นองค์ประกอบ ซึ่งทั้งเหล็กและทองแดงสามารถเปลี่ยนรูประหว่างออกซิไดส์และรีดิวส์เมื่อเกิดการสูญเสียหรือรับอิเล็กตรอน (Silva and Williams, 1993)

ในกวาวเครือแดงการให้น้ำทำให้มีการสะสม stigmasterol เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมี substrate ในการสร้างมากขึ้น การให้ปุ๋ย ร่วมกับการฉีดพ่น NAA 100 ppm และ GA 100 ppm ทำให้กวาวเครือแดงมีการสะสม phytosterol มากที่สุด เนื่องจากทั้ง NAA และ GA_3 กระตุ้นการเปลี่ยนสารเคมีให้เป็น phytosterol ได้เพิ่มขึ้น (Davies, 2004; Srivastava, 2002)

ผลงานวิจัยของโครงการนี้ นำไปสู่แนวทางที่จะจัดการสภาพแวดล้อมและการเขตกรรมให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การออกดอก และการติดเมล็ดและที่สำคัญการสะสมสารเคมีที่สำคัญในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดงได้ แต่การนำสารสำคัญนั้นๆ มาใช้ไม่ว่าจะเป็นเพื่อการรักษาโรค การเสริมความงาม เสริมสมรรถภาพทางเพศ ซึ่งในปัจจุบันยังใช้ในรูปของ crude extract หรือนำผงกวาวเครืออบแห้งมาบริโภคเลยจำเป็นต้องใช้อย่างระมัดระวัง โดยเฉพาะปริมาณที่จะใช้ เนื่องจากกวาวเครือมีสารเคมีที่สะสมอยู่ในรากสะสมอาหารอยู่หลายชนิดด้วยกัน การศึกษาทางเคมีโดยเฉพาะการทำให้เป็นสารบริสุทธิ์มาประโยชน์ และ/หรือ ศึกษาให้ทราบว่าใน 1 มก./ น้ำหนักแห้ง ของกวาวเครือมีสารอะไรอยู่และในปริมาณเท่าไร จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้ในด้านต่างๆ ดังกล่าวมาแล้ว หลังจากมีการทดสอบพิษทางเภสัชวิทยาแล้ว

บทที่ 6
ข้อเสนอแนะ

กวาวเครือขาว

ในธรรมชาติการแก่ของฝักกวาวเครือขาวเกี่ยวข้องกับปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิสูงสุดมีผลต่อการเจริญและพัฒนาของใบและความชื้นสัมพัทธ์มีผลต่อการผลัดใบ การปลูกด้วยเมล็ด เมื่อกวาวเครือขาวอายุ 4 เดือน น้ำหนักเฉลี่ยต่อหัวเท่ากับ 38.59 ก. และมีสาร daidzein และ genistein โดยเฉลี่ยเท่ากับ 13.27 และ 7.81 มคก./ก. น้ำหนักแห้ง และเมื่ออายุ 16 เดือนน้ำหนักหัวเฉลี่ยเท่ากับ 249.88 ก. และมีสาร daidzein และ genistein เฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น 40.37 และ 24.48 มคก./ก. น้ำหนักแห้ง การพ่นด้วย $CuCl_2$ 1,000 ppm ทำให้มีปริมาณ coumestrol สูงที่สุด และสังกะสีที่ 200 มก./ล. ทำให้มีปริมาณ puerarin มากที่สุด สามารถขยายพันธุ์ด้วยการปักชำได้ โดยการจุ่มกิ่งใน NAA 250 ppm ทำให้การออกรากดีที่สุด สารสกัดจากหัวกวาวเครือขาวมีผลทำให้หลอดเลือดหนูมีการคลายตัวมากขึ้น จึงอาจมีผลต่อการใช้รักษาโรคเส้นเลือดแตกได้

กวาวเครือแดง

สภาพภูมิอากาศมีอิทธิพลการเจริญและพัฒนาในรอบปีของกวาวเครือแดงและการจำแนกสายพันธุ์ที่ความใกล้ชิดกันระหว่าง 75 - 97 เปอร์เซ็นต์ แบ่งได้ 5 กลุ่ม จากการปลูก การให้น้ำทุก 3 วัน และ 7 วัน ทำให้การเจริญเติบโตของลำต้น ราก และการสะสมสาร stigmasterol มากกว่าการไม่ให้น้ำ การใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับ NAA 100 ppm และปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับ GA_3 100 ppm ทำให้รากกวาวเครือแดงมีปริมาณ phytosterol มากที่สุดและสารสกัดรากกวาวเครือแดงทำให้การหดตัวของมดลูกหนูขาวเพศเมียเพิ่มขึ้นแสดงว่ามีกวาวเครือแดงมีสารไฟโตรเอสโตรเจนเหมือนกับกวาวเครือขาวและอาจจะพัฒนาต่อไปจนสามารถใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนได้เช่นกัน

บรรณานุกรม

กองบรรณาธิการ. (2542). เปิดใจ รศ.ดร.วิชัย เชิดชีวศาสตร์ ผู้เปิดประเด็นกวาวเครือสู่สังคมไทย. วารสาร UPDATE กันยายน-ตุลาคม. หน้า 47-51.

กรมวิชาการเกษตร. (2548). กวาวเครือขาว-พืชมหัศจรรย์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ

จิรศักดิ์ กีรติคุณากร และ ไพฑูรย์ พิศุทธิ์สินธุ์. (2543). คู่มือการตรวจสอบกวาวเครือและทองเครือ. ฝ่ายพันธุ์พืช กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เฉลิมพล แซมเพชร. (2535). สรีรวิทยาการผลิตพืช. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

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

ชวลิต นิยมธรรม. 2538. กวาวเครือ. อนุกรมวิธานพืช อักษร ก. ราชบัณฑิตยสถาน. บริษัท เพื่อนพิมพ์ จำกัด. 495 หน้า

เต็ม สมิตินันท์. (2523). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย: ชื่อพฤกษศาสตร์ - ชื่อพื้นเมือง. กรมป่าไม้, กรุงเทพ.

ทองทิศ ทองใหญ่. (2546). กวาวเครือ ความภูมิใจของผู้ชาย ความมั่นใจของผู้หญิง [ออนไลน์] ได้จาก : http://www.airissophia.com/mcontents/marticle.php?headtitle=mcontents&id=14801

ธนาธิป รักศิลป์ (2537). องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นันทวัน บุญยะประภัสสร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2539. สนุนไพรพื้นบ้าน. บริษัทประชาชน จำกัด. 895 หน้า

นิสากร ปานประสงค์ 2542. กวาวเครือความหวังสมุนไพรไทย วารสาร UPDATE. กันยายน – ตุลาคม หน้า 40-45.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. 2541. ปัญหาการใช้กวาวเครือของประชาชนชาวไทยและประเทศไทย. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาวิชาการกวาวเครือ ณ สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข 44 หน้า

ฤดิน สิทธิวิเชียรวงศ์ (2542). การคัดกรองสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชสมุนไพรโดยวิธียับยั้งไซคริกเอเอ็มพีฟอสโฟไดเอสเทอเรส. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์(เทคโนโลยีชีวภาพ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาวนา อัศวะประภา. (2544). คู่มือการปลูกพืชสมุนไพร. กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพ.

มงคล โมกขะสมิต กมล สวัสดิมงคล และ ประยุทธ สาตราวาหะ. การศึกษาพิษของสมุนไพรไทย. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2513;12(2-4):36-65. 2484;24(2):83-95.

มยุรี ตันติสิระ. (2542). ข้อมูลเกี่ยวกับกวาวเครือ [ออนไลน์] ได้จาก : http://www.pharm.chula.ac.th/surachai/misce/khao-01.htm

ยุทธนา สมิตะสิริ และชรินทร์ วังใจ. (2529). ชีววิทยาบางประการของกวาวขาว: 1) ดอก ฝักและเมล็ด. ใน เอกสารประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 12 (หน้า 264-265). กรุงเทพ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ยุทธนา สมิตะศิริ และ สันติ ศักดารัตน์. 2538. รูปแบบของสมุนไพรกวาวเครือขาวที่เหมาะสมสำหรับการใช้คุมกำเนิดนกพิราบ วารสารเทคโนโลยีสุรนารี ปีที่ 2 ฉบับที่ 2 หน้า 89-96.

วรรณลักษณ์ จันทร์เงินและยุทธนา สมิตะสิริ. (2530). ชีววิทยาบางประการของกวาวขาว: 2) ใบและการเจริญ. ใน เอกสารประกอบการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13. (หน้า 470-471). สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540. สารานุกรมสมุนไพรไทย. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ 92 หน้า

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. (2537). พฤกษศาสตร์. กรุงเทพฯ: รั้วเขียว.

สมพร ภูติยานันท์. (2542). ตรวจเอกลักษณ์พืชสมุนไพร: ภาคพิเศษ. กรุงเทพฯ: องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก

สากล เจรจา (2548). เปิดตำรายากวาวเครือเล่มแรก. หนังสือพิมพ์กรุงเทพธุรกิจ ปีที่ 18 ฉบับที่ 594

สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb) ที่พบในพื้นที่ที่แตกต่างกันสองพื้นที่ ต่อ อวัยวะสืบพันธุ์ พฤติกรรมการสืบพันธุ์และการแข็งตัวของอวัยวะเพศในหนูขาวเพศผู้ *(Rattus norvegicus)*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยามหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สุภาภรณ์ ภัทรสุทธิ. (2543). ศึกษาการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของเท้ายายม่อม. ในเอกสารการประชุมวิชาการกองพฤกษศาสตร์และวัชพืช เรื่องความก้าวหน้างานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพ สมุนไพร และวัชพืช. (หน้า 151 – 157). กรุงเทพ : กรมวิชาการเกษตร

ไสภณ เริงสำราญ และคณะ (2543). ฟลาโวนอยด์ และ ฟลาโวนอยด์กลโคไซด์ จากกวาวเครือแดง และฤทธิ์ต่อต้านไซคริกเอเอ็มพีฟอสโฟไดเอสเทอเรส. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 25(1):169-176.

อนุสารสุนทร. หลวง. (2472). ตำรายาหัวกวาวเครือ. เชียงใหม่: โรงพิมพ์อุปติพงศ์. 17 หน้า

อรัญญา มโนสร้อย สมศักดิ์ ทะระถา พิศิษฐ์ ใจนนถีย์ และจีรเดช มโนสร้อย. (ม.ป.ป.). การเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญในหัวกวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica*, Airy Shaw Suvatabhandhu) และกวาวเครือแดง (*Butea superba Roxb.*) ที่มีช่วงอายุต่างๆ จากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย. [ออนไลน์] จาก : http://www.scisoc.or.th/stt/28/web/content/C_03/C02.htm

อรดี สหวัชรินทร์. 2541. แนวทางในการคัดเลือกพันธุ์ ขยายพันธุ์ และการปลูกกวาวเครือ. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาวิชาการกวาวเครือ ณ สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข 44 หน้า

อรดี สหวัชรินทร์. 2542. "กวาวเครือ" สมุนไพรครอบจักรวาล. วารสารเคหะการเกษตร 23(4):127-235.

อชิพงษ์ มานะเสถียร (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.). ที่พบในพื้นที่แตกต่างกันสองแห่งต่อหัวใจ ตับ ไต ต่อมหมวกไต และองค์ประกอบของเลือดในหนูขาวเพศผู้ (Rattus norvegicus). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

อวย เกตุสิงห์. พิษอย่างหนึ่งในหัวกวาวเครือขาว. จดหมายเหตุทางการแพทย์ 2484;24(2):71-81.

Davies, P.J. (2004). Plant Hormones Biosynthesis, Signal Transduction, Action. Kluwer Academic Publishers, 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.

Fisher, R.A. and Khon, G. D. (1966). The Relationship of Grain 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.

Frank, A.A., Custer, L. J., Cerna, C.M., and Narala, K.K. (1994). Quantitation of Phytoestrogens in Legumes by HPLC. J. Agri. Food Chem. 42: 1905-1913.

ites, 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.

ngham J. L., Tahara S., Dziedzic SZ. 1986. A Chemical Investingation of Puerarin miricican Roots. Z Naturforsch. 41 C, 403-408.

ngham J. L., Tahara S., Dziedzic SZ. 1989. Minor Isoflavones from the Root of Pureraria mirifica. Z Naturforsch. 44 C, 724-726.

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

Manakasem, Y. (1995). Changes in apices and effect of microclimate on flora initiation of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) 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.

Murphy, P.A. (1981). Separation of Daidzein and Their Aglucones, and Coumesterol by Gradient High – Performance Liquid Chromatography. Journal of Chromatography. 211 : 166 - 169

Nobel, P.S. (1988). Environmental Biology of Agaves and Cacti. Cambridge: Cambridge University Press.

Pangsirvongse K. 1938. Butea superba Roxb. Rev Filipina med farm;29:12-14.

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.

Silva, Frausto da, J. J. R. and Willium, R. J. P. (1993). The biological chemistry of the element. Oxford: Clarendon Press.

Srivastava, L.M. (2002). Plant Growth and Development : Hormones and Environment. Academic Press, China.

Subba Rao v, Seshadri TR. 1949. Chemical cornposition of the flowers of *Butea superba*. J. Sci. Ind Research (India) 8B:178-179.

Sukhavachana D. 1941. Oestrogenic principle of *Butea superb*. J. Med Ass Thailand 24(2):83-94.

Vatna S. 1939. Preliminary report on the presence of an estrogenic substance and a poisonous substance in the storage root of Butea superb Roxb. Thai Sci Bull (Bangkok) (4);3-9.

William, C.A. and Harborne, J.B. (1989). Isoflavonoides. In J. B. Harborne (ed.) Method in Plant Biochemistry. Vol. 1. Plant Phenolics (pp 421-449). London: Academic Press.

Yadava, R.N. and Reddy, K.I. (1998). A new bio-active flavonol glycoside from the stems of *Butea superba* Roxb. J. Asian Nat. Prod. Res. 1(2):139-45.

Yu, O., Jung, W., Shi, J., Croes, R.A., Farder, G.M., MaGonigle, B. and Odell. J. T. (2000). Production of the Isoflavones Genistein and Daidzein in Non – Legume Dicot and Monocot Tissues. Plant Physiol.124: 781 – 793.

ภาคผนวก

ผลงานวิจัยทางด้านกวาวเครือที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

บุญร่วม คิดค้า เกสร เมืองทิพย์ และ ยุวดี มานะเกษม (2549). กวาวเครือ. เกษตรสุรนารี'49. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. หน้า 21-28

เกสร เมืองทิพย์ บุญร่วม คิดค้า จารุจินันท์ หล้ากวนวัน วิโรจน์ เชาว์วิเศษ และ ยุวดี มานะเกษม (2550). กวาวเครือแดง. เกษตรสุรนารี'50. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. หน้า 13-22.

วิโรจน์ เชาว์วิเศษ จารุจินันท์ หล้ากวนวัน เกสร เมืองทิพย์ พรทิพย์ จันทร์ราช บุญร่วม คิดค้า ประสาร ฉลาดคิด และ ยุวดี มานะเกษม (2551). มหัศจรรย์กวาวเครือขาวและกวาวเครือแดง. เกษตรสุรนารี'51. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. หน้า 8-16.

Chalardkid, P., **Manakasem, Y.** and Sriyotha, P. 2003. Growth, Development and the Accumulation of Daidzein and Genistein in the Tuberous Roots of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. Var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham]. Suranaree J. Sci. Technol. 10:350-358.

Manakasem, Y., and P. Chanrat. 2006. SEM Study on the Effect of Complete Fertilizer Calcium – Boron and NAA on Physiology of Flowering for Pod and Seed Setting of the White Kwao Krua *(Pueraria candollei* Grah. var. mirifica). Proceeding of the 16th International Microscopy Congress, September 3-8, 2006. Sapporo, Japan.

Manakasem, Y., Laguanwan, C. and Kupittayanant, P. 2007. Effects of Manure, Chemical Fertilizer, NAA and GA_3 on Growth and Accumulation of Phytosterol in the Tuberous Roots of Red Kwao Krua *(Butea superba* Roxb.) and the Effects of this Phytosterol on Female Rat *(Rattus norvegicus)* Uterine Tension. Proceeding of the International Workshop on Medicinal and Aromatic Plants; In association with the Royal Flora Ratchaphruek 2006: International Horticultural Exposition for His Majesty the King of Thailand January 15-18, 2007. Chiang Mai, Thailand.

Muangtip, K., Sakuanrungsirikul, S. and **Manakasem, Y.** 2007. Phenological Cycle and Molecular Markers Classification of Red Kwao Krua *(Butea superba* Roxb.) Suranaree J. Sci. Technol. 14(1): 119-128.

Manakasem, Y.,Chalardkid, P. and Chanrat, P. 2007. The Effect of Cu^{2+} on the Accumulation of Daidzein, Genistein and Coumestral in the Tuberous Roots of White Kwao Krua [*Pueraria*

candollei Grah. Var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham]. Planta Medica. 9(73): 613. 55th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant Research. September 2-6, 2007, Graz, Austria.

Muangtip, K., Sakuanrungsirikul, S. and **Manaksem, Y.** 2007. Anthocyanin Accumulation and Molecular Markers Classification of Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.). The 6 th Princess Chulabhorn International Science Congress (PCVI). The Interface of Chemistry and Biology in the "Omics" Era. 25-29 November 2007, Bangkok, THAILAND.

Khika, K. and **Manakasem, Y.** 2008. Irrigation, Spacing, and Shading on Leaf and Root Growth and the Accumulation of 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone and Stigmasterol in Tuberous Roots of Red Kwao Krua. Suranaree J. Sci. Technol. 15(1):75-81.

Laguanwan, C., Kupittayanant, S. and **Manakasem, Y.** 2008. The Efficacy of Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) on Female Rat (*Rattus norvegicus*) Uterine Tension. The 12th International Congress Phytopharm , 2-4 July 2008, Saint-Petersburg, Russia.

Chaowiset, W., Kupittayanant, S., **and Manakasem, Y.**, 2008. The Effect of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy et Suvatabandhu) Niyomdham] Crude Extract Containing Puerarin on Vascular Relaxation in the White Rat (*Rattus norvegicus*). Panta Medica. 9 (74): 978. 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF. August 3-8, 2008, Athens, Greece.

การเจริญ การพัฒนา และการสะสมสารเดอิดซีนและเจนีสทีนในหัวกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham]

ประสาร ฉลาดคิด [1] ยุวดี มานะเกษม [1] และ พูนศุข ศรีโยธา [2]*

Chalardkid, P[1]., Manakasem, Y.[1]. and Sriyotha, P[2]. (2003).* **Growth, Development and the Accumulation of Daidzein and Genistein in the Tuberous Roots of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham].** *Suranaree J. Sci. Technol. 10:350-358.*

Abstract

Two experiments were conducted at the Suranaree University of Technology Farm, Nakhonratchasima Province to study growth, development and accumulation of daidzein and genistein in tuberous roots of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham]. Experiments were conducted between May 24, 2000 to December 30, 2002. The increment of stem diameter is linear when observed within 16 months. At 16 months old, the average diameter of the stem was 3.24 cm. The flowering of White Kwao Krua started at 5 months after planting. The average weight of tuberous roots was 249.88 g with 90.69% average moisture contents and 1.03g/cm^3 average density at 16 months. The average amount of daidzein and genistein investigated in the tuberous root at 16 months were 40.37 µg/g dry weight and 24.48 µg/g dry weight respectively

Keywords: White Kwao Krua, growth and development, daidzein and genistein

บทคัดย่อ

ทำการทดลองที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างวันที่ 24 พฤษภาคม 2543 ถึงวันที่ 30 ธันวาคม 2545 การทดลองเพื่อศึกษาการเจริญและการพัฒนาและการสะสมเดอิดซีนและเจนีสทีนในหัวกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] ผลการทดลองพบว่า ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของต้นกวาวเครือขาวมีการเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของต้นเฉลี่ยที่อายุ 16 เดือนเท่ากับ 3.24 เซนติเมตร กวาวเครือขาวเริ่มออกดอกเมื่ออายุ 5 เดือน ที่อายุ 16 เดือนให้น้ำหนักหัวเฉลี่ย 249.88 กรัม เปอร์เซ็นต์ความชื้นในหัวเฉลี่ยร้อยละ 90.69 ความหนาแน่นหัวเฉลี่ย 1.03 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และมีปริมาณเดอิดซีนและเจนีสทีน เท่ากับ 40.37 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ 24.48 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

---

[1] *สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี*

[2] *สาขาวิชาชีวเคมี สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา*

[*] *ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ*

บทนำ

กวาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณเป็นยาอายุวัฒนะ ทำให้กินได้ นอนหลับ สุขภาพร่างกายแข็งแรง ไม่มีโรคภัยเบียดเบียน นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดประโยชน์ในด้านอื่น ๆ อีกหลายประการ (อนุสารสุนทร, 2472) อาทิเช่น ช่วยบำรุงผิวพรรณให้มีน้ำมีนวล ผิวหนังเต่งตึง (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2541a) การใช้ประโยชน์จากกวาวเครือขาวเป็นยาแผนโบราณ อาจเป็นการใช้เดี่ยวเพียงอย่างเดียวหรือใช้ผสมกับสมุนไพรชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมีการใช้กวาวเครือในรูปของอาหารบำรุงสุขภาพและเครื่องสำอางอีกด้วย (อรดี สหวัชรินทร์, 2542; นิสากร ปานประสงค์, 2542 และ วิชัย เชิดชีวศาสตร์, 2541) ในปัจจุบันคณะกรรมการอาหารและยา ได้อนุญาตให้ขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของกวาวเครือขาวเป็นยาแผนโบราณประมาณ 50 ตำรับ (กระทรวงสาธารณสุข, 2542) การศึกษาวิจัยในระยะแรกเริ่มต้นจาก ธระ สุขวัจน์ (2484) พบว่าองค์ประกอบของสารในหัวกวาวเครือขาวมีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน จึงได้ศึกษาองค์ประกอบต่าง ๆ ที่สามารถนำมาทดแทนฮอร์โมนเอสโตรเจนในเพศหญิงซึ่งมีราคาแพง ปัจจุบันพบว่าสารสำคัญหลายชนิดที่เป็นองค์ประกอบในหัวกวาวเครือขาวที่มีคุณสมบัติเป็นเอสโตรเจนจากพืช (phytoestrogen) (Ingham *et al.*, 1986 และ Ingham *et al.*, 1989) องค์ประกอบส่วนใหญ่และที่สำคัญ 2 ชนิดที่พบในหัวกวาวเครือขาวคือ เดอิดซีน (daidzein) และเจนีสทีน (genistein) เป็นสารอินทรีย์ในกลุ่มของไอโซเฟลโวน (isoflavones) ที่มีคุณสมบัติการออกฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจนอย่างอ่อน ผลการศึกษาการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในสัตว์ทดลองทำให้ทราบว่า สารประกอบในกลุ่มนี้มีผลต่อร่างกายหลายประการ อาทิเช่น ลดการเกิดภาวะกระดูกพรุน (osteoporosis) ในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน (สมภพ ประธานธุรารักษ์, 2542 และ Knight and Eden, 1996) ลดการเกิดไขมันอุดตันในเส้นเลือดโดยทำให้คลอเลสเตอรอลชนิด LDL (low-density lipoprotein cholesterol) ลดต่ำลง (Anthony *et al.*, 1996) นอกจากนี้สารประกอบดังกล่าวยังมีผลยับยั้งกระบวนการเกิดมะเร็งหลายชนิด อาทิเช่น ยับยั้งการกลายลักษณะของเซลล์ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ และยังจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย (Frank *et al.*, 1994) ยิ่งไปกว่านั้น สายัณห์ สวัสดิ์ศรี และคณะ (2546) พบว่ากวาวเครือขาวสามารถป้องกันเซลล์สมองตายจากสารที่เป็นพิษต่อระบบประสาทต่าง ๆ ได้อีกด้วย

เนื่องจากมีการนำเอาหัวกวาวเครือขาวไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ มากขึ้นทั้งในประเทศและต่างประเทศ ประกอบกับกวาวเครือขาวในธรรมชาติมีปริมาณลดลง และองค์ประกอบที่สกัดแยกได้มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2541b และอรดี สหวัชรินทร์ 2541) จากผลกระทบที่เกิดขึ้นรัฐบาลจึงได้มีประกาศในพระราชกิจจานุเบกษาให้กวาวเครือขาวเป็นพืชสงวน ห้ามจำหน่ายหรือนำออกนอกประเทศ และกำลังอยู่ในระหว่างดำเนินการทางกฎหมายโดยจัดให้พืชชนิดนี้เป็นพืชหายากห้ามนำออกจากป่า ยกเว้นเมื่อได้รับอนุญาตเท่านั้น (วารสาร UPDATE, 2542) ข้อเสียของกวาวเครือขาวในธรรมชาติอีกประการหนึ่งคือ เป็นพืชซึ่งให้ผลผลิตต่ำ มีการแพร่กระจายในธรรมชาตินอย เนื่องจากการหลุดร่วงของดอกสูง ทำให้มีการติดฝักและเมล็ดน้อย (ยุทธนา สมิตสิริ และชรินทร์ วังใจ, 2529) จึงทำให้กวาวเครือขาวมีการแพร่กระจายในธรรมชาติลดจำนวนลง

ดังนั้นการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ การออกดอก การติดฝักและเมล็ด การเพิ่มขนาด น้ำหนัก และการสะสมสารประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือขาวบางชนิด เช่น สารเดอิดซีนและเจนีสทีน จะทำให้เกิดประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตหัวกวาวเครือขาว เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีปริมาณและมีคุณภาพสูง ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 วิธีการศึกษาการเจริญเติบโตของกวาวเครือขาวในแปลงทดลอง

นำต้นกล้ากวาวเครือขาวอายุ 1 เดือน ที่ได้จากการเพาะเมล็ดจำนวน 100 ต้น ลงปลูกในแปลงทดลองที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา โดยใช้ระยะปลูก 2x2 เมตร ก่อนปลูกทำค้างให้ต้นกวาวเครือขาวเลื้อยพัน โดยใช้ไม้ยูคาลิปตัสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 นิ้ว ความสูง 2 เมตร ฝังลงดิน 0.5 เมตร ให้น้ำโดยระบบน้ำหยดวันละ 2 ครั้ง (เช้าและเย็น) แต่ละครั้งนาน 2 ชั่วโมง พรวนดินและกำจัดวัชพืช พร้อมกับใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 15 กรัมต่อต้น ทุก ๆ 2 เดือน จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างทุก 4 เดือน จำนวน 4 ครั้ง ๆ ละ 10 ต้น นำไปศึกษารวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเครือเถา น้ำหนัก เปอร์เซ็นต์ความชื้น และความหนาแน่นของหัว ระยะเวลาและเปอร์เซ็นต์การออกดอก จำนวนช่อดอกต่อต้น ความยาวช่อดอก จำนวนฝักต่อช่อดอก ขนาดของฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักแห้ง 100 เมล็ดจากต้นกวาวเครือขาวที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างจำนวน 10 ต้น

การทดลองที่ 2 วิธีการหาปริมาณสาร เดอิดซีน และเจนีสทีน ในหัวกวาวเครือขาว

การวิเคราะห์หาปริมาณสารเดอิดซีนและเจนีสทีน ใช้วิธีการของ Murphy (1981) และ Frank *et al.* (1994) โดยชั่งผงกวาวเครือขาวที่อบแห้งแล้ว 5 กรัม นำไปละลายในเมทธานอล 50 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่านาน 12 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 แล้วนำสารสกัดที่ผ่านการกรองไปเซ็นตริฟิวซ์ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที นาน 12 นาที ส่วนที่ใสนำไปกรองผ่านไนลอนเมมเบรนขนาด 47 ไมโครเมตร แล้ววิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยใช้ของบริษัท shimadzu รุ่น 10AVP และ diode array เป็น detector ผ่านสารสกัดบนคอลัมน์ C18 ขนาด 8x250 มิลลิเมตร ซึ่งต่อกับการ์ดคอลัมน์ขนาด 8x25 มิลลิเมตร mobile phase ที่ใช้คือ MeOH : 100 mM. ของ (NH_4) acetate เท่ากับ 55 : 45 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อัตราการเคลื่อนที่ เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที วัดการดูดกลืนแสงของเดอิดซีนและเจนีสทีนที่ 260 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้จากการใช้ปริมาณกับสารละลายมาตรฐานของเดอิดซีนและเจนีสทีน ความเข้มข้น 2-14 พีพีเอ็ม ทำการวิเคราะห์ 3 ครั้ง ในแต่ละครั้งใช้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองที่ 1 การศึกษาการเจริญเติบโตของกวาวเครือขาวในแปลงทดลอง

1.1 การเจริญเติบโตของเครือเถา

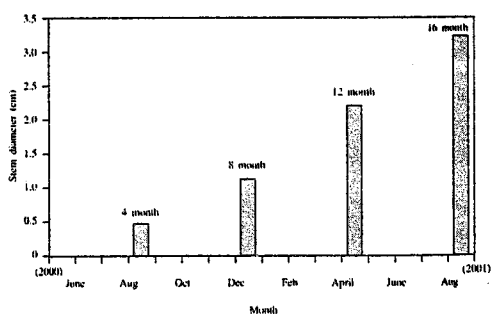
จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเครือเถา พบว่าเส้นผ่าศูนย์กลางของเครือเถาเฉลี่ยที่อายุ 4 เดือนมีค่าเฉลี่ย 0.45 เซนติเมตร และเพิ่มขึ้นเป็น 1.33, 2.43 และ 3.23 เซนติเมตร ที่อายุ 8, 12 และ 16 เดือนตามลำดับ (รูปที่ 1) เครือเถาของกวาวเครือขาวมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วโดยการเลื้อยพันไปกับค้างซึ่งเป็นเสาไม้ความสูง 2 เมตร นอกจากเครือเถาแรกที่งอกออกจากเมล็ดแล้วยังมีเครือเถาที่เกิดจากตาข้างอีกเป็นจำนวนมาก ทำให้กวาวเครือขาวมีทรงพุ่มที่แน่นทึบและเจริญเติบโตเลื้อยพันไปยังต้นข้างเคียงซึ่งมีระยะห่าง 2 เมตร ทำให้ไม่สามารถวัดความยาวของเครือเถาได้ ดังนั้นในการทดลองจึงทำการศึกษาการเจริญเติบโตของเครือเถาโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเครือเถาที่ระดับผิวดินที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือนได้ผลดังนี้ (รูปที่ 1)

เส้นผ่าศูนย์กลางของเครือเถามีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 4-8 เดือน และในช่วง 9-16 เดือน จะมีอัตราการเพิ่มที่ต่ำกว่า เนื่องจากในระยะแรกของการเจริญเติบโตเครือเถาซึ่งมีอายุน้อยและเริ่มปลูกในช่วงต้นฤดูฝน การเจริญเติบโตของเครือเถาจึงรวดเร็ว เมื่อเครือเถาอายุมากขึ้นอัตรา

การเจริญเติบโตจึงช้าลง กวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองไม่มีการผลัดใบพร้อมกันทั้งต้น จะมีเพียงใบแก่ที่หมดอายุและหลุดร่วงไปตามกาลเวลาเท่านั้น จึงมีใบเขียวตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา ซึ่งแตกต่างจากกวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในธรรมชาติ จะมีการผลัดใบจนหมดต้นในช่วงเดือนธันวาคมถึงมกราคม วรรณลักษณ์ จันทร์เงิน และ ยุทธนา สมิตะสิริ (2530) พบว่าในธรรมชาติกวาวเครือขาวเป็นพืชที่มีการผลัดใบในช่วงเดือนธันวาคมถึงมกราคม ซึ่งเป็นช่วงที่แห้งแล้งปริมาณน้ำฝนและมีความชื้นในอากาศต่ำ กวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในแปลงทดลองนั้นมีการให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ ดินมีความชุ่มชื้นตลอดทั้งปี เครือเถาและใบมีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง จึงไม่มีการผลัดใบ

1.2 การออกดอก การติดฝักและเมล็ด

กวาวเครือขาวออกดอกในระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2544 และมกราคม 2545 หรือ 6 เดือนนับจากวันเพาะเมล็ด จำนวนต้นที่ออกดอกคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การออกดอกในแต่ละเดือนมีค่าเท่ากับ 8, 47 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 2 และ 3) รวมจำนวนต้นที่ออกดอกทั้งหมด 61 เปอร์เซ็นต์ จำนวนช่อดอกเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 41.90 ช่อ และความยาวเฉลี่ยของช่อดอกเท่ากับ 36.80 เซนติเมตร จำนวนฝักเฉลี่ยต่อช่อดอกเท่ากับ 23.40 ฝัก ความกว้างเฉลี่ยของฝักเท่ากับ 0.95 เซนติเมตร ความยาวเฉลี่ยของฝักเท่ากับ 6.52 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ยต่อ 100 เมล็ด เท่ากับ 2.52 กรัม (ตารางที่ 1) ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มออกดอกในเดือนพฤศจิกายนจนกระทั่งเมล็ดแก่ในเดือนมีนาคม ประมาณ 4 เดือน จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อทำการเปรียบเทียบกับการออกดอกของกวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในธรรมชาติที่ยุทธนา สมิตะสิริ และชรินทร์ วังใจ (2529) รายงานว่ามีการออกดอกในเดือนกุมภาพันธ์ ช้ากว่ากวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในแปลงทดลองประมาณ 2.5 เดือน เมื่อเปรียบเทียบจากผลของการทดลองของยุทธนา สมิตะสิริ และชรินทร์ วังใจ (2529) แสดงให้เห็นว่านอกจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมและความยาวของช่วงแสงจะมีผลต่อการออกดอกของกวาวเครือขาวแล้ว ปัจจัยทางด้านการเกษตรกรรม ระยะปลูกที่เหมาะสมเพื่อลดการแข่งขันในเรื่องแสงแดดทำให้กวาวเครือเจริญเติบโตได้เต็มที่ การให้น้ำอย่างเพียงพอ การใส่ปุ๋ยเพื่อปรับปรุงบำรุงดิน และการกำจัดวัชพืชในระหว่างที่กวาวเครือเจริญเติบโต ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้จะทำให้ต้นกวาวเครือขาวมีความสมบูรณ์ทางสรีรวิทยาที่เหมาะสมต่อการออกดอกและพัฒนาไปเป็นฝักและเมล็ด สำหรับจำนวนช่อดอก ต่อต้น ความยาวของช่อดอก จำนวนฝักต่อช่อดอก ขนาดของฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักแห้ง 100 เมล็ด กวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองจะมีค่าต่างๆ เหล่านี้สูงกว่ากวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในธรรมชาติ (ตารางที่ 1)



Figuer 1. The stem diameter of the White Kwao Krua (cm) at 4 , 8, 12 and 16 months.

1.3 การเจริญเติบโตของหัวกวาวเครือขาว

การเจริญเติบโตของหัวกวาวเครือขาวมีการเปลี่ยนแปลงดังนี้ น้ำหนักหัวเฉลี่ยที่อายุ 4 เดือนเท่ากับ 38.59 กรัม และเพิ่มขึ้นเป็น 99.13, 166.85 และ 249.88 กรัม เมื่อต้นกวาวเครือขาวอายุ 8, 12 และ 16 เดือนตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าอัตราการเพิ่มน้ำหนักเป็นไปอย่างสม่ำเสมอ เปอร์เซ็นต์ความชื้นเฉลี่ยของหัวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือนเท่ากับ 90.29, 87.56, 89.23 และ 90.69 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ความหนาแน่นเฉลี่ยของหัวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือนเท่ากับ 0.98, 0.96, 1.02 และ

1.03 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ดังนั้นเมื่อหัวกวาวเครือขาวอายุมากขึ้นจะมีการสะสมมวลสารต่างๆ มากขึ้น ทำให้มีความหนาแน่นสูงขึ้น (รูปที่ 4, 5 และ 6)

ผลการทดลองที่ 2 ปริมาณสารเดอิดซีนและเจนีสทีน จากหัวกวาวเครือขาวที่เจริญเติบโตในแปลงทดลอง

การสะสมสารเดอิดซีนและเจนีสทีนในหัวจากต้นกวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยการเก็บตัวอย่างหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4, 8, 12 และ 16 เดือน พบว่าปริมาณสารเดอิดซีนในหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4 เดือนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 13.27 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเพิ่มขึ้นเป็น 18.96, 28.38 และ 40.37 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อหัวกวาวเครือขาวมีอายุ 8, 12 และ 16 เดือน ตามลำดับ สำหรับปริมาณสารเจนีสทีนในหัวกวาวเครือขาวที่อายุ 4 เดือน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.81 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเพิ่มขึ้นเป็น 12.04, 14.57 และ 24.48 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อหัวกวาวเครือขาวมีอายุ 8, 12 และ 16 เดือน ตามลำดับ (รูปที่ 7) โดยมีอัตราการเพิ่มเฉลี่ยต่อเดือนของสารเดอิดซีนและเจนีสทีนเท่ากับ 6.31 และ 3.68 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ดังนั้นการสะสมสารเดอิดซีนและเจนีสทีนเกิดขึ้นตั้งแต่ก่อนอายุ 4 เดือน จากนั้นปริมาณสารจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อต้นกวาวเครือขาวอายุมากขึ้น ในระยะ 16 เดือนแรกจะมีการเพิ่มเป็นสัดส่วนโดยตรงกับเวลาที่ใช้ปลูก จากลักษณะการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารเดอิดซีนและเจนีสทีนจะเห็นว่าเมื่อกวาวเครือขาวเจริญเติบโตมากขึ้นเครือเถาและหัวมีขนาดเพิ่มขึ้น การสะสมสารเดอิดซีนและเจนีสทีนจะเพิ่มสูงขึ้นด้วย ดังนั้นในการนำหัวกวาวเครือขาวที่มีอายุมากไปใช้ประโยชน์จะทำให้ได้รับสารเดอิดซีนและเจนีสทีนเพิ่มมากขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับในตำรายาจากหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร (2472) แนะนำให้ใช้หัวกวาวเครือขาวที่มีอายุมากจะให้สรรพคุณยาที่ดี ข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณสารทั้ง 2 ชนิดเป็นสิ่งสำคัญอีกประการหนึ่งที่จะนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่จำเป็นสำหรับการผลิตหัวกวาวเครือขาวเป็นการค้าต่อไป

เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณสารเดอิดซีนและเจนีสทีนในทุก ๆ อายุทำให้พบว่าปริมาณการสะสมสารเดอิดซีนมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าสารเจนีสทีน ทั้งนี้อาจอธิบายได้โดยอ้างถึงวิถีของกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthetic pathway) ทั้งนี้เพราะ 5, 7, 4'-trithydroxyflavanone (naringenin) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในการสังเคราะห์สารเจนีสทีนนั้นสามารถถูกนำไปใช้เป็นสับสเตรทในการสังเคราะห์สารอื่น ๆ อีก 2 ชนิดคือ ไดไฮดรอกซีเฟลโวนอล (dihydroxyflavonol) โดยเอนไซม์ flavone

Figure 2. The White Kwao Krue at 5 month old.

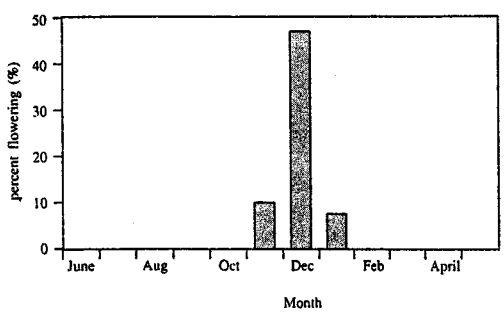


Figure 3. Time and the percentage of flowering.

Table 1. Number of inflorescence per plant, inflorescence length, number of pod per inflorescence, pod size, number of seed per pod and weight of 100 seeds.

Plant No.	No. of inflorescence per plant	inflorescence length (cm)	No. of pod per inflorescence	Pod size		No. of seed per pod	Weight of 100 seeds (gm)
				Width (cm)	Length (cm)		
1	47.00	36.90	27.80	0.89	6.7	4.6	2.38
2	42.00	37.80	21.40	0.94	6.41	4.93	2.41
3	51.00	39.00	24.90	0.93	6.12	4.5	2.57
4	39.00	34.40	22.90	0.94	6.7	4.13	2.19
5	45.00	32.20	23.70	0.96	7.08	4.75	2.48
6	35.00	39.00	21.90	1.08	5.46	4	2.53
7	37.00	39.60	25.60	0.84	6.91	4.4	2.69
8	35.00	34.50	26.40	0.88	6.88	4.67	2.55
9	40.00	40.20	20.20	1.03	6.12	5.4	2.5
10	48.00	34.50	19.50	1.03	6.86	4.5	2.86
mean	41.90	36.80	23.40	0.95	6.52	4.59	2.52
Sd	±5.65	±2.74	±2.74	±0.08	±0.50	0.40	0.18

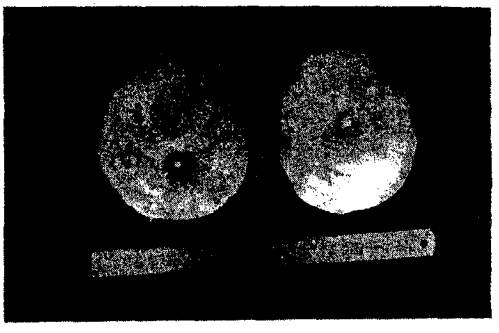


Figure 4. The tuberous root of White Kwao Krue at 16 month old.

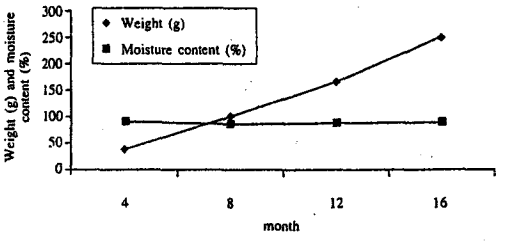


Figure 5. Weight and moisture content of tuberous root of White Kwao Krue at 4, 8, 12 and 16 months.

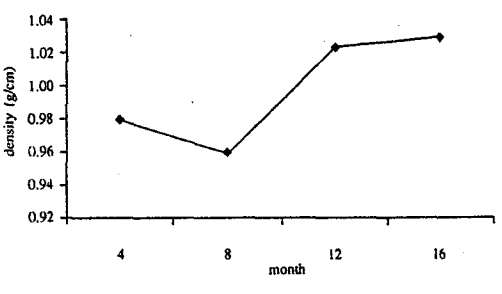


Figure 6. Density of tuberous root of White Kwao Krue at 4, 8, 12 and 16 months.

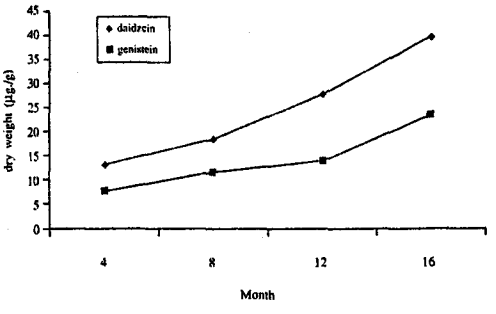


Figure 7. The amount of daidzein and genistein in tuberous root of White Kwao Krue at 4, 8, 12 and 16 months.

3-hydroxylase และการสังเคราะห์สารเฟลโวน (flavone) โดยเอนไซม์ flavone synthase (รูปที่ 8) (Yu *et. al.*, 2000) ดังนั้นจึงทำให้เกิดการแข่งขันกันระหว่างเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้กับเอนไซม์ Isoflavone synthase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยน 5, 7, 4'-trithydroxyflavanone ไปเป็นเจนิสไตน์ แต่การสังเคราะห์สารเดอิดซีนนั้นใช้ 7, 4'-dihydroxyflavanone (liquiritigenin) ซึ่งสับสเตรทชนิดนี้มีความจำเพาะต่อเอนไซม์ isoflavone synthase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยน 7, 4'-dihydroxyflavanone ไปเป็นสารเดอิดซีนเท่านั้นจึงไม่เกิดการแข่งขันกับเอนไซม์ชนิดอื่นจึงมีผลทำให้ปริมาณสารเดอิดซีนสูงกว่าสารเจนีสทีน

สรุปและข้อเสนอแนะ

1. เส้นผ่าศูนย์กลางของเครือเถา น้ำหนักหัวกวาวเครือขาว เปอร์เซ็นต์ความชื้นเฉลี่ยของหัวกวาวเครือขาวและความหนาแน่นเฉลี่ยของหัวกวาวเครือขาว จะเพิ่มขึ้นเมื่อกวาวเครือขาวมีอายุมากขึ้น

2. กวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองส่วนใหญ่ออกดอกในเดือนธันวาคมหรือมีอายุประมาณ 6 เดือนนับจากวันเพาะเมล็ด จำนวนต้นที่ออกดอกคิดเป็น 61 เปอร์เซ็นต์ จำนวนช่อดอกเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 41.90 ช่อดอก น้ำหนักเฉลี่ย 100 เมล็ดเท่ากับ 2.52 กรัม และปริมาณสารเดอิดซีนและเจนีสทีนในหัวกวาวเครือขาวเพิ่มมากขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้น ควรติดตามปริมาณเดอิดซีนและเจนีสทีนที่อายุมากกว่า 16 เดือน

3. การปลูกกวาวเครือขาวควรใช้ระยะปลูกไม่น้อยกว่า 2x2 เมตร เพราะเครือเถากวาวเครือขาวมีการเจริญเติบโตรวดเร็วมาก และควรมีการศึกษาเกี่ยวกับระยะปลูกที่เหมาะเพื่อให้ได้ผลผลิตสูง

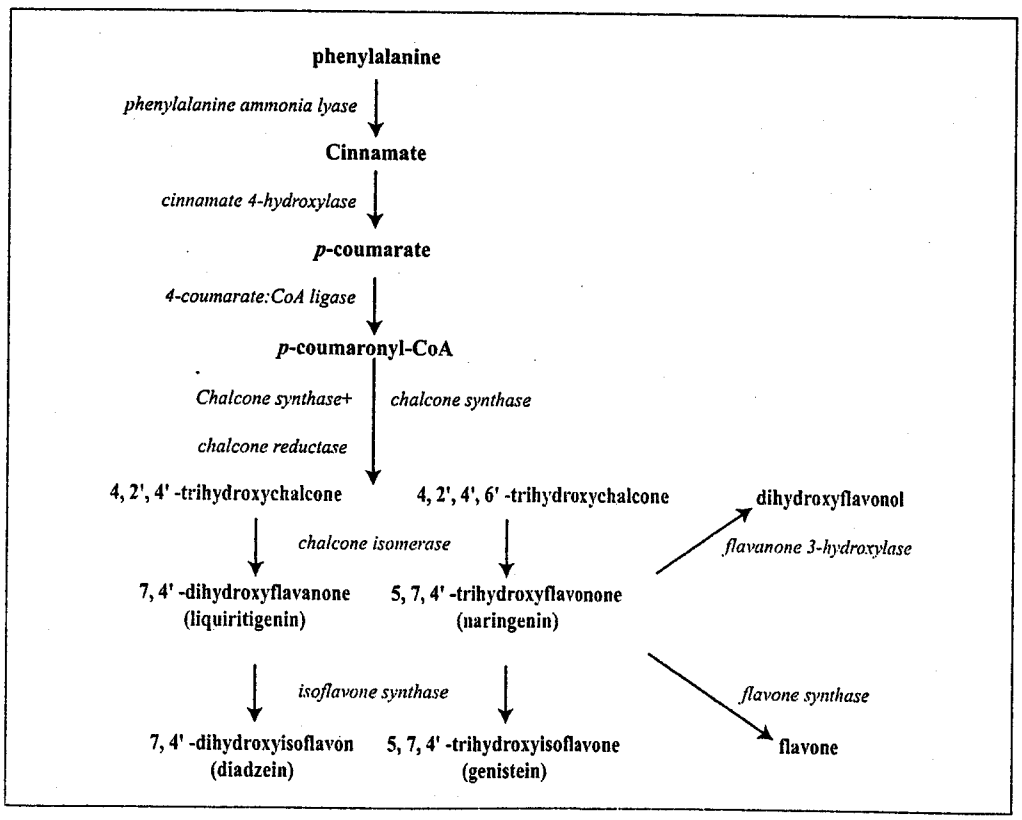


Figure 8. Biosynthetic pathway of daidzein and genistein.

4. การปลูกกวาวเครือขาวเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ควรเริ่มปลูกกวาวเครือขาวในต้นฤดูฝน เพื่อให้มีน้ำเพียงพอต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ และพร้อมที่จะออกดอกในเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนธันวาคมพร้อมกัน

5. การให้น้ำอย่างเพียงพอในระยะการออกดอกและติดฝักจะทำให้การติดฝักและอัตราการเจริญของเมล็ดสูงขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. (2542). สธ. ย้ำจุดยืนต่อการพัฒนาแพทย์แผนไทยและสมุนไพร: กรณีศึกษากวาวเครือ. เอกสารแถลงข่าวกระทรวงสาธารณสุข 7 ตุลาคม.

วารสาร UPDATE. (2542). เปิดใจ รศ.ดร.วิชัย เชิดชีวศาสตร์ ผู้เปิดประเด็นกวาวเครือสู่สังคมไทย. กันยายน-ตุลาคม หน้า 47-51.

ชรินทร์ วังใจ และยุทธนา สมิตะสิริ. (2530a). ชีววิทยาบางประการของกวาวขาว: 5) การเจริญของกวาวขาวในธรรมชาติ. ในเอกสารประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 13. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 476-477.

ชรินทร์ วังใจ และยุทธนา สมิตะสิริ. (2530b). ชีววิทยาบางประการของกวาวขาว: 4) การเพาะเมล็ดกวาวขาวและการงอก. ในเอกสารประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 13. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 474-475.

ธระ สุขวัจน์. (2484). รายงานเบื้องต้นส่วนของกวาวขาวที่แสดงฤทธิ์ในเชิง Oestrogenic. จดหมายเหตุฯ แพทยสมาคม. 24(2):83-91.

นิสากร ปานประสงค์. (2542). กวาวเครือ ความหวังสมุนไพรไทย บทความพิเศษ. วารสาร UPDATE. กันยายน-ตุลาคม. หน้า 40-45.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. (2541a). การใช้กวาวเครือในแพทย์แผนไทยและแพทย์พื้นบ้าน. ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ. กรุงเทพฯ: สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์. หน้า 1-8.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. (2541b). ปัญหาการใช้กวาวเครือของประชาชนชาวไทยและประเทศไทย. ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ. กรุงเทพฯ: สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์. หน้า 8-12.

ยุทธนา สมิตะสิริ และชรินทร์ วังใจ. (2529). ชีววิทยาบางประการของกวาวขาว: 1) ดอก ฝัก และเมล็ด. ในเอกสารประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 12. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. หน้า 264-265.

วรรณลักษณ์ จันทร์เงิน และยุทธนา สมิตะศิริ. (2530). ชีววิทยาบางประการของกวาวขาว: 2) ใบและการเจริญ. ในเอกสารประกอบการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. หน้า 470-471.

วิชัย เชิดชีวศาสตร์. (2541). ข้อเสนอแนะและทิศทางการวิจัยกวาวเครือขาวในอนาคต. ในเอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องกวาวเครือ. กรุงเทพฯ: สถาบันการแพทยแผนไทย. กรมการแพทย์. หน้า 36-38.

สายัณห์ สวัสดิ์ศรี, บัณฑิต จันทะยานี, สุรพจน์ วงศ์ใหญ่, วันเพ็ญ แย้มขุนทอง และ Niel Sidell. (2546). กวาวเครือขาวช่วยป้องกันเซลล์สมองบาดเจ็บใน human neuroblastoma cells. ในเอกสารประกอบการสัมมนาการเผยแพร่ผลงานวิจัยด้านการสมุนไพร กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ หน้า 122-136.

สมภพ ประธานธุรารักษ์. (2542). กวาวเครือและไฟโตรเอสโตรเจน. ใน ณัฐนันท์ สินชัย พานิช และคณะ. บรรณาธิการ. การประชุมวิชาการเภสัชกรรมประจำปี 2542:

เภสัชกรพัฒนาเพื่อการพึ่งพาตนเอง. กรุงเทพฯ: เภสัชกรรมสมาคมแห่งประเทศไทย. หน้า 25-41.

อรดี สหวัชรินทร์. (2541). แนวทางในการคัดเลือกพันธุ์ ขยายพันธุ์และการปลูกกวาวเครือ.ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ. กรุงเทพฯ: สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์. หน้า 37-43.

อรดี สหวัชรินทร์. (2542). "กวาวเครือ" สมุนไพรครอบจักรวาล. วารสารเคหการเกษตร. 23(3):127-135.

อนุสารสุนทร. หลวง. (2472). ตำรายาหัวกวาวเครือ. เชียงใหม่: โรงพิมพ์อุปติพงศ์.

Anthony, M.S., Clarkson, T.B. and Hughes, C.L. (1996). Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertalrhesus monkeys. J. Nutrition. 126(1):43-50.

Frank, A.A., Custer, L.J., Cerna, C.M., and Narala, K.K. (1994). Quantitation of Phytoestrogens in Legumes by HPLC. J. Agri. Food Chem. 42:1905-1913.

Ingham, J.L., Tahara, S., and Dziedzic, S.Z. (1989). Minor Isoflavones form the root of *Pueraria mirifica*. Z. Naturforsch. 44c:742-726.

Knight, D.C. and Eden, J.A. (1996). A review of the clinical effects of phytoestrogens. Obstetrics & Gynecology. 87(5):897-904.

Murphy, P.A. (1981). Separation of Daidzein and their aglucones, and coumesterol by gradient high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography. 211:166-169.

Yu, O., Jung, W., Shi, J., Croes, R.A., Farder, G.M., MaGonigle, B. and Odell. J.T. (2000). Production of the isoflavones genistein and Daidzein in non-legume dicot and monocot tissues. Plants Physiology. 124:781-793.

Proceedings of The 16th International Microscopy Congress
03-08 September 2006, Sapporo, Japan

SEM STUDY ON THE EFFECT OF COMPLETE FERTILIZER CALCIUM – BORON AND NAA ON PHYSIOLOGY OF FLOWERING FOR POD AND SED SETTING OF THE WHITE KWAO KRUA

Manakasem Yuvadee[1]* and Porntip Chanrat[1]
[1]School of Crop Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology,Nakhon Ratchasima 30000, Thailand
**Correspondence: yuvadee@g.sut.ac.th*

Introduction

The white Kwao Krua (*Pueraria candolli* Grah. var. mirifica) is an outstanding medicinal plant native to Thailand. Problems in their pod and seed setting cause their seedlings to have a very high cost. An investigation of factors affecting the physiology of flowering, pod and seed setting should demonstrate how to solve these problems. Factors affecting the physiology of flowering, emphasizing on minerals and plant growth regulator were studied with a SEM technique.

Materials and Methods

The experiment was conducted during the years 2002-2004 at the Suranaree University of Technology Farm. A factorial experimental design in RCBD (Randomized Complete Block Design) with 4 replications was used to study the system. The treatments are shown in Table 1. The treatments were given at the young fully expanded leaf stage and at the inflorescence primordial induction stage. The data were collected at 3 weeks after the last treatment. A SEM technique [1] was used to study the physiology of flowering, leading to determination of the quantity and quality of pod and seed settings.

Results and Discussion

T8 gave a statistically significant difference to the mean, and the highest number of inflorescences per plant [Figure 1], number of pods per inflorescence [Figure 2], number of seeds per pod [Figure 3], and weight per 100 seeds [Figure 4]. There are 10 stages of flower development [Figure 5-14]. Table 1. shows the number of days for primordia to change by each treatment. NAA promoted flower bud initiation. NAA together with high P and boron helped flower development [2,3]. The initiation and the development of flower in the White Kwao Krua had the same pattern as the plants in the sub family Papilionideae, family Leguminosae [4].

Table 1. The factorial in RCBD experimental design and the number of days to flower of each treatment counted from the first treated.

Treatment	Material	The number of days to flower
T1	control (not treated)	235.75 c[1]
T2	12-24-12 (N-P-K) 35 kg/rai*	226.75 a
T3	10 ppm calcium-boron (CaB)	238.25 d
T4	12-24-12 (N-P-K) 35 kg/rai*+10 ppm CaB	234.50 c
T5	100 ppm NAA	231.00 b
T6	12-24-12 (N-P-K) 35 kg/rai*+100 ppm NAA	231.00 b
T7	10 ppm CaB+100 ppm NAA	235.00 c
T8	12-24-12 (N-P-K) 35 kg/rai*+10 ppm CaB+ 100 ppm NAA	234.75 c

1 In a column, means followed by a common later are not significantly different at 5% level by DMRT,
*6.25 rai = 1 ha

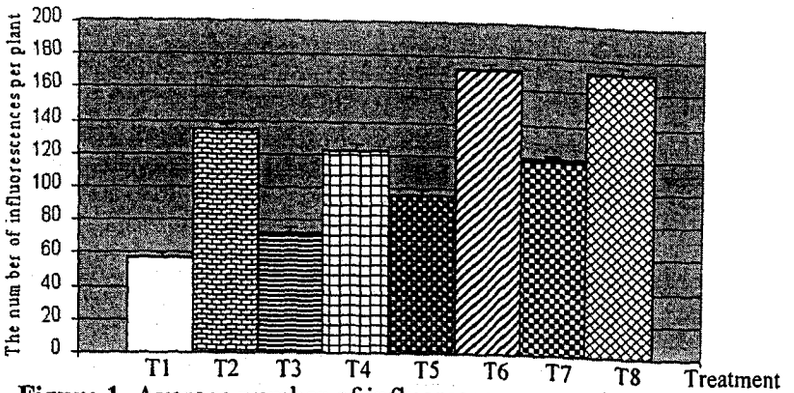


Figure 1. Average number of influorescence per plant; (I=SD)

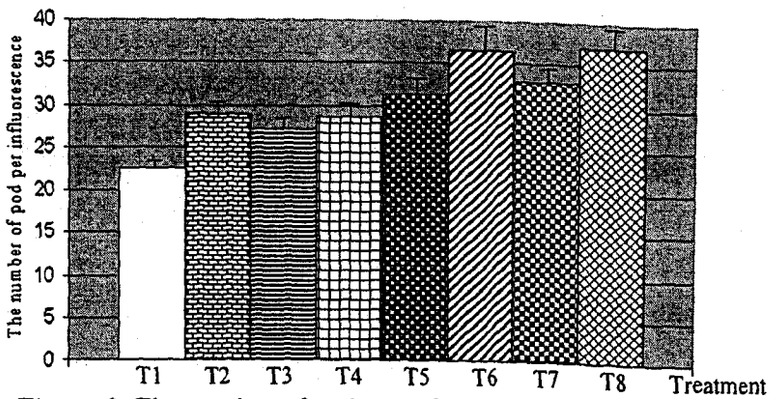


Figure 2. The number of pod per influorescence; (I=SD)

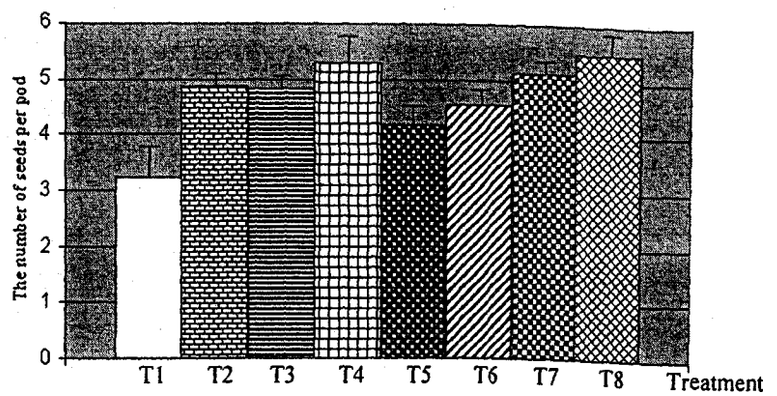


Figure 3. The number of seed per pod; (I=SD)

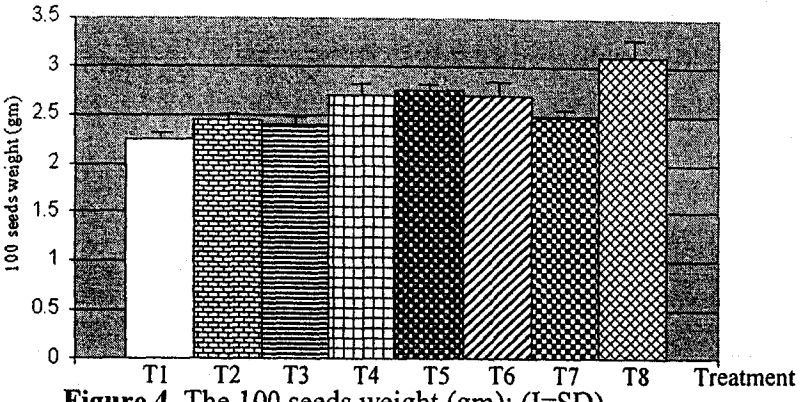
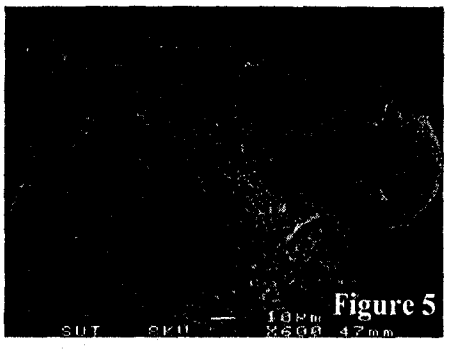
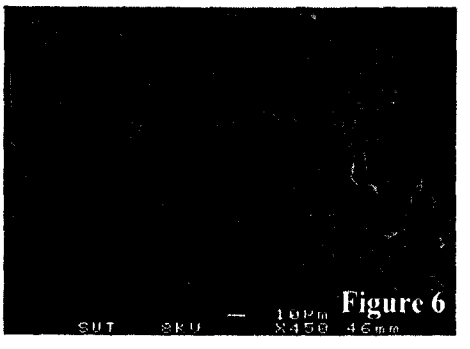
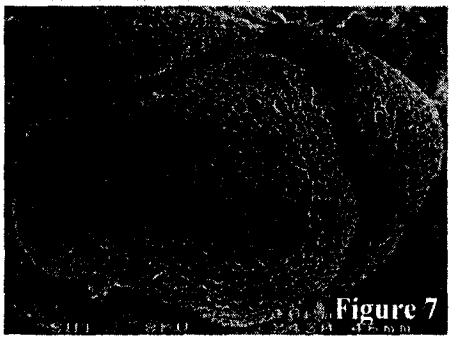
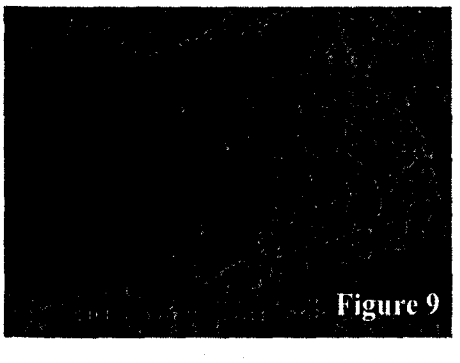


Figure 4. The 100 seeds weight (gm); (I=SD)









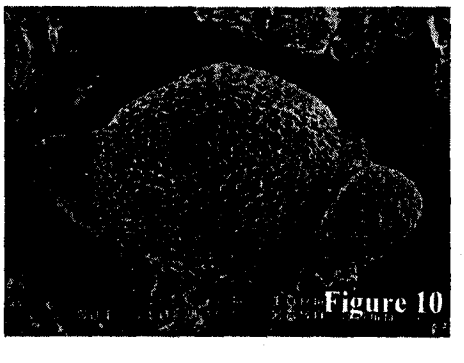
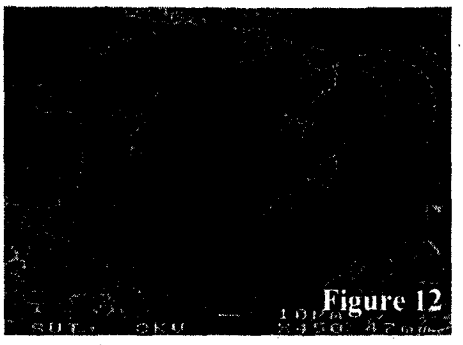
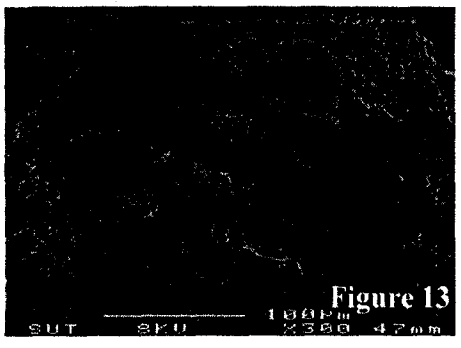


Figure 5. Vegetative, leaf primordial (LP) and inflorescence primordia (IP)
Figure 6. IP induction, round mounding of IP and extended LP
Figure 7. IP initiation clearly initiation IP and bract primordia (BP)
Figure 8. The development of IP and BP
Figure 9. Floral primordia (FP) induction, the development of FP
Figure 10. The extension of FP and the development of sepal primordia (S)





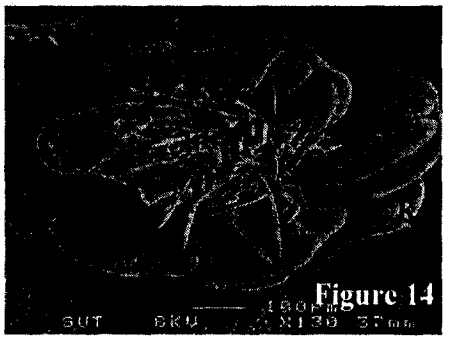


Figure 11. Carpel and petal induction, carpel primordia (CP) and petal primordia (PP)
Figure 12. Petal and stamen initiation, vexillum petal(V), wing petal(W) and keel petal(K)
Figure 13. All organ development, growth of V, W, K and stamen with 5 outer anther (5A) and 5 inner anther (5a)
Figure 14. End of flower development, epidermal hairs (EH)

Acknowledgements

We acknowledge the Suranaree University of Technology for equipments and financial support.

References

[1] Manakasem Y. Proc. 15th Int. Microsc. Cong., Cross R., ed. Durban, South Africa, **2** (2002) 681-682
[2] Maxie E.C. and Crane J.C. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. **92** (1967) 255-267
[3] Marschner. Mineral nutrition of higher plant. Second edition. Academic Press, New York. 1995.
[4] Tucker S.C. Floral development in legumes. Plant physiology. **131** (2003) 911-926

Effects of Manure, Chemical Fertilizer, NAA and GA_3 on Growth and Accumulation of Phytosterol in the Tuberous Roots of Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) and the Effects of this Phytosterol on Female Rat (*Rattus norvegicus*) Uterine Tension

C. Laguanwan[1] and Y. Manakasem[1]*

[1]School of Crop Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, 111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

S. Kupittayanant[2]

[2]School of Biology, Institute of Science, Suranaree University of Technology, 111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

* Corresponding author : yuvadee@sut.ac.th

Abstract

Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) contains phytosterol which can use as primary substances for birth control in women. The experiment was conducted to increase phytosterol in the tuberous root of Red Kwao Krua at the Suranaree University of Technology during 2005-2006. The experiment was a factorial in RCBD with 9 treatments and 3 replications of manure, chemical fertilizer, NAA and GA_3. NAA 100 ppm gave the highest stem diameter. Manure at the rate of 1,500 kg/rai plus NAA 100 ppm and 25 kg/rai chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm gave the highest amount of phosphorus in tuberous roots. Twenty five kg/rai chemical fertilizer plus NAA 100 ppm and 25 kg/rai chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm gave the highest amount of phytosterol in tuberous roots. The Red Kwao Krua control and the Red Kwao Krua treated with 25 kg/rai chemical fertilizer showed significant increase of uterine tension in the female rat. The experiment indicated that chemical fertilizer, NAA and GA_3 can increase phytosterol in the tuberous root of Red Kwao Krua. In conclusion, the female rat uterine tension increases after treated with phytosterol from the tuberous root of Red Kwao Krua.

Keywords: Red Kwao Krua, manure fertilizer, chemical fertilizer 15-15-15, NAA, GA_3, phytosterol, uterine tension

Introduction

The Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) is an outstanding medicinal plant native to Thailand. It contains varieties of substances which are useful for health as a medicine, food additive and cosmetic. Therefore, the Red Kwao Krua has been continuously dug from the forests. This study is to increase the quality of the Red Kwao Krua particularly to increase the amount of phytosterol, the primary substances for birth control in women [8, 9].

Materials and Methods

The experiment was conducted during 2005-2006 at the Suranaree University of Technology Farm. The experiment was a factorial in RCBD (Randomized Complete Block Design) with 9 treatments and 3 replications. The treatments are shown in Table 1. The treatments were given by spraying the plants at the young fully expanded leaf stage. Data on the stem diameter, the amount of phosphorus and the amount of phytosterol were collected at 3 weeks after the last treatment. The colorimetric determination of phosphorus by the spectrophotometer [6] was applied. The TLC finger prints were used to study the accumulation of phytosterol in the tuberous root of the Red Kwao Krua (Figure 1) extracted with 70% methanol [2] by comparison with the standard phytosterol. The phytosterol content was then measured by Flous-Multi Imager. Uterine tension in the female rat analogs was measured by Power Lab System [1] to check the suitability of the phytosterol as a birth control agent.

Fig. 1. The tuberous root of the Red Kwao Krua

Results and Discussion

The treatment with NAA 100 ppm (T2) gave the highest stem diameter, which was 31.84 mm. Manure fertilizer at the rate of 1,500 kg/rai plus NAA 100 ppm (T5) and 25 kg/rai chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm (T9) gave the highest amount of phosphorus in tuberous roots, 0.354% (Table 1). Twenty five kg/rai chemical fertilizer plus NAA 100 ppm (T8),and 25 kg/rai chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm (T9) gave the highest amount of phytosterol in tuberous roots, 152.26 and 138.17 µg/g in dry weight respectively (Figure 2-3). Cycloartenol is a precursor of phytosterol synthesis produced from squalene and Acetyl-CoA, the product of respiration. A larger amount of phosphorus should result in a larger amount of pytosterol. This is because phosphorus is a component of ATP, the source of energy for photosynthesis. A high rate of photosynthesis should result in a high assimilation and therefore, the plant can synthesis more phytosterol [4, 6, 7].

The extracts from the Red Kwao Krua control (T1) and the Red Kwao Krua treated with 25 kg/rai chemical fertilizer (T7) at a dose of 200 µL each showed a significantly increased area under the curve of uterine tension in the female rat of 138.77 and 116.06 respectively ($P<0.05$) (Table 2 and Figure 4-5). A larger area under the curve indicates that there is more uterine tension in the female rat. Sukawanitsilp [5] found that the active agent of estrogen in the birth-control pill increased uterine tension. The experiment of Salah, Gathumbi, Vierling and Wagner [3] found that the extract solution from *Ruellia praetermissa* increased the female rat uterine tension due to estrogen compounds such as β-sitosterol and/or stigmasterol.

The results demonstrated that a chemical fertilizer (N-P-K=15-15-15), NAA and GA_3 can increase phytosterol in the tuberous root of Red Kwao Krua. The area under the curve of rat uterine tension increases after treatment with phytosterol from the tuberous root of Red Kwao Krua. This implies that Red Kwao Krua extracts contained phytoestrogens.

Table 1. The factorial in RCBD, stem diameter, and amount of phosphorus.

Treatment		Stem diameter	Phosphorus
T1	Control (not treated)	31.09 cd[1]	0.267 ab[1]
T2	100 ppm NAA	31.84 d	0.283 ab
T3	100 ppm GA_3	24.75 bcd	0.263 ab
T4	Manure fertilizer 1,500 kg/rai*	23.71 bcd	0.300 ab
T5	Manure fertilizer 1,500 kg/rai*+100 ppm NAA	14.21 a	0.354 b
T6	Manure fertilizer 1,500 kg/rai*+100 ppm GA_3	25.17 bcd	0.225 a
T7	15-15-15 (N-P-K) 25 kg/rai*	23.75 bcd	0.225 a
T8	15-15-15 (N-P-K) 25 kg/rai*+100 ppm NAA	17.88 ab	0.275 ab
T9	15-15-15 (N-P-K) 25 kg/rai*+100 ppm GA_3	22.75 bc	0.354 b

[1]In a column, means followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT, *6.25 rai = 1 ha

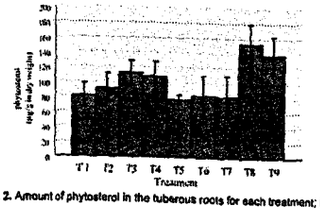


Fig. 2. Amount of phytosterol in the tuberous roots for each treatment; ($\bar{x} \pm Sd$)

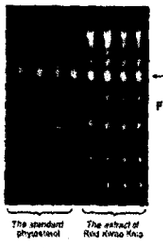


Fig. 3. Chromatrogram of Thin Layer Chromatography of the standard phytosterol compared with the extract of Red Kwao Krua.

Table 2. Area under the curve (AUC) of uterine tension of the control group compared with the methanol extract of Red Kwao Krua.

Treatment	AUC ± SD
Control	100
T1	138.77 ± 14.83 *
T2	166.03 ± 37.76
T3	108.69 ± 4.88
T4	128.64 ± 15.31
T5	130.63 ± 19.00
T6	137.98 ± 35.72
T7	116.06 ± 5.20 *
T8	120.03 ± 15.78
T9	156.76 ± 36.31

* $p < 0.05$ statistical significant levels

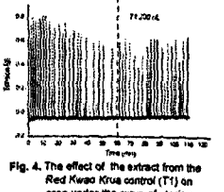


Fig. 4. The effect of the extract from the Red Kwao Krua control (T1) on area under the curve of uterine tension in the female rat.

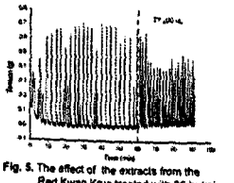


Fig. 5. The effect of the extracts from the Red Kwao Krua treated with 25 kg/rai chemical fertilizer (T7) on area under the curve of uterine tension in the female rat.

Acknowledgement

We acknowledge Suranaree University of Technology and the Thailand Research Fund (TRF) for equipment and financial support.

Literature Cited

[1] Longbottom, E.R., Luckas, M.J.M., Kupittayanant, S., Sedrick, E., Shmigol, T. and Wray, S. 2000. The effects of inhibiting myosin light chain kinase on contraction and calcium signalling in human and rat myometrium. Europe Journal Physiology. 440: 315-321.

[2] Ruksilp, T. 1995. Chemical constituents of the tuberous roots of *Butea superba* Roxb, M.S.Thesis. (Chemistry) Chulalongkorn University.

[3] Salah, A.M., Gathumbi, J., Vierling, W. and Wagner, H. 2002. Estrogenic and cholinergic properties of the methanol extract of *Ruellia praetermissa* Scelnf. ex. Lindau (Acanthaceae) in female rats. Journal of Phytomedicine. (9): 52-55.

[4] Seigler, D.S. 1995. Plant secondary metabolism. n.p.: United States of America.

[5] Sukawanitsilp, N. 2001. Emergency Contraceptives. [On-line]. Available : www.clinicrak.com

[6] Suwanawong, S. 2004. Plant nutrition analysis. Major of Botany. Faculty of Science. Kasetsart University.

[7] Taiz, L. and Zeiger, E. 1991. Plant physiology. California: The Benjamin / Cummings.

[8] 2003. www.sirisophia.com

[9] 2004. www.thai.net

Effects of Manure, Chemical Fertilizer, NAA and GA_3 on Growth and Accumulation of Phytosterol in the Tuberous Roots of Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) and the Effects of this Phytosterol on Female Rat (*Rattus norvegicus*) Uterine Tension

C. Laguanwan and Y. Manakasem*
School of Crop Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, 111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand
S. Kupittayanant
School of Biology, Institute of Science, Suranaree University of Technology
111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

Keywords: Red Kwao Krua, manure fertilizer, chemical fertilizer 15-15-15, NAA, GA_3, phytosterol, uterine tension

Abstract

Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) contains phytosterol which can use as primary substances for birth control in women. The experiment was conducted to increase phytosterol in the tuberous root of Red Kwao Krua at the Suranaree University of Technology during 2005-2006. The experiment was a factorial in RCBD with 9 treatments and 3 replications of manure, chemical fertilizer, NAA and GA_3. NAA 100 ppm gave the highest stem diameter. Manure at the rate of 1,500 kg/rai plus NAA 100 ppm and 25 kg/rai chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm gave the highest amount of phosphorus in tuberous roots. Twenty five kg/rai chemical fertilizer plus NAA 100 ppm and 25 kg/rai chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm gave the highest amount of phytosterol in tuberous roots. The Red Kwao Krua control and the Red Kwao Krua treated with 25 kg/rai chemical fertilizer showed significant increase of uterine tension in the female rat. The experiment indicated that chemical fertilizer, NAA and GA_3 can increase phytosterol in the tuberous root of Red Kwao Krua. In conclusion, the female rat uterine tension increases after treated with phytosterol from the tuberous root of Red Kwao Krua.

Introduction

The Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) is an outstanding medicinal plant native to Thailand. It contains varieties of substances which are useful for health as a medicine, food additive and cosmetic. Therefore, the Red Kwao Krua has been continuously dug from the forests. This study is to increase the quality of the Red Kwao Krua particularly to increase the amount of phytosterol, the primary substances for birth control in women (www.airissophia.com; www.thai.net).

* Corresponding author, Email : yuvadee@sut.ac.th

Materials and Methods

The experiment was conducted during 2005-2006 at the Suranaree University of Technology Farm. The experiment was a factorial in RCBD (Randomized Complete Block Design) with 9 treatments and 3 replications. The treatments are shown in Table 1. The treatments were given by spraying the plants at the young fully expanded leaf stage. Data on the stem diameter, the amount of phosphorus and the amount of phytosterol were collected at 3 weeks after the last treatment. The colorimetric determination of phosphorus by the spectrophotometer (Suwanawong, 2004) was applied. The TLC finger prints were used to study the accumulation of phytosterol in the tuberous root of the Red Kwao Krua (Figure 1) extracted with 70% methanol (Ruksilp, 1995) by comparison with the standard phytosterol. The phytosterol content was then measured by Flous-Multi Imager. Uterine tension in the female rat analogs was measured by Power Lab System (Longbottom et al., 2000) to check the suitability of the phytosterol as a birth control agent.

Results and Discussion

The treatment with NAA 100 ppm (T2) gave the highest stem diameter, which was 31.84 mm. Manure fertilizer at the rate of 1,500 kg/rai plus NAA 100 ppm (T5) and 25 kg/rai chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm (T9) gave the highest amount of phosphorus in tuberous roots, 0.354% (Table 1). Twenty five kg/rai chemical fertilizer plus NAA 100 ppm (T8), and 25 kg/rai chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm (T9) gave the highest amount of phytosterol in tuberous roots, 152.26 and 138.17 μg/g in dry weight respectively (Figure 2-3). Cycloartenol is a precursor of phytosterol synthesis produced from squalene and Acetyl-CoA, the product of respiration. A larger amount of phosphorus should result in a larger amount of pytosterol. This is because phosphorus is a component of ATP, the source of energy for photosynthesis. A high rate of photosynthesis should result in a high assimilation and therefore, the plant can synthesis more phytosterol (Seigler, 1995; Suwanawong, 2004; Taiz, and Zeiger, 1991).

The extracts from the Red Kwao Krua control (T1) and the Red Kwao Krua treated with 25 kg/rai chemical fertilizer (T7) at a dose of 200 μL each showed a significantly increased area under the curve of uterine tension in the female rat of 138.77 and 116.06 respectively ($P<0.05$) (Table 2 and Figure 4-5). A larger area under the curve indicates that there is more uterine tension in the female rat. Sukawanitsilp (2001) found that the active agent of estrogen in the birth-control pill increased uterine tension. The experiment of Salah, Gathumbi, Vierling and Wagner (2002) found that the extract solution from *Ruellia praetermissa* increased the female rat uterine tension due to estrogen compounds such as β-sitosterol and/or stigmasterol.

The results demonstrated that a chemical fertilizer (N-P-K=15-15-15), NAA and GA_3 can increase phytosterol in the tuberous root of Red Kwao Krua. The area under the curve of rat uterine tension increases after treatment with phytosterol from the tuberous root of Red Kwao Krua. This implies that Red Kwao Krua extracts contained phytoestrogens.

Acknowledgement

We acknowledge Suranaree University of Technology and the Thailand Research Fund (TRF) for equipment and financial support.

Literature Cited

[1] Longbottom, E.R., Luckas, M.J.M., Kupittayanant, S., Badrick, E., Shmigol, T. and Wray, S. 2000. The effects of inhibiting myisin light chain kinase on contraction and calcium signalling in human and rat myometrium. Europe Journal Physiology. 440: 315-321.

[2] Ruksilp, T. 1995. Chemical constituents of the tuberous roots of *Butea superba* Roxb. M.S. Thesis. (Chemistry). Chulalongkorn University.

[3] Salah, A.M., Gathumbi, J., Vierling, W. and Wagner, H. 2002. Estrogenic and cholinergic properties of the methanol extract of *Ruellia praetermissa* Sceinf. ex. Lindau (Acanthaceae) in female rats. Journal of Phytomedicine. (9): 52-55.

[4] Seigler, D.S. 1995. Plant secondary metabolism. n.p.: United States of America.

[5] Sukawanitsilp, N. 2001. Emergency Contraceptives. [On-line]. Available : www.clinicrak.com

[6] Suwanawong, S. 2004. Plant nutrition analysis. Major of Botany. Faculty of Science. Kasetsart University.

[7] Taiz, L. and Zeiger, E. 1991. Plant physiology. California: The Benjamin / Cummings.

[8] 2003. www.airissophia.com

[9] 2004. www.thai.net

Tables

Table 1. The factorial in RCBD, stem diameter, and amount of phosphorus.

	Treatment	Stem diameter (mm)	Phosphorus (%)
T1	Control (not treated)	31.09 cd[1]	0.267 ab[1]
T2	100 ppm NAA	31.84 d	0.283 ab
T3	100 ppm GA_3	24.75 bcd	0.263 ab
T4	Manure fertilizer 1,500 kg/rai*	23.71 bcd	0.300 ab
T5	Manure fertilizer 1,500 kg/rai*+100 ppm NAA	14.21 a	0.354 b
T6	Manure fertilizer 1,500 kg/rai*+100 ppm GA_3	25.17 bcd	0.225 a
T7	15-15-15 (N-P-K) 25 kg/rai*	23.75 bcd	0.225 a
T8	15-15-15 (N-P-K) 25 kg/rai*+100 ppm NAA	17.88 ab	0.275 ab
T9	15-15-15 (N-P-K) 25 kg/rai*+100 ppm GA_3	22.75 bc	0.354 b

[1]In a column, means followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT, *6.25 rai = 1 ha

Table 2. Area under the curve (AUC) of uterine tension of the control group compared with the methanol extract of Red Kwao Krua.

Treatment	_AUC X ± S.D.
Control	100
T1	138.77 ± 14.83 *
T2	166.03 ± 37.76
T3	108.69 ± 4.88
T4	128.64 ± 15.31
T5	130.63 ± 19.00
T6	137.98 ± 35.72
T7	116.06 ± 5.20 *
T8	120.03 ± 15.78
T9	156.76 ± 36.31

* $p < 0.05$ statistical significant levels

Figures

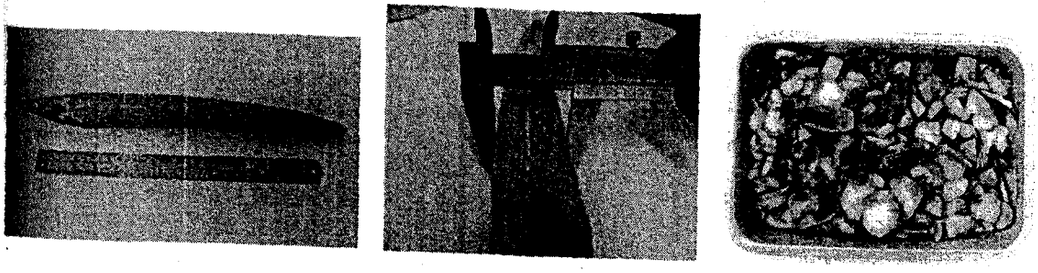


Fig. 1. The tuberous root of the Red Kwao Krua

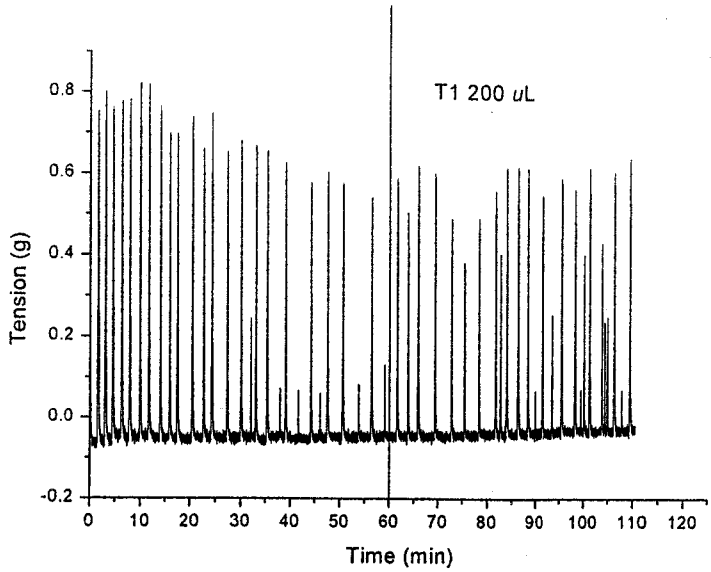


Fig. 4. The effect of the extract from the Red Kwao Krua control (T1) on area under the curve of uterine tension in the female rat.

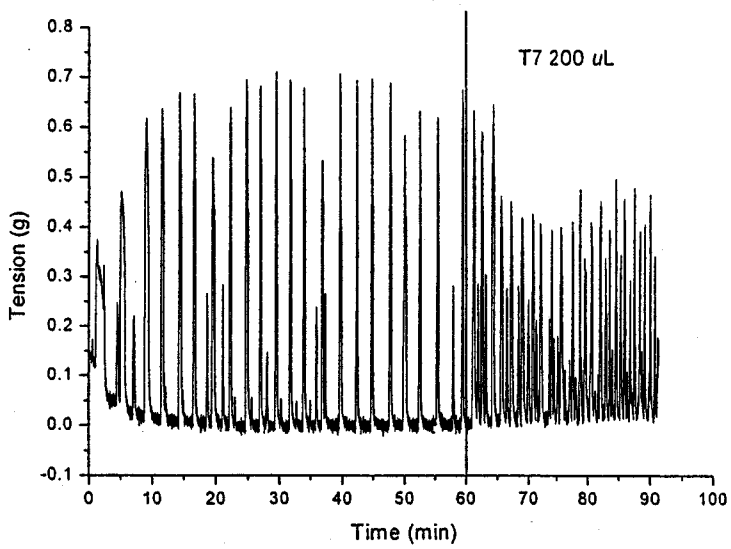


Fig. 5. The effect of the extracts from the Red Kwao Krua treated with 25 kg/rai chemical fertilizer (T7) on area under the curve of uterine tension in the female rat.

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

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

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

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

Abstract

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

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

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

[2] *ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40000*

[*] *ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ*

บทคัดย่อ

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

บทนำ

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

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

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและอิทธิพลของสภาพภูมิอากาศที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกวาวเครือแดงในรอบปี และจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของกวาวเครือแดง

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

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

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

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

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

สัญลักษณ์ " 1 " และ " 0 " ทั้ง 9 ลักษณะ คือรูปร่างใบ ฐานใบ ปลายใบ สีก้านใบ ขนใบ ราก ดอก ฝัก และเมล็ด โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ NTSYSpc เวอร์ชั่น 1.10 ในการคำนวณ เช่นเดียวกับลักษณะของดีเอ็นเอ

ผลการทดลองและอภิปรายผล

การเจริญเติบโตและพัฒนาของกวาวเครือแดงในรอบปี (phenological cycle)

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

ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับการเจริญและพัฒนาของกวาวเครือแดง

การแตกเครือเถาและใบอ่อน

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

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

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

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

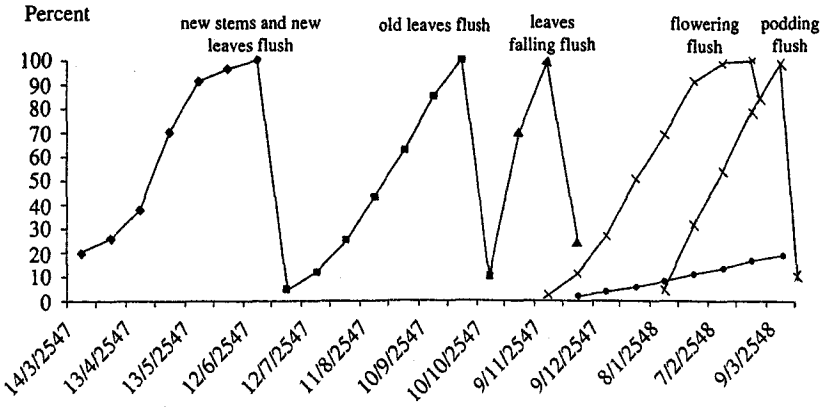


Figure 1. Red Kwao Krua phenological cycle

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

ใบแก่

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

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

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

แสดงว่าอุณหภูมิสูงสุด ความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิต่ำสุด และปริมาณน้ำฝนโดยรวม มีความสัมพันธ์กับการแก่ของใบกวาวเครือแดง

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

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

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

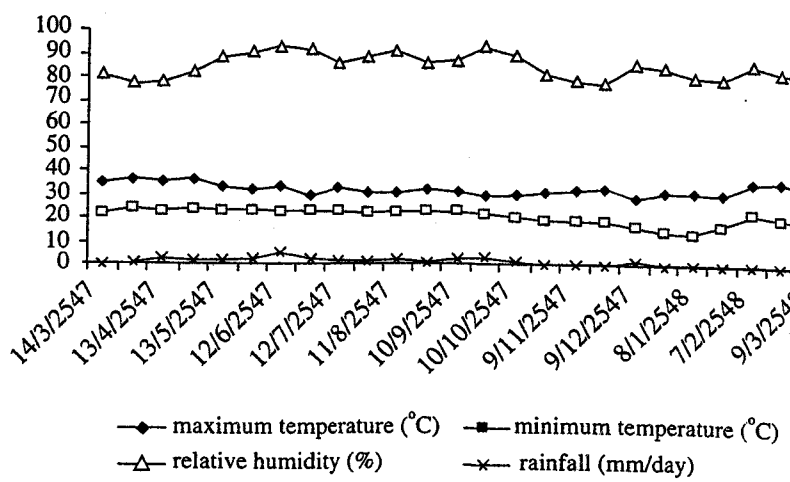


Figure 2. Microclimatic data

การผลัดใบ

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

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

$r^2 = 0.99^{*}$

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

การออกดอก และพัฒนาการของดอก

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

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

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

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

การติดฝัก

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

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

$r^2 = 0.278^{*}$

แสดงถึงอุณหภูมิสูงสุด มีอิทธิพลต่อการ

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

ผลการจำแนกต้นกวาวเครือแดงด้วยเทคนิค randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)

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

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

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

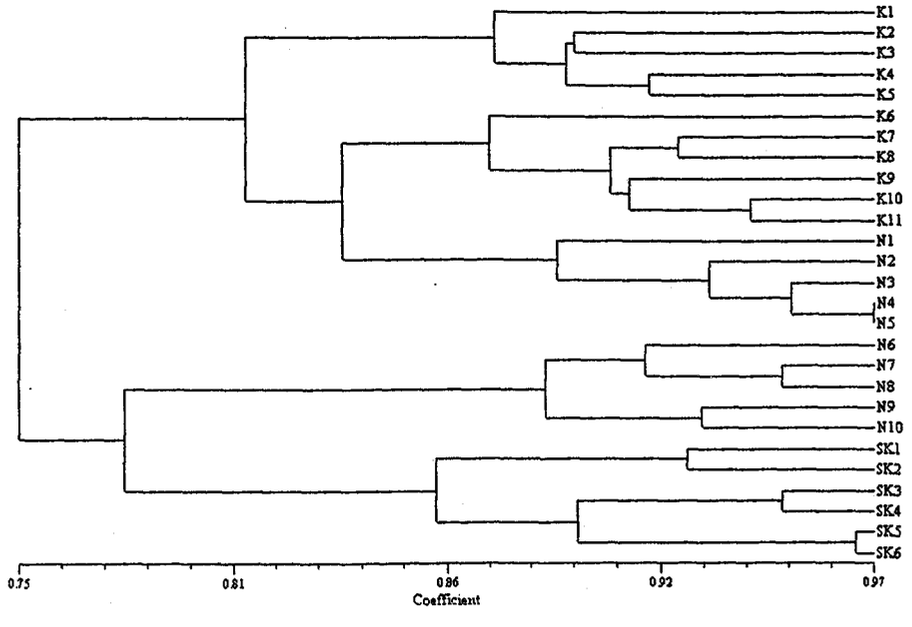


Figure 3. Dendrogram of 27 clones of Red Kwao Krua

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

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

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

จากการที่แบ่งกวาวเครือแดงออกเป็น 5 กลุ่ม ซึ่งสัมพันธ์กับแหล่งที่กวาวเครือแดงเจริญเติบโต หรือลักษณะภูมิประเทศเป็นไปได้ว่าในบริเวณเดียวกัน หรือแหล่งเดียวกัน กวาวเครือแดงเหล่านั้นผสมพันธุ์จากต้นพ่อและแม่ที่มีความสัมพันธ์กัน และพัฒนาเป็นต้น พร้อมทั้งสภาพแวดล้อมได้ช่วยคัดเลือกต้นที่แข็งแรงไว้ ลักษณะพันธุกรรมจึงออกมาใกล้เคียงกันในแต่ละกลุ่มย่อย

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

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

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

บทสรุป

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

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ได้สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2544 - 2546

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

The effect of White Kwao Krua (*Pueraria candollei* Grah.var.mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham) crude extract containing puerarin on vascular relaxation in the White Rat (*Rattus norvegicus*).

Chaowiset W.[1], Kupittayanant S.[2], Mahakornkul[1]

[1] School of Crop Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, 111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand.
[2] Institute of Science, Suranaree University of Technology, 111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand.

ABSTRACT

The tuberous roots of the White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] significantly accumulate isoflavone glucosides such as puerarin. The flavonoids can promote vascular relaxation [1]. The purpose of this study was to increase puerarin accumulation in the tuberous roots of White Kwao Krua (WKK) and the effect of WKK crude extract on vascular relaxation in the White Rat (*Rattus norvegicus*) was investigated. The experiment was a RCBD with 4 replications and 5 treatments of Zn^{2+} concentration levels. The WKK were sprayed with Zn^{2+} at the concentration of 0 (distilled water), 50, 100, 200 and 300 mg/L. TLC and HPLC techniques [2,3,4] were used to identify the amount of puerarin in the tuberous roots of WKK. The vascular relaxation in the White Rat was investigated according to the method of Longbottom et al. (2000) [5]. The concentrations of Zn^{2+} studied had a statistically significant effect on the amount of puerarin. Zn^{2+} at 200 mg/L gave the highest amount of puerarin (194.3 µg/g dry weight). The blood vessels of the White Rats that were treated with WKK crude extract at every treatment resulted in highly significant effects on vascular relaxation compared with untreated blood vessels. The blood vessels that were treated with acetylcholine plus WKK crude extract at the concentration 200 mg/L gave the highest relaxation. WKK crude extract showed vascular relaxation in White Rats, and spraying Zn^{2+} onto WKK can increase puerarin in tuberous roots.

Key words: White Kwao Krua, puerarin, vascular relaxation, White Rat

INTRODUCTION

The White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] is a well known medicinal plant of Thailand. Its tuberous roots accumulate isoflavone glucosides such as puerarin. The flavonoids can promote vascular relaxation [1]. The purpose of this study was to increase puerarin accumulation in the tuberous roots of White Kwao Krua (WKK) and the effect of WKK crude extract on vascular relaxation in the White Rat (*Rattus norvegicus*) was investigated.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted on 5 year old plants of WKK in March to October 2005 at Suranaree University of Technology. The experiment was a RCBD with 4 replications and 5 treatments of Zn^{2+} concentration levels. The leaves of WKK were sprayed with Zn^{2+} at the concentration of 0 (distilled water), 50, 100, 200 and 300 mg/L until the solution ran off the leaves, every fortnight for 14 times. The samples were collected for 3 times after 2, 4 and 6 months sprayed. The diameter, fresh and dry weight and the % moisture content of the tuberous roots were examined. TLC and HPLC techniques [2,3,4] were used to identify the amount of puerarin in the tuberous roots. The vascular relaxation in the White Rat was investigated according to the method of Longbottom et al. (2000)[5].

RESULT AND DISCUSSION

There were no statistically significant differences among the treatments in diameter, fresh and dry weight and % moisture content of the tuberous roots. The TLC technique using n-butanol : acetic acid : water (5:3:1 by volume) as a mobile phase was used to compare the R_f value of standard puerarin and the crude extract from WKK containing puerarin. The results showed the same position of the R_f value at 0.81 (Fig 1).

Figure 1. TLC Chromatogram of standardized puerarin and the crude extract from WKK containing puerarin, showing the same position of the R_f value at 0.81 under UV 256 nm using n-butanol : acetic acid : water (5 : 3 : 1 by volume) as a mobile phase.

Two other mobile phases; chloroform : MeOH : water (65:25:4 by volume) and Chloroform: MeOH (20:1 by volume) also showed the same result. Furthermore, with the HPLC technique it was found that the crude extracts from WKK had peaks that had retention times equal to the retention time of standardized puerarin. In addition they showed the same pattern in the UV spectrum (Fig 2, 3 and 4).

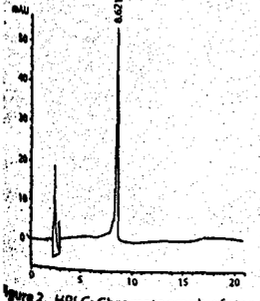


Figure 2. HPLC; Chromatograph of standardized puerarin examined by UV at 256 nm.

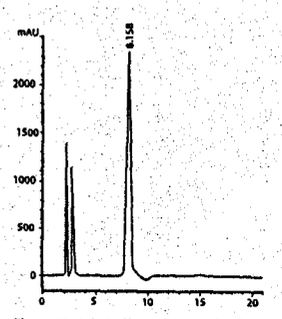


Figure 3. HPLC; Chromatograph of puerarin from the crude extract of WKK examined by UV at 256 nm.

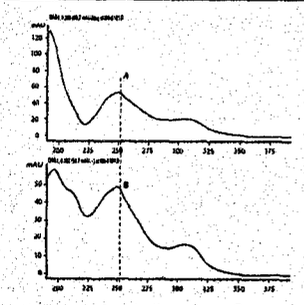


Figure 4. UV spectrum of the crude extract of WKK containing puerarin (A) and standardized puerarin (B) examined by UV at 256 nm.

The concentrations of Zn^{2+} studied had a statistically significant effect on the amount of puerarin (Fig. 5). Zn^{2+} at the concentration of 200 mg/L gave the highest amount of puerarin (194.3 µg/g dry wt.). However, at the highest concentration of Zn^{2+} used (300 mg/L) sprayed, the amount of puerarin accumulated was lowered to 146.3 µg/g dry weight (Fig. 5).

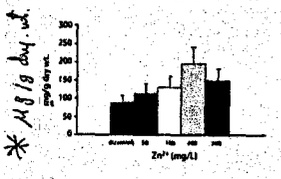


Figure 5. Average amount of puerarin from the crude extract of tuberous roots of WKK (error bars indicate I = SD).

Kozlovskii et al. (2000) found that Zn^{2+} can stimulate isoflavones production in *penicillium citrinum* [6]. Furthermore, high concentrations of Zn^{2+} (300 mg/L) probably started to become toxic to the plant [7].

The blood vessels of the White Rats that were treated with WKK crude extract at every treatment resulted in a highly significant effect on vascular relaxation compared with untreated blood vessels. The blood vessels that were treated with acetylcholine plus WKK crude extract that was sprayed with Zn^{2+} at the concentration of 200 mg/L gave the highest vascular relaxation (Fig.6).

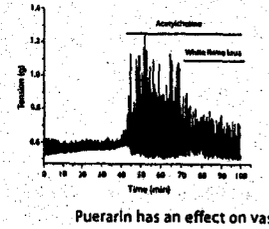


Figure 6. Vascular relaxation in the White Rat; 0-40 mins was spontaneous contraction; 40-70 mins treated with acetylcholine (1.0 µM); 70-100 mins, treated with crude extract of WKK containing puerarin 194.3 µg/g dry wt. (treatment 4) plus acetylcholine (1.0 µM).

Puerarin has an effect on vascular relaxation by preventing blood vessels occlusion. Furthermore, the percentage of area under the curve (AUC) of contraction in White Rat blood vessels treated with acetylcholine plus crude extracts from WKK that were treated Zn^{2+} at every concentration were significantly lower than the control (that did not have crude extract from WKK added) (Fig. 7). Hence, WKK crude extract showed vascular relaxation in White Rats, and spraying Zn^{2+} onto WKK can increase puerarin in tuberous roots.

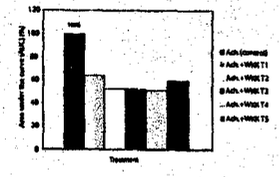


Figure 7. Percent AUC of contraction in White Rat blood vessels treated with Acetylcholine (alone-control) and plus crude extract from WKK that were sprayed with different Zn^{2+} concentrations.

CONCLUSION

Zn^{2+} can maximize puerarin accumulation in the tuberous roots of WKK. Zn^{2+} applied at 200 mg/L resulted in the highest amount of puerarin. WKK crude extract showed vascular relaxation in the White Rat. The blood vessels that were treated with acetylcholine plus WKK crude extract at the concentration of 200 mg/L gave the highest vascular relaxation.

ACKNOWLEDGMENT

The authors acknowledge the Suranaree University of Technology and the National Research Council of Thailand (NRCT) for equipment and financial support.

REFERENCES

1. Benlhabib, E. et al. (2000) J of Medicinal Food, 7(2): 180-186.
2. Li, M. et al. (2003) Fenxi Huaxue. 31:178-180.
3. Li, D, et al, (2004) Carbohydrate Research. 339: 2789-2797.
4. Chalardkid, P. et al. (2003) Suranaree J Sci. Technol. 10:350-358.
5. Longbottom, E. et al. (2000) Europe J Physiology. 440:315-321.
6. Kozlovskii, A.G., et al. (2000). Mikrobiologia. 69(5): 642-649.
7. Kaya, C. (2002). J. Plant Nutri. 25(3): 599-611. 8. John, LB, et al. Journal of Medicinal Food. 7(2): 180-186.

The effect of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] crude extract containing puerarin on vascular relaxation in the White Rat (*Rattus norvegicus*).

Chaowiset W[1], Kupittayanant S[2], *Manakasem Y*[1]

[1] School of Crop Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, 111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand. [2] Institute of Science, Suranaree University of Technology, 111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand.

ABSTRACT

The tuberous roots of the White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] significantly accumulate isoflavone glucosides such as puerarin. The flavonoids can promote vascular relaxation [1]. The purpose of this study was to increase puerarin accumulation in the tuberous roots of White Kwao Krua (WKK) and the effect of WKK crude extract on vascular relaxation in the White Rat (*Rattus norvegicus*) was investigated. The experiment was a RCBD with 4 replications and 5 treatments of Zn^{2+} concentration levels. The WKK were sprayed with Zn^{2+} at the concentration of 0 (distilled water), 50, 100, 200 and 300 mg/L. TLC and HPLC techniques [2,3,4] were used to identify the amount of puerarin in the tuberous roots of WKK. The vascular relaxation in the White Rat was investigated according to the method of Longbottom et al. (2000) [5]. The concentrations of Zn^{2+} studied had a statistically significant effect on the amount of puerarin. Zn^{2+} at 200 mg/L gave the highest amount of puerarin (194.3 µg/g dry weight). The blood vessels of the White Rats that were treated with WKK crude extract at every treatment resulted in highly significant effects on vascular relaxation compared with untreated blood vessels. The blood vessels that

were treated with acetylcholine plus WKK crude extract at the concentration 200 mg/L gave the highest relaxation. WKK crude extract showed vascular relaxation in White Rats, and spraying Zn^{2+} onto WKK can increase puerarin in tuberous roots.

Key words: White Kwao Krua, puerarin, vascular relaxation, White Rat

INTRODUCTION

The White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] is a well known medicinal plant of Thailand. Its tuberous roots accumulate isoflavone glucosides such as puerarin. The flavonoids can promote vascular relaxation [1]. The purpose of this study was to increase puerarin accumulation in the tuberous roots of White Kwao Krua (WKK) and the effect of WKK crude extract on vascular relaxation in the White Rat *(Rattus norvegicus)* was investigated.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted on 5 year old plants of WKK in March to October 2005 at Suranaree University of Technology. The experiment was a RCBD with 4 replications and 5 treatments of Zn^{2+} concentration levels. The leaves of WKK were sprayed with Zn^{2+} at the concentration of 0 (distilled water), 50, 100, 200 and 300 mg/L until the solution ran off the leaves, every fortnight for 14 times. The samples were collected for 3 times after 2, 4 and 6 months sprayed. The diameter, fresh and dry weight and the % moisture content of the tuberous roots were examined. TLC and HPLC techniques [2,3,4] were used to identify the amount of puerarin in the tuberous roots. The vascular relaxation in the White Rat was investigated according to the method of Longbottom et al. (2000)[5].

ULT AND DISCUSSION

There were no statistically significant differences among the treatments in diameter, h and dry weight and % moisture content of the tuberous roots. The TLC technique using n-anol : acetic acid : water (5:3:1 by volume) as a mobile phase was used to compare the R_f ue of standard puerarin and the crude extract from WKK containing puerarin. The results wed the same position of the R_f value at 0.81 (Fig 1).

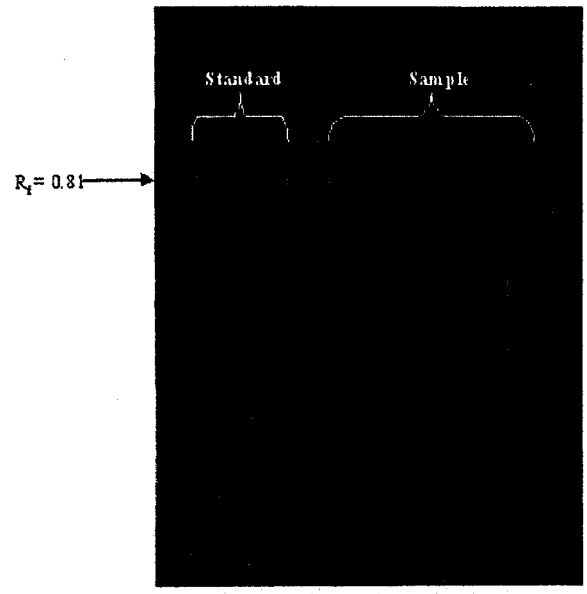
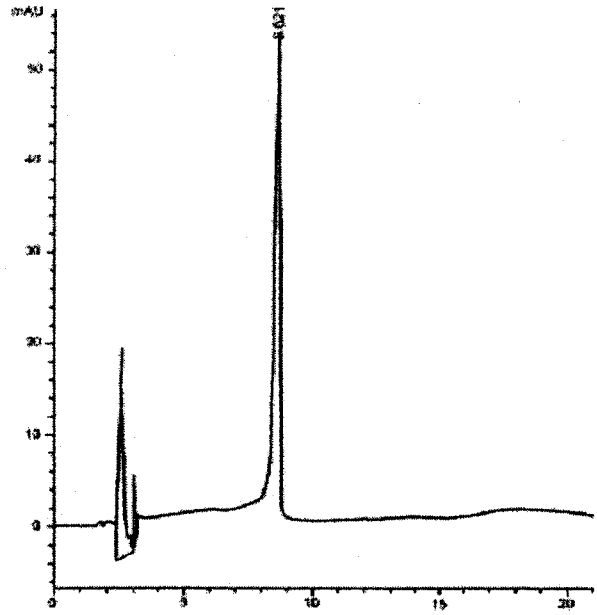
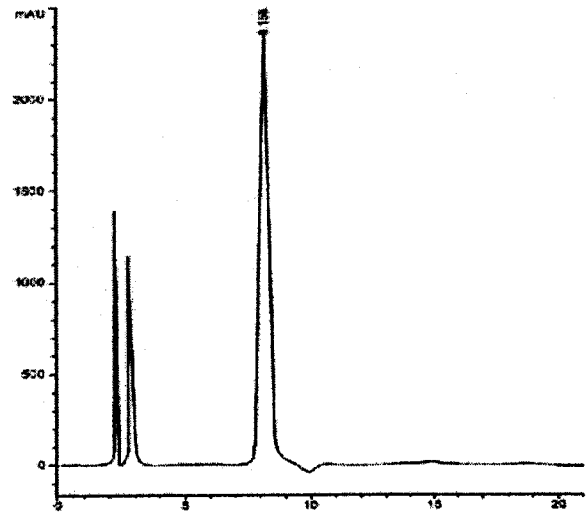


Figure 1. TLC Chromatogram of standardized puerarin and the crude extract from WKK containing puerarin, showing the same position of the R_f value at 0.81 under UV 256 nm using n-butanol : acetic acid : water (5 : 3 : 1 by volume) as a mobile phase.

Two other mobile phases; chloroform : MeOH : water (65:25:4 by volume) and Chloroform : MeOH (20:1 by volume) also showed the same result. Furthermore, with the HPLC technique it was found that the crude extracts from WKK had peaks that had retention times equal to the retention time of standardized puerarin. In addition they showed the same pattern in the UV spectrum (Fig 2, 3 and 4).



ure 2. HPLC; Chromatograph of standardized puerarin examined by UV at 256 nm.



ure 3. HPLC; Chromatograph of puerarin from the crude extract of WKK examined by UV at 256 nm.

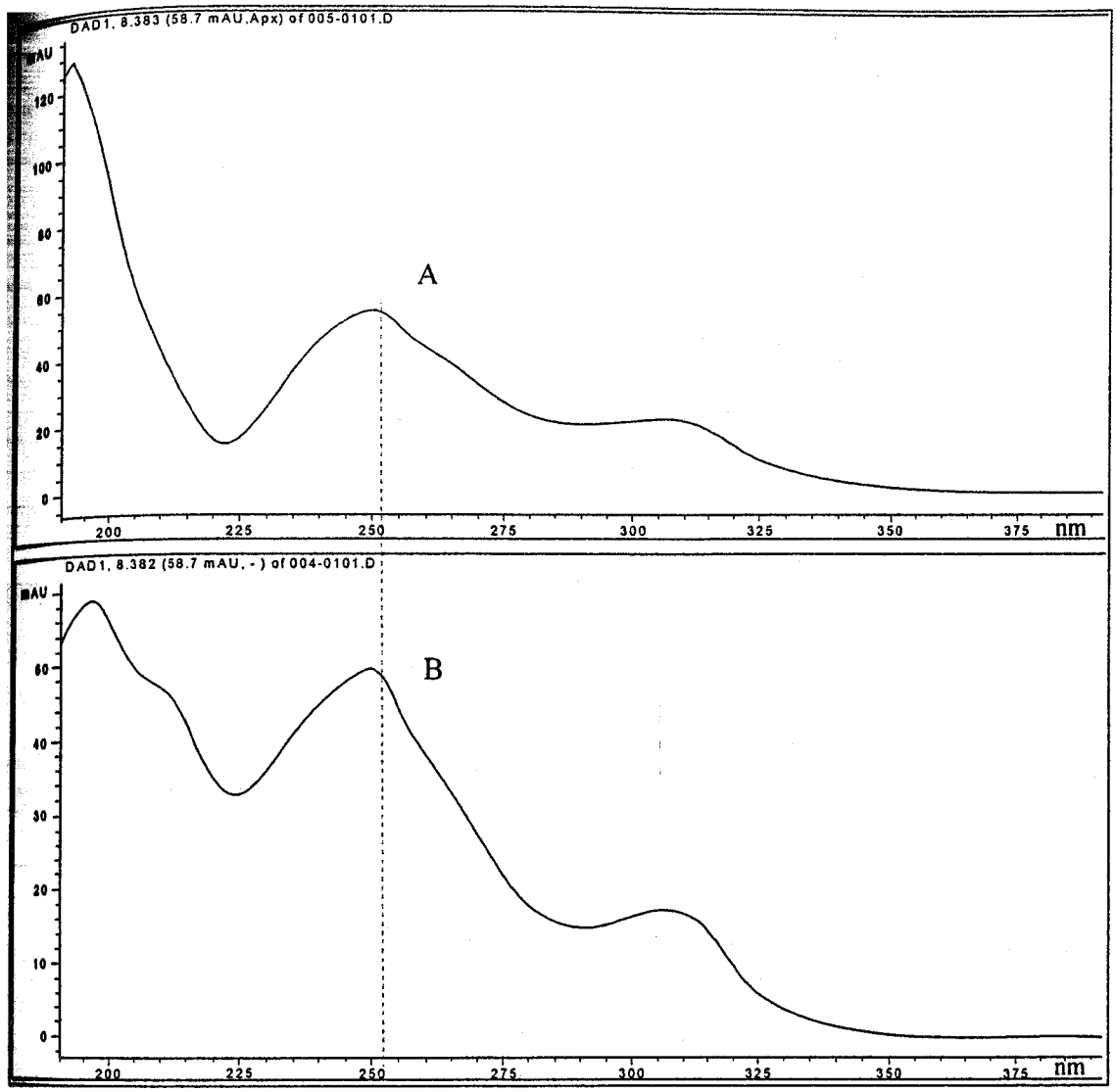


Figure 4. UV spectrum of the crude extract of WKK containing puerarin (A) and standardized puerarin (B) examined by UV at 256 nm.

The concentrations of Zn^{2+} studied had a statistically significant effect on the amount of puerarin (Fig. 5). Zn^{2+} at the concentration of 200 mg/L gave the highest amount of puerarin (194.3 μg/g dry wt.). However, at the highest concentration of Zn^{2+} used (300 mg/L) sprayed, the amount of puerarin accumulated was lowered to 146.3 μg/g dry weight (Fig. 5).

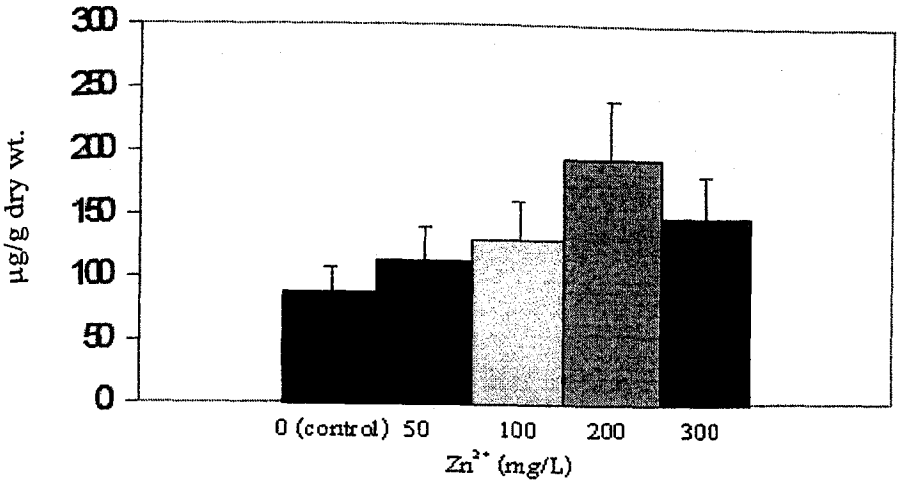


Figure 5. Average amount of puerarin from the crude extract of tuberous roots of WKK (error bars indicate I = SD).

Kozlovskii et al. (2000) found that Zn^{2+} can stimulate isoflavones production in *penicillium citrinum* [6]. Furthermore, high concentrations of Zn^{2+} (300 mg/L) probably started to become toxic to the plant [7].

The blood vessels of the White Rats that were treated with WKK crude extract at every treatment resulted in a highly significant effect on vascular relaxation compared with untreated blood vessels. The blood vessels that were treated with acetylcholine plus WKK crude extract that was sprayed with Zn^{2+} at the concentration of 200 mg/L gave the highest vascular relaxation (Fig.6).

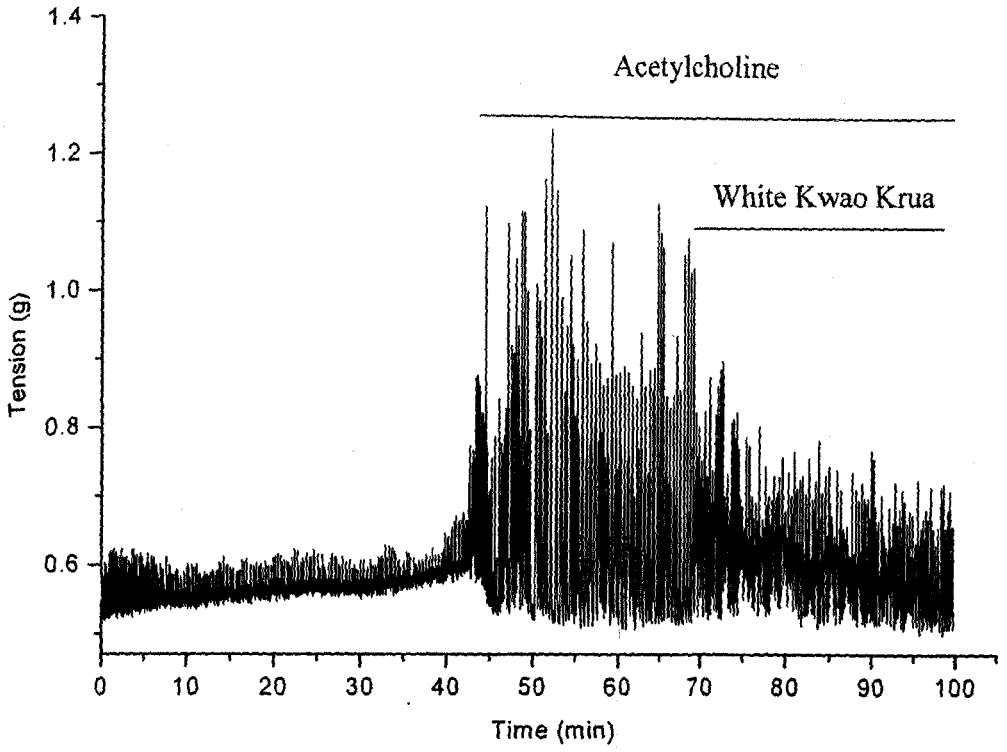


Figure 6. Vascular relaxation in the White Rat; 0-40 mins was spontaneous contraction; 40-70 mins treated with acetylcholine (1.0 μM); 70-100 mins, treated with crude extract of WKK containing puerarin 194.3 μg/g dry wt. (treatment 4) plus acetylcholine (1.0 μM).

Puerarin has an effect on vascular relaxation by preventing blood vessels occlusion. Furthermore, the percentage of area under the curve (AUC) of contraction in White Rat blood vessels treated with acetylcholine plus crude extracts from WKK that were treated Zn^{2+} at every concentration were significantly lower than the control (that did not have crude extract from WKK added) (Fig. 7). Hence, WKK crude extract showed vascular relaxation in Whit Rats, and spraying Zn^{2+} onto WKK can increase puerarin in tuberous roots.

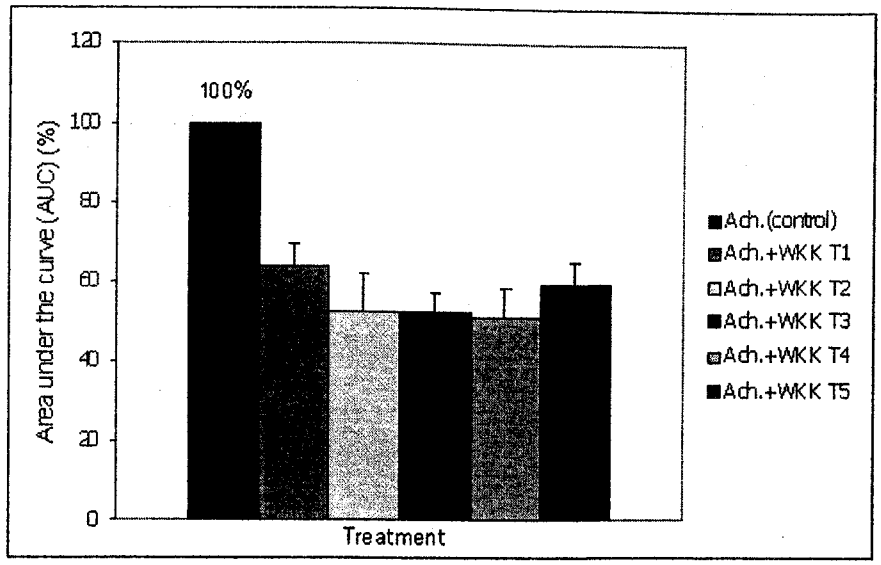


Figure 7. Percent AUC of contraction in White Rat blood vessels treated with Acetylcholine (alone-control) and plus crude extract from WKK that were sprayed with different Zn^{2+} concentrations.

CONCLUSION

Zn^{2+} can maximize puerarin accumulation in the tuberous roots of WKK. Zn^{2+} applied at 200 mg/L resulted in the highest amount of puerarin. WKK crude extract showed vascular relaxation in the White Rat. The blood vessels that were treated with acetylcholine plus WKK crude extract at the concentration of 200 mg/L gave the highest vascular relaxation.

ACKNOWLEDGMENT

The authors acknowledge the Suranaree University of Technology and the National Research Council of Thailand (NRCT) for equipment and financial support.

FEREANCES

Benlhabib, E. et al. (2000) J of Medicinal Food. 7(2): 180-186. 2. Li, M. et al. (2003) Fenxi uaxue. 31:178-180. 3. Li, D. et al, (2004) Carbohydrate Research. 339: 2789-2797. 4. halardkid, P. et al. (2003) Suranaree J Sci. Technol. 10:350-358. 5. Longbottom, E. et al. 000) Europe J Physiology. 440:315-321. 6. Kozlovskii, A.G., et al. (2000). Mikrobiologia. (5): 642-649. 7. Kaya, C. (2002). J. Plant Nutri. 25(3): 599-611. 8. John, I.B. et al. Journal Medicinal Food. 7(2): 180-186.

The Efficacy of Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) on Female Rat (*Rattus norvegicus*) Uterine Tension

Laguanwan C.[1], *Kupittayanant S.*[2] and *Manakasem Y.*[1]

[1] School of Crop Production Technology, Institute of Agricultural Technology. [2] School of Biology, Institute of science, Suranaree University of Technology. 111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand. Corresponding author: yuvadee@g.sut.ac.th

The tuberous roots of Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) accumulate β-sitosterol which is a primary substance for birth control [1, 2]. This study is to increase β-sitosterol in the tuberous roots of Red Kwao Krua (RKK) together with an investigation of the effect of this β-sitosterol on female rat (*Rattus norvegicus*) uterine tension. The experiment was a factorial in RCBD with 9 treatments and 3 replications of manure, chemical fertilizer, NAA and GA_3. Manure fertilizer at the rate of 9,375 kg/ha plus NAA 100 ppm and 156.3 kg/ha chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm gave the highest amount of P in the tuberous roots. 156.3 kg/ha chemical fertilizer plus NAA 100 ppm and 156.3 kg/ha chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm gave the highest amount of β-sitosterol. NAA and GA_3 can activate the precursor for β-sitosterol synthesis [3]. P is a component of ATP, the energy for biochemical synthesis. The extracts from 9 treatments of the RKK at a dose of 200 µL each showed significantly increased area under the curve (AUC) of uterine tension in the rat when compared with those not given extracted solution (100% AUC). An example of the difference between those given the extract (r) and those not given the extract (l) is shown in the fig. below. Hence, the extract from RKK has an efficacy on female rat uterine tension.

References

[1] Ruksilp, T. 1995. Chemical constituents of the tuberous roots of *Butea superba* Roxb. M.S. Thesis. (Chemistry). Chulalongkorn University.

[2] Ryokkynen, A., Nieminen, P., Mustonen, A-M., Pyykonen, T., Asikainen, J., Hanninen, S., Mononen, J. and Kukkonen, J.V.K. (2005). Phytoestrogens alter the reproductive organ development in the mink. Journal of Toxicology and Applied Pharmacology. (202): 132-139.

[3] Seigler, D.S. 1995. Plant secondary metabolism. n.p.: United States of America.

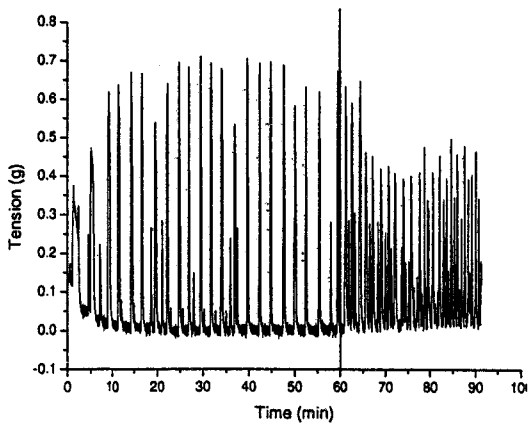


Figure The effect of the extracts from the Red Kwao Krua on uterine tension.

The Efficacy of Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) on Female Rat (*Rattus norvegicus*) Uterine Tension

Laguanwan C.[1], *Kupittayanant S.*[2] and *Manakasem Y.*[1]

[1] School of Crop Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Institute of science, Suranaree University of Technology. 111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand. Corresponding author: yuvadee@g.sut.ac.th

Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) are the outstanding medicinal plant native to the Thailand. In traditional medicinal practices, the tuberous roots of Red Kwao Krua (RKK) are use to treat various illness and maintain male hormones. Furthermore, the tuberous roots of RKK accumulate β-sitosterol which can use as primary substance for birth control in woman [1, 2]. Hence, the study to increase β-sitosterol in the tuberous roots of RKK together with the effect of this β-sitosterol on female rat (*Rattus norvegicus*) uterine tension was conducted during 2005-2006 at the Suranaree University of Technology.

The experiment was a factorial in RCBD (randomize completely block design) with 9 treatments and 3 replications of manure, chemical fertilizer, NAA and GA_3. The treatments are shown in TABLE 1. The manure fertilizer and chemical fertilizer (15-15-15) were given the radius of 30 cm around the RKK. The treatments with NAA and GA_3 at each concentration of 100 ppm were given 3 times by spraying the RKK at the young leaf stage, before young fully expanded leaf stage and at the young fully expanded leaf stage. The data were collected at 3 weeks after the last treatment. The colorimetric determination of phosphorus by the spectrophotometer [3] was applied. The thin layer chromatography (TLC) finger prints were used to study the accumulation of β-sitosterol in the tuberous roots of RKK (Fig. 1) extracted with 70% methanol [1] by comparison with the standard β-sitosterol. The β-sitosterol content was then measured by Flous-Multi Imager. Uterine tension in the female rat analogs was measured by Power Lab System [4] to check the suitability of the β-sitosterol as a birth control agent.

Manure fertilizer at the rate of 1,500 kg/rai plus NAA 100 ppm (T5) and 25 kg/rai chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm (T9) gave the highest amount of phosphorus in the tuberous roots, 0.354% (Fig. 2). Twenty five kg/rai chemical fertilizer plus NAA 100 ppm (T8) and 25 kg/rai chemical fertilizer plus GA_3 100 ppm

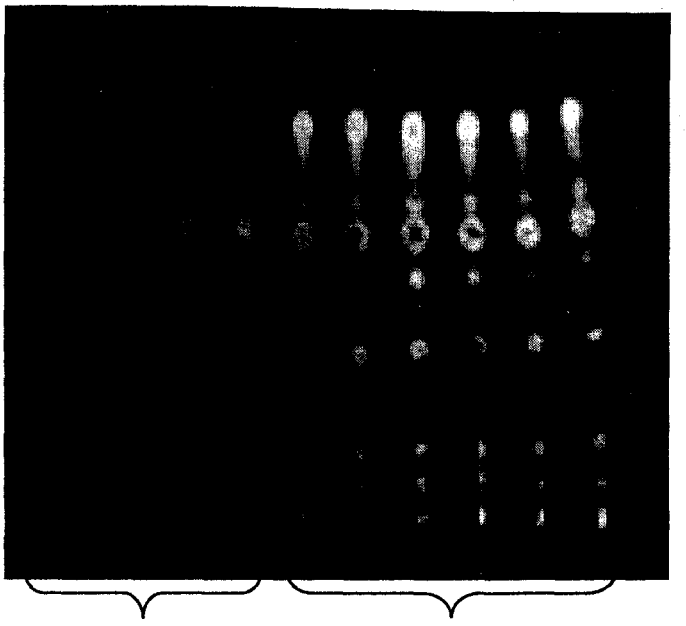
(T9) gave the highest amount of β-sitosterol in tuberous roots, 152.26 and 138.17 µg/g in dry weight respectively (Fig. 3). Cycloartenol is precursor of β-sitosterol synthesis. NAA and GA_3 can activate cycloartenol to form β-sitosterol [4]. Phosphorus is a component of ATP, the source of energy for photosynthesis. A high rate of photosynthesis resulted in a high assimilation and therefore, the plant can synthesis more β-sitosterol [5, 6]. The extracts from 9 treatments of the RKK at a dose of 200 µL each showed significantly increased area under the curve (AUC) of uterine tension in female rat when compared with non given extracted solution (100% AUC) (Fig. 4). Figure 5 showed the effect between of the extract from the RKK treated with 25 kg/rai chemical fertilizer (T7) on AUC (right) and non given extracts on AUC (left). A larger AUC indicates that there is more uterine tension in the female rat. Sukawanitsilp [6] found that the active agent of estrogen in the birth-control pill increased uterine tension. Salah, Gathumbi, Vierling and Wagner [7] reported the extract solution from *Ruellia praetermissa* increased the female rat uterine tension due to estrogen compounds such as β-sitosterol.

In conclusion, fertilizer, NAA and GA_3 can increase β-sitosterol in the tuberous roots of RKK. The AUC of rat uterine tension increased after treated with the extracted solution from the tuberous roots of RKK. This implies that RKK has the efficacy on female rat uterine tension.

TABLE 1. The 9 treatments of 3^2 factorial in RCBD.

Fertilizer	Plant Growth regulators	Treatment
No fertilizer treated	Control	T1
	Spray NAA at 100 ppm	T2
	Spray GA_3 at 100 ppm	T3
Manure fertilizer at 1,500 kg/rai*	Control	T4
	Spray NAA at 100 ppm	T5
	Spray GA_3 at 100 ppm	T6
Chemical fertilizer 15-15-15 at 25 kg/rai*	Control	T7
	Spray NAA at 100 ppm	T8
	Spray GA_3 at 100 ppm	T9

*6.25 rai = 1 hectare



[The standard phytosterol] [The extract of Red Kwao Krua]

Fig. 1 Chromatogram of thin layer chromatography of the standard phytosterol compared with the extract of Red Kwao Krua.

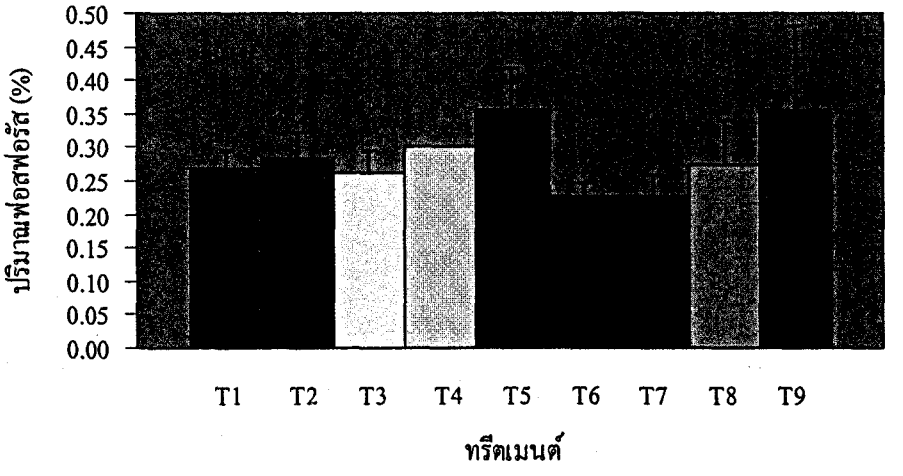


Fig. 2 Amount of phosphorus in the tuberous roots of Red Kwao Krua for each treatment; (I = Sd)

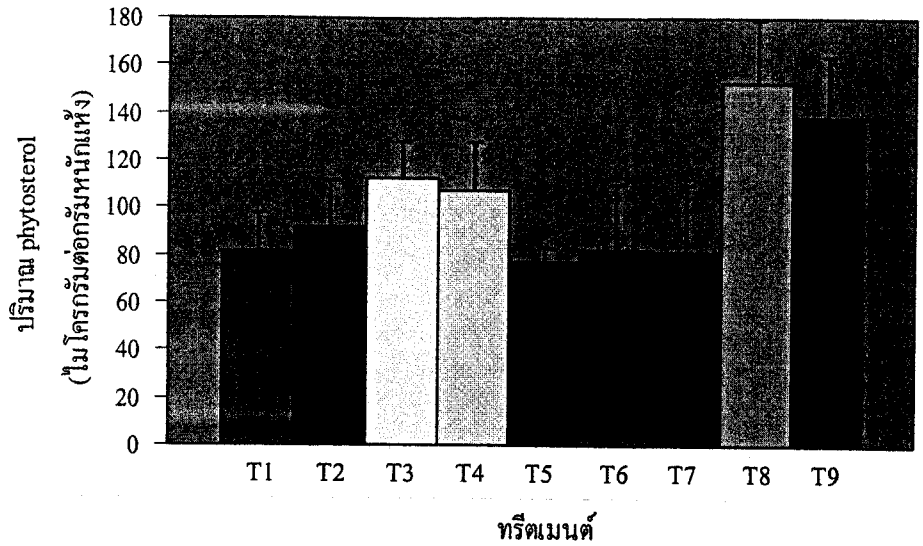


Fig. 3 Amount of β-sitosterol in the tuberous roots for each treatment; (I = Sd)

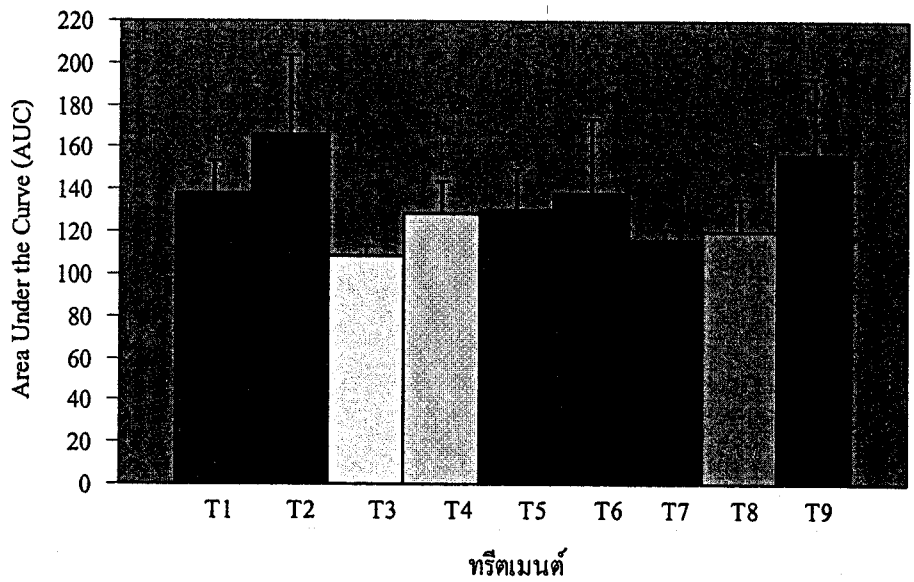


Fig. 4 The effect of extract from the Red Kwao Krua for each treatment on area under the curve of uterine tension in the female rat (I = Sd)

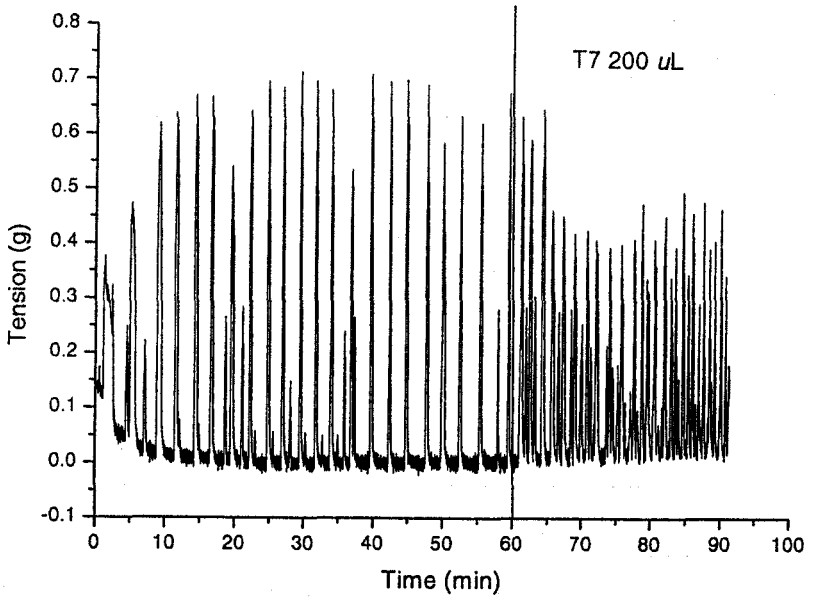


Fig. 5 The effect of the extracts from the Red Kwao Krua treated with 25 kg/rai chemical fertilizer (T7) on area under the curve of uterine tension in the female rat.

References

[1] Ruksilp, T. 1995. Chemical constituents of the tuberous roots of *Butea superba* Roxb. M.S. Thesis. (Chemistry). Chulalongkorn University.

[2] Ryokkynen, A., Nieminen, P., Mustonen, A-M., Pyykonen, T., Asikainen, J., Hanninen, S., Mononen, J. and Kukkonen, J.V.K. (2005). Phytoestrogens alter the reproductive organ development in the mink. Journal of Toxicology and Applied Pharmacology. (202): 132-139.

[3] Suwanawong, S. 2004. Plant nutrition analysis. Major of Botany. Faculty of Science. Kasetsart University.

[4] Longbottom, E.R., Luckas, M.J.M., Kupittayanant, S., Badrick, E., Shmigol, T, and Wray, S. (2000). The effects of inhibiting myisin light chain kinase on contraction and calcium signaling in human and rat myometrium. Europe Journal Physiology. (440): 315-321.

[5] Seigler, D.S. 1995. Plant secondary metabolism. n.p.: United States of America.

[6] Sukawanitsilp, N. 2001. Emergency Contraceptives. [On-line]. Available : www.clinicrak.com

[7] Salah, A.M., Gathumbi, J., Vierling, W. and Wagner, H. 2002. Estrogenic and cholinergic properties of the methanol extract of *Ruellia praetermissa* Sceinf. ex. Lindau (Acanthaceae) in female rats. Journal of Phytomedicine. (9): 52-55.

กวาวเครือ

ชนิดของกวาวเครือ

กวาวเครือมี 4 ชนิด คือ กวาวเครือขาว กวาวเครือแดง กวาวเครือดำ และกวาวเครือมอ

กวาวเครือขาว [*Pusraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham]

อยู่ในวงศ์ Leguminosae อนุวงศ์ Papilionoideae ดอกคล้ายดอกถั่ว มีหลายสี เช่น สีน้ำเงินอมม่วง สีม่วงอ่อน และสีขาวอมม่วง ออกดอกต้นเดือนธันวาคม ถึงเดือนมีนาคม ฝักมีสองแบบ คือ แบบมีขนและแบบไม่มีขน เมล็ดมีรูปร่าง สี และขนาดแตกต่างกัน มีหัวใต้ดิน (tuberous root)ไว้สะสมอาหาร มีหลายลักษณะ เช่น กลม รี ยาวรี และแบน มีวงเนื้อเทียบได้กับวงปีที่ชี้วัดอายุของหัวได้ ความแตกต่างของดอก ใบ หัว ฝัก และเมล็ด ขึ้นอยู่กับพันธุ์[1]

กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.)

อยู่ในวงศ์ และอนุวงศ์เดียวกับกวาวเครือขาว พบตามป่าเบญจพรรณ เติบโตได้โดยไม่ต้องเลื้อยพันต้นไม้อื่น ผลัดใบ ในฤดูหนาว ดอกมีลักษณะคล้ายทองกวาวสีส้มทอง มีใบประกอบ 3 ใบ มีรากขนาดใหญ่ยาวเลื้อยซอกซอนไปตามพื้นดิน คล้ายกับมันสำปะหลัง เป็นรากสะสมอาหาร (tuberous root) เมื่อสะกิดที่เปลือกของรากจะมียางสีแดงคล้ายเลือดไหลออกมา [1]

กวาวเครือดำ และกวาวเครือมอ

กวาวเครือดำมีลำต้น และเถาเหมือนกวาวเครือแดง มีใบ 3 ใบเช่นกัน แต่เล็กกว่า มียางสีดำ เถาอ่อนนุ่ม ลักษณะของหัวเหมือนกวาวเครือแดงแต่ขนาดเล็กกว่า ส่วนกวาวเครือมอนั้นทุกส่วนของลำต้น เถา ใบ หัว เหมือนกับชนิดดำ มีหัวเล็กขนาดเท่าหัวมันเทศ แต่เนื้อในหัว และยางมีสีมอๆ ทั้งกวาวเครือดำและกวาวเครือมอนี้หายาก และมีข้อมูลน้อยมาก [1]

ชนิดสารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือ

สารสำคัญในหัวกวาวเครือขาวแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม คือ Isoflavones, Isoflavone glycoside, Coumestans, Chromene, Steroids และพวกน้ำตาลกลูโคส ไขมัน โปรตีน ใยอาหาร และแร่ธาตุต่างๆ เช่น โพแทสเซียม แคลเซียม และฟอสฟอรัส [2] ในหัวกวาวเครือแดงมีสารสำคัญแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม คือ Carboxylic acid, Phytosterols, Steroiglycoside, Isoflavones และพวกน้ำตาลกลูโคส โปรตีน และใยอาหาร [3]

การใช้ประโยชน์จากกวาวเครือขาว

ใช้เป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงเลือด บำรุงกำลัง ทำให้ทรวงอกเต่งตึง ผิวพรรณดี นอนหลับสนิท แก้โรคตาฟาง ต้อกระจก ช่วยลดการเกิดภาวะกระดูกพรุนที่มีสาเหตุจากการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน [4] ช่วยลดการเกิดมะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งต่อมลูกหมาก ตลอดจนโรคหลอดเลือดและหัวใจที่เกิดในสตรีวัยทอง [5] ลดภาวะเส้นเลือดอุดตันในเส้นเลือดแดง ลดการเกิดโรคความดันโลหิตสูง เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต่อต้านการเกิดโรคมะเร็ง และใช้เป็นเครื่องสำอาง [6] เป็นต้น กวาวเครือขาวมีผลข้างเคียงต่อเซลล์ของตับ ต่อมหมวกไตและเซลล์เม็ดเลือดแดงในสัตว์ทดลอง [2]

กวาวเครือแดง

การใช้ประโยชน์จากกวาวเครือแดง

ใช้เป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงกำลัง ช่วยให้ระบบไหลเวียนเลือดดี ร่างกายแข็งแรง บำรุงประสาท บำรุงสมอง ช่วยป้องกันเส้นโลหิตตีบตัน รักษาอาการอ่อนเพลีย ผอมแห้งแรงน้อย กินไม่ได้นอนไม่หลับ [7] รักษาโรคความจำเสื่อม และมีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนเพศชาย ทำให้อวัยวะเพศแข็งตัวเร็วและมีการสร้างอสุจิได้มากขึ้น [8] มีผลิตภัณฑ์หลายชนิดที่มีส่วนประกอบของกวาวเครือแดง อ้างสรรพคุณในการบำรุงร่างกาย และรักษาอาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศของบุรุษในรูปของเจล ผง ยาเม็ดลูกกลอน หรือรากที่ผ่านตากแห้ง เป็นต้น ผลข้างเคียงของกวาวเครือแดง ถ้าใช้ในปริมาณที่เกินขนาดทำให้เกิดอันตรายต่ออวัยวะภายในของสัตว์ทดลอง [9]

งานวิจัยของกวาวเครือ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

- อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และการเขตกรรม ต่อการเจริญเติบโต และการสะสมสารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง
- พฤกษศาสตร์ พันธุ์ การเจริญเติบโตและการพัฒนา การติดฝักและเมล็ด และสารต้านอนุมูลอิสระของกวาวเครือแดง
- ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสาร Phytosterol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง และผลของสารนี้ต่อการทำงานของมดลูกหนูขาวเพศเมีย
- อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การออกดอก การติดฝัก และเมล็ด และการสะสมสาร Daidzein และ Genistein ในหัวกวาวเครือขาว
- การออกดอก การติดฝักและการสะสมสาร Coumestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว
- ผลของสังกะสีต่อการสะสม Puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวขาว และผลของการสกัดกวาวเครือขาว ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว
- ผลของสารชักนำต่อผลผลิต และปริมาณไอโซฟลาโวนอยด์ของหัวกวาวเครือขาว และฤทธิ์ของสารในการลดระดับกลูโคสในเลือดของหนูแรท

เอกสารอ้างอิง

[1] ชวลิต นิยมธรรม. (2536). กวาวเครือ. อนุกรมวิธานพืชอักษร ก. ราชบัณฑิตสถาน. กรุงเทพฯ เพื่อนพิมพ์.

[2] วิชัย เจียจิรศาสตร์. (2541). ข้อสนเทศและศักยภาพการใช้ยากวาวเครือขาวในอนาคต. ในเอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องกวาวเครือ. (หน้า 38-38). กรุงเทพฯ. สถาบันการแพทย์แผนไทย. กรมการแพทย์.

[3] ธนาวิบ รักสัตย์. (2537). องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิตสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ (เคมี) บุคคลกรณ์มหาวิทยาลัย.

[4] สมภพ ประธานุรารักษ์. (2542). การเตรียมและโพลิเมอไรเซน. ใน ณัฐนันท์ สินธัยพานิช และคณะ. บรรณาธิการ. การประชุมเชิงวิชาการประจำปี 2542: เภสัชกรรมพื้นบ้านเพื่อการสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ: เภสัชกรรมสมาคมแห่งประเทศไทย. 23-41

[5] คณะเภสัชศาสตร์ และวิทยาศาสตร์สุขภาพ. (2549). โรคความดันโลหิตสูง (Hypertension). มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.pharmacy.msu.ac.th/learning/ therapy/index.html

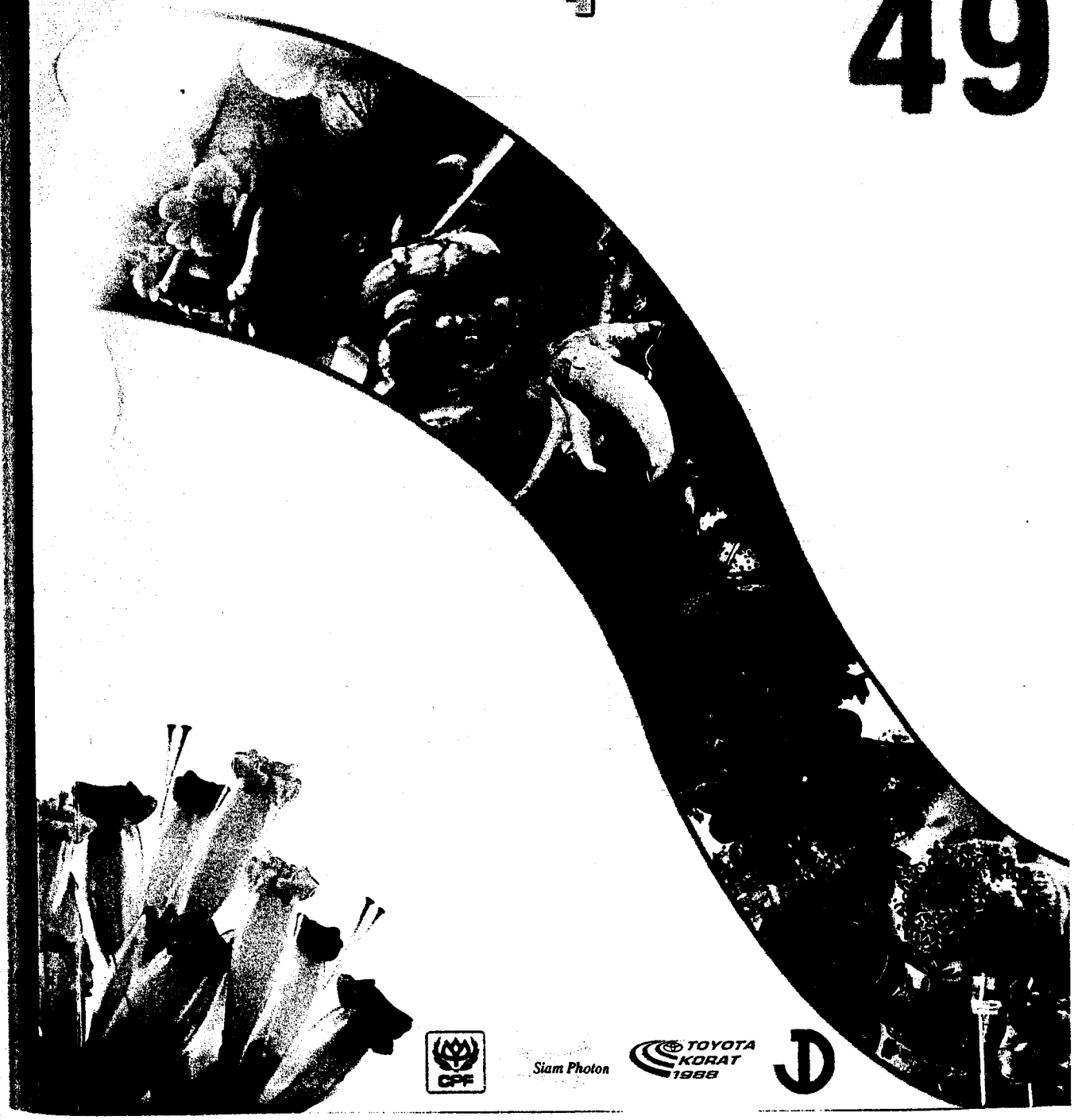
[6] John I. Baker, Daniel E. Keyler and Ashok K. Singh. (2004). Effects of Purified Puerarin on Voluntary Alcohol Intake and Alcohol Withdrawal Symptoms in P Rats Receiving Free Access to Water and Alcohol. Journal of Medicinal Food. Vol. 7, No. 2 : 180-188. (Online). Available: http://www.liebertonline.com/action/showPreferences

[7] เกียรติภา ศรีจันทึก. (2541). การใช้กวาวเครือในแพทย์แผนไทยและแพทย์พื้นบ้าน. เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ. กรุงเทพฯ: สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ หน้า 1-8.

[8] วินเอลิม สันทรกุล. (2542). เจาะรูมหัศจรรย์สมุนไพรไทย. กรุงเทพฯ: ไทย-ญี่ปุ่น โปรแกส์.

[9] อลิศญ์ มานะเลิศ. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (Butea superba Roxb.) ที่พบในพื้นที่ที่แตกต่างกันต่อแผล ต่อ หัวใจ ตับ ไต ต่อมหมวกไต และองค์ประกอบของเลือดในหนูขาวเพศผู้ (Rattus norvegicus). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

เกษตรสุรนารี' 49



CPF

Siam Photon

TOYOTA KORAT 1988

JD

นายบุญร่วม คิดค้า นางสาวเกษร เมืองทิพย์ และ ผศ.ดร.ยุวดี มานะเกษม

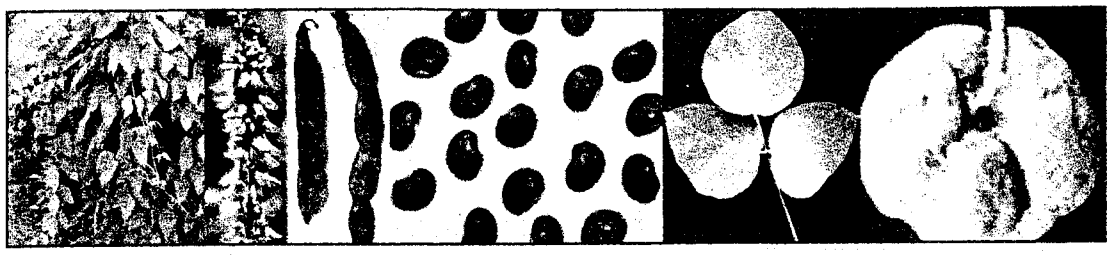
กวาวเครือ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ชนิดของกวาวเครือ

จากตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทรกล่าวว่า กวาวเครือมี 4 ประเภท ได้แก่ กวาวเครือขาว กวาวเครือแดง กวาวเครือดำ และกวาวเครือมอ (มูลนิธิการแพทย์แผนไทย, 2548)

กวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Grah. ex. Benth. Var. Mirifica (Airy Shaw et Suvat.) Niyomdhum) (รูปที่ 1) เป็นไม้เลื้อย มีอายุหลายปี อยู่ในวงศ์ Leguminosae อนุวงศ์ Papilicnoideae ดอกคล้ายดอกถั่ว มีหลายสี เช่น สีน้ำเงินอมม่วง ม่วงอ่อน และสีขาวอมม่วง ออกดอกช่วงต้นเดือนธันวาคม ถึง เดือนมีนาคม ฝักมีสองแบบคือ แบบมีขนและไม่มีขน และเมล็ด มีรูปร่าง สีและขนาด แตกต่างกัน มีหัวใต้ดิน (tuberous roots) ไว้สะสมอาหารหลายรูปแบบ เช่น กลม รี ยาวรี และแบนมีวงเนื้อเทียบได้กับวงปีซึ่งวัดอายุของหัวได้ ความแตกต่างของ ใบ ดอก หัว ฝักและเมล็ด บ้างขึ้นอยู่กับแหล่งของพันธุ์



รูปที่ 1 *ลักษณะส่วนต่างๆ ของกวาวเครือขาว*

กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) (รูปที่ 2) เป็นไม้ยืนต้นรอเลื้อย อายุหลายปี เติบโตได้โดยไม่ต้องเลื้อยพันต้นไม้อื่นในฤดูหนาวจะทิ้งใบออกดอกสีส้มทองอร่ามเป็นพวง มีดอกและใบคล้ายต้นทองกวาว ถ้าขุดที่โคนจะพบรากขนาดใหญ่ยาวเลื้อยขอกชอนไปตามพื้นดิน เมื่อสะกิดที่เปลือกจะมียางสีแดงคล้ายเลือดไหลออกมา

กวาวเครือดำ และ กวาวเครือมอ กวาวเครือดำมีลำต้นและเถาเหมือนชนิดแดง ใบ มี 3 ใบเช่นกัน แต่เล็กกว่า มียางสีดำ เถาอ่อนนุ่ม ลักษณะของหัวเช่นเดียวกับชนิดแดง แต่เล็กกว่าและค่อนข้างหายาก ส่วนกวาวเครือมอนั้น ทุกส่วนของลำต้น เถา ใบ หัว เหมือนกับชนิดดำ มีหัวเล็กขนาดมันเทศ แต่เนื้อในหัวและยางมีสีมอๆ ค่อนข้างจะหายากเช่นเดียวกับชนิดดำ ทั้งกวาวเครือดำและกวาวเครือมอมีข้อมูล และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องน้อยมาก

ประวัติของกวาวเครือ

จากตำราแต่โบราณบอกว่า พระสงฆ์นาม อุนารตะ และอุนันติยะ ที่ประเทศพม่าเป็นผู้ประกาศตำรานี้ไว้ จนต่อมาเมื่อพระมหาเจดีย์แห่งหนึ่งที่เมืองพุกาม ถูกลมพายุพัดจนพังลงมา เป็นเหตุให้ตำราที่คนโบราณเขียนจารึกบนใบลานและบรรจุไว้ในพระเจดีย์องค์นั้น ปรากฏแก่มหาชนทั้งหลาย ตามตำรานั้นบอกว่าให้เอาหัวกวาวเครือดำเป็นผงแล้วกินกับน้ำนมวัว เนื้อหนังจะเหมือนเด็กอายุ 6 ปี จะมีอายุยืนนาน ถ้ากินกับน้ำข้าวจะมีเนื้อหนังผิวพักตร์อันนิ่มนวล จะกินกับน้ำมันเนยก็ดี หรือกินกับน้ำผึ้งก็ดี จะมีอายุยืน หรือถ้ากินกับน้ำนมต้มจะมีอายุยืน และศีรษะที่หงอก ฟันหลุด เนื้อหนังเหี่ยวยานจะไม่เกิดขึ้น ยาชนิดนี้ต้องรับประทานเท่าเมล็ดพริกน้อย ผู้รับประทานต้องรักษาศีล 5 อย่างเคร่งครัดแล้วจะเกิดประโยชน์ แต่ยานี้มีฤทธิ์มากต้องระวังอย่าได้รับประทานเกินส่วนของตำรา

ตำรากวาวเครือเล่มแรกของไทย หลวงอนุสารสุนทรได้เขียนตำราขึ้นมาทั้งหมด 2 ฉบับ ฉบับแรกเขียนเมื่อปี พ.ศ. 2472 เป็นภาษาล้านนา และเขียนฉบับที่สองในปี พ.ศ. 2474 เป็นภาษาไทย ชื่อ "ตำรายาหัวกวาวเครือ" (รูปที่ 3) ซึ่งบางส่วนในตำรากล่าวว่า ตนได้สร้างยานี้รับประทานแล้ว ครั้งแรกรู้สึกว่านอนหลับดี รับประทานอาหารได้ โรคภัยก็น้อยลง มีกำลังแข็งแรงดี และเป็นยาที่หาง่าย

รูปที่ 2 *ลักษณะส่วนต่างๆ ของกวาวเครือแดง (บุญร่วม คิดค้า, 2547)*

รูปที่ 3 *ตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร*

คนขั้นใดก็ผลิตได้ โดยกวาวเครือตำให้ปั้นเท่าเมล็ดพริกไทย ผ่า 3 กินแค่หนึ่งส่วน กวาวเครือขาวให้ปั้นเท่าเมล็ดพริกไทย กินวันละ 1 เม็ด ท่านยังบอกอีกว่า ถ้าผู้หญิงที่มีอายุ 70-80 ปี รับประทานแล้วจะมีระดูเหมือนผู้หญิงสาว และห้ามคนหนุ่มสาวไม่ให้รับประทานยานี้ (สากล เจรจา, 2548)

ชนิดสารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือ

จากรายงานของนักวิจัยทั้งในและนอกประเทศในขณะนี้ ได้จัดกลุ่มของสารสำคัญในหัวกวาวเครือขาวเป็น 6 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1) Isoflavones ได้แก่ Daidzein, genistein, kawakhurin และ kawakhurin hydrate กลุ่ม 2) Isoflavone glycoside ได้แก่ daidzin, genistin, puerarin, mirificin และ puerarin-6-monoacetate กลุ่มที่ 3) Coumestans ได้แก่ coumestrol, mirificoumestan, mirificoumestan glycol และ mirificoumestan hydrate กลุ่มที่ 4) Chromene ได้แก่ miroestrol และ deoxymiroestrol กลุ่มที่ 5) Steroids ได้แก่ B-sitosterol และ stigmasterol กลุ่มที่ 6) สารอื่นๆ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส ไขมัน โปรตีน ใยอาหาร และแร่ธาตุต่างๆ เช่น ลิเทียม โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม และฟอสฟอรัส (กรมวิชาการเกษตร, 2548) ดังแสดงในรูปที่ 4

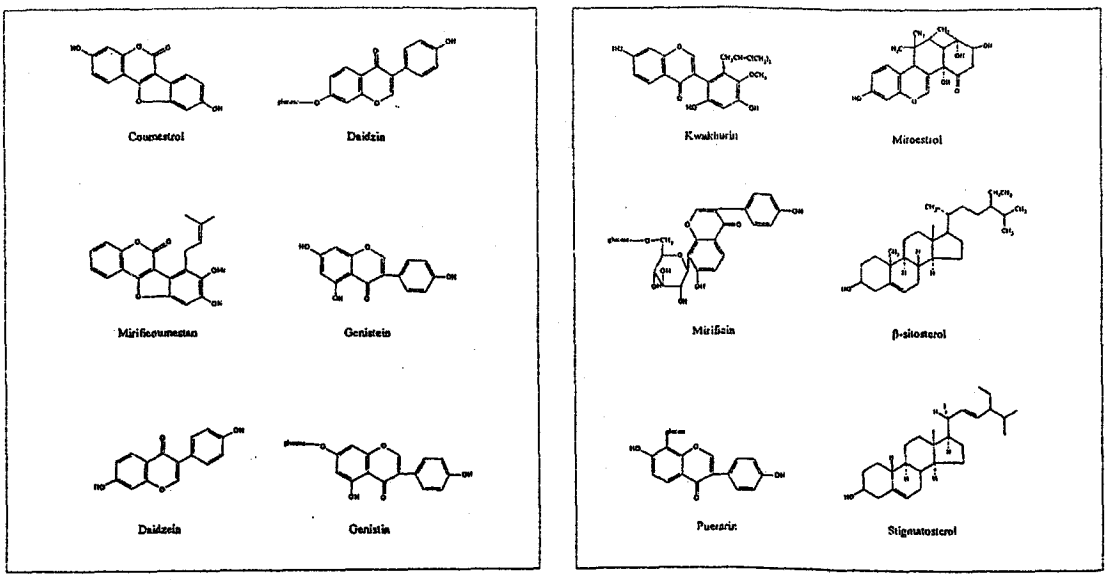
สารในกลุ่มที่ 1 ถึง 4 เป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids compound) เช่นเดียวกับในรากของกวาวเครือแดง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นประกอบสารฟลาโวนอยด์ โดยเฉพาะสารในกลุ่มฟลาโวน (flavones) เช่น 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone (โสภณ เริงสำราญ และคณะ, 2543) สารอื่นๆ เช่น สารไขมันพืช (phytosterols) และกรดอินทรีย์โซ่ตรง (ธนาธิป รักศิลป์, 2537) เป็นต้น ดังแสดงในรูปที่ 5

ประโยชน์ของสารเคมีในลักษณะเป็นยา หรืออาหารเสริม

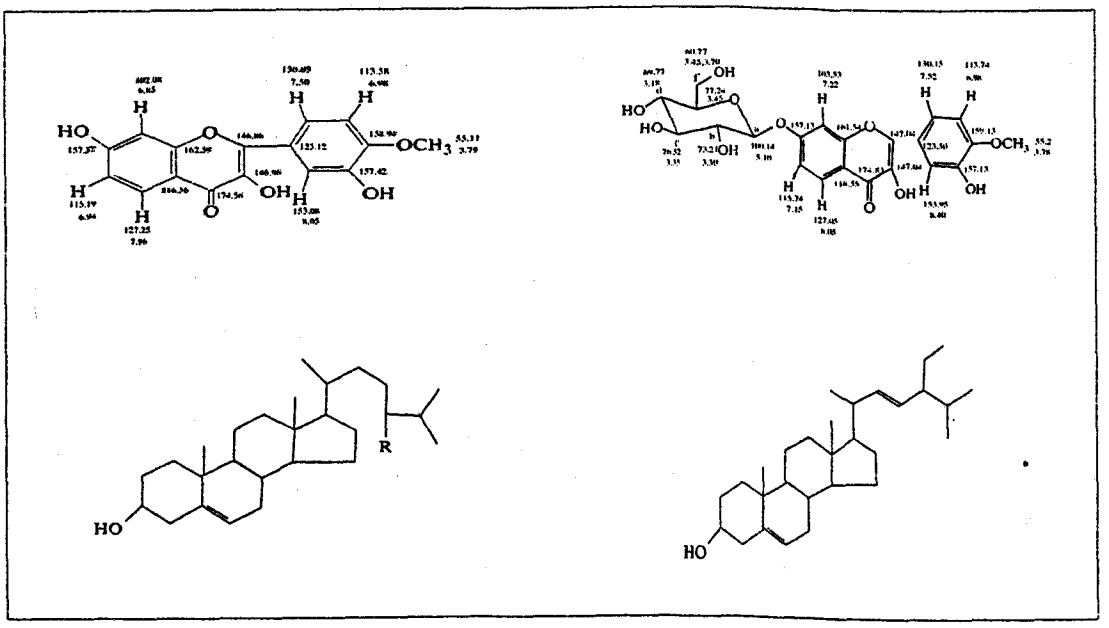
กวาวเครือขาวเป็นสมุนไพรที่ใช้กันมาแต่สมัยโบราณ โดยเฉพาะทางภาคเหนือใช้กันมากในรูปของยาอายุวัฒนะ บำรุงเลือด บำรุงกำลัง ทำให้ทรวงอกเต่งตึง ผมดำ ผิวพรรณดี นอนหลับสนิท แก้โรคตาฟาง ต้อกระจก ความจำดี และอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่า กวาวเครือขาวมีคุณสมบัติของสารหลายกลุ่มที่มีสารออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนในเพศหญิงอีกด้วย ส่วนโทษของกวาวเครือขาวมีผู้รายงานว่า ในหัวกวาวเครือขาวมีสารพิษบางตัวที่มีผลต่อเซลล์ของตับต่อมหมวกไต และเซลล์เม็ดเลือดแดงในสัตว์ทดลอง

ลักษณะการใช้

เนื่องจากสรรพคุณของกวาวเครือมีใช้ทั้งในรูปแบบของยาอายุวัฒนะ อาหารเสริม และเครื่องสำอาง ตลอดจนการใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ใน พ.ศ. 2542 เป็นปีที่มีการตื่นตัวเรื่องกวาวเครือมาก มีการขอขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนโบราณที่มีกวาวเครือขาวเป็นส่วนประกอบกว่า 30 ชนิด (มูลนิธิการแพทย์แผนไทย, 2548) การใช้เป็นยา ปั้นให้เท่าเมล็ดพริกไทย ซึ่งจะได้ปริมาณ 30 มิลลิกรัมต่อวัน ผสมตัวยาอื่นๆ ตามตำรับ กรณียาสมัยใหม่ ควรให้ได้ตัวยาประมาณ 30-50 มิลลิกรัมต่อวันจะมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้การใช้เป็นอาหารเสริมจะต้องระบุกลุ่มผู้บริโภคโดยให้ใช้ในสตรีวัยทองเท่านั้น การใช้เป็นเครื่องสำอางนิยมทำในรูปครีมเพื่อการรักษาและให้ใช้ได้ไม่เกิน 50 มิลลิกรัม ถ้ามากกว่านั้นอาจมีปัญหาผลข้างเคียงได้



รูปที่ 4 *สารสำคัญต่างๆ ที่พบในหัวกวาวเครือขาว (ประสาร ฉลาดคิด, 2546 อ้างอิง Ingham et al., 1986; William et al., 1989)*



รูปที่ 5 *สารสำคัญต่างๆ ที่พบในหัวกวาวเครือแดง (บุญร่วม คิดค้า, 2547 อ้างอิง ธนาธิป รักศิลป์, 2537)*

แหล่งกวาวเครือในธรรมชาติ

มี 9 แหล่งที่พบ คือ (1) เชียงใหม่ (2) กำแพงเพชร (3) เลย (4) กาญจนบุรี (5) แหล่งโคราช (ลพบุรี สระบุรี โคราช) (6) ประจวบคีรีขันธ์ (7) เชียงราย (8) ปราจีนบุรี (9) เพชรบูรณ์ (เขาค้อ)' (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2548)

สภาพแวดล้อมที่ชอบ การปลูก และลักษณะธรรมชาติ

พบมากใน ป่าเต็งรัง ป่าผลัดใบผสม ป่าไผ่ป่าเบญจพรรณแล้ง ป่าก่อเชิงเขาหินปูน ริมห้วยหรือริมธารที่มีน้ำไหลตามฤดูกาล มักจะมีหินปูน หินทราย หรือดินลูกรังผสมอยู่ด้วย ซึ่งมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ราว 5.5 พบได้ในภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ บนที่ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลประมาณ 250-800 เมตร พบกวาวเครือกระจายพันธุ์อย่างน้อยใน 13 จังหวัด พบมากในภาคเหนือโดยเฉพาะในดินที่มีอินทรียวัตถุสูงลงมาจนถึงเทือกเขาตะนาวศรีในภาคตะวันตกและในแนวเทือกเขาเพชรบูรณ์ ทางฝั่งขวาของแม่น้ำป่าสัก จากทางจังหวัดเลยลงมาจนถึงจังหวัดลพบุรี สระบุรี และนครราชสีมา (กรมวิชาการเกษตร, 2548) โดยทั้งกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดงมีการเจริญเติบโตในรอบปีดังแสดงในรูปที่ 6 และ 7

พระราชบัญญัติพืชสงวน

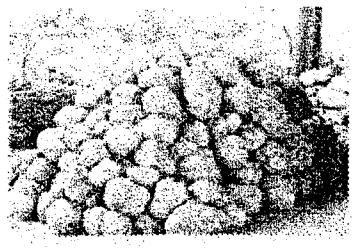
ปี พ.ศ. 2542 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ประกาศให้กวาวเครือขาวอยู่ในบัญชีพืชสงวนอันดับที่ 8 ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518 (ฉบับที่ 1) (กรมวิชาการเกษตร, 2548) ซึ่งห้ามส่งออก และสงวนให้ใช้เพาะปลูกภายในประเทศ เนื่องจากเกรงว่าหากพืชนี้ถูกนำไปปลูกในต่างประเทศแล้วก็จะกลับมาเป็นคู่แข่งทางการค้าได้ จึงห้ามส่งออก หลังจากที่บริษัทผลิตเครื่องสำอางของญี่ปุ่นและเกาหลีได้จดสิทธิบัตรกวาวเครือถึง 20 รายการ ในรูปของเครื่องสำอางและยา กระทรวงสาธารณสุขจึงตั้งคณะกรรมการเพื่อรวบรวมหลักฐานฟ้องศาลทรัพย์สินทางปัญญาเพื่อเพิกถอนสิทธิบัตร และหลักฐานที่สำคัญคือ ตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร ซึ่งท่านได้รวบรวมสูตรยากวาวเครือไว้เป็นเล่มแรกของไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2474

สถานการณ์ราคาและความต้องการวัตถุดิบของกวาวเครือ

เฉพาะยอดสินค้าที่ผลิตจากกวาวเครือภายในประเทศในปี พ.ศ. 2542 คาดว่ามีไม่ต่ำกว่า 500 ล้านบาท และปัจจุบันมูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์กวาวเครือและผลิตภัณฑ์ที่มีกวาวเครือเป็นองค์ประกอบไปยังตลาดต่างประเทศคาดว่ามีมูลค่าประมาณ 1,500 ล้านบาท (มูลนิธิการแพทย์แผนไทย, 2548) และราคาของกวาวเครือตากแห้งประมาณ 300-500 บาทต่อกิโลกรัม โดยวัตถุดิบส่วนใหญ่ (รูปที่ 8) คือ กวาวเครือที่ขุดออกจากแหล่งต่างๆ ในป่าธรรมชาติ โดยไม่มีการอนุรักษ์ และการควบคุมที่ดีพอ จึงทำให้กวาวเครือลดปริมาณลงอย่างรวดเร็ว และอาจหมดไปในที่สุด ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้ด้วยการปลูกเพื่อใช้ประโยชน์แทนการลักลอบขุดจากป่า

การปลูก

กรมวิชาการเกษตรแนะนำให้ปลูกกวาวเครือขาวโดยเตรียมหลุมปลูกขนาด 50 x 50 x 50 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมักรองพื้นอัตรา 1-3 ตันต่อไร่ ควรปลูกในดินร่วนหรือดินร่วนปนทราย การระบายน้ำดี ค่า pH 5.23-6.46 การทำค้างจะทำให้การดูแลและเก็บเกี่ยวผลผลิตได้สะดวกขึ้นที่ระยะปลูก 2 x 2 เมตร พบว่า ต้นสามารถเจริญเติบโตดีแต่ต้องทำการตัดแต่งบังคับทรงพุ่มไม่ให้เลื้อยพันกันมากเพื่อให้การดูแลรักษาและเก็บเกี่ยวได้ง่าย ในฤดูแล้งควรให้น้ำอย่างน้อยอาทิตย์ละ 2 ครั้ง เพื่อการสร้างหัวและเจริญเติบโต การให้น้ำที่เพียงพอในระยะออกดอกและติดฝัก จะทำให้การติดฝักและเมล็ดสูงขึ้น (ประสาร ฉลาดคิด, 2546) การใส่ปุ๋ยสูตร 12-24-12 อัตรา 35 กิโลกรัมต่อไร่ ทำให้การพัฒนาของดอก

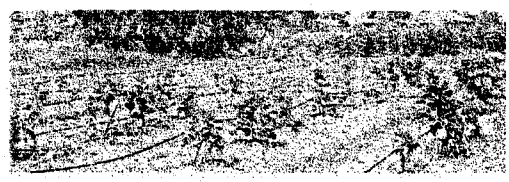


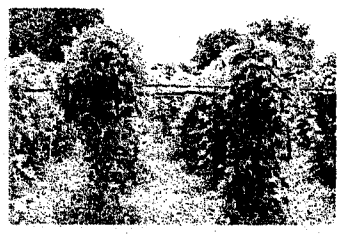
รูปที่ 8 *กวาวเครือขาวที่ขุดจากป่าเพื่อรอขาย และการเก็บเกี่ยวกวาวเครือแดงของชาวบ้าน*

เร็วที่สุด และเมื่อใส่ร่วมกับแคลเซียมโบรอนความเข้มข้น 10 ppm และพ่นด้วยสาร NAA ความเข้มข้น 100 ppm ทำให้มีจำนวนฝักต่อช่อดอก จำนวนเมล็ดต่อฝักและน้ำหนักดีที่สุด (พรทิพย์ จันทร์ราช, 2543) ขณะที่กวาวเครือแดงที่ปลูกด้วยเมล็ดจะสร้างรากสะสมอาหารได้ประมาณ 1-3 รากต่อต้น เมื่ออายุได้ 1 เดือน หรือปลูกด้วยเหง้าที่มีรากที่สมบูรณ์ติดอยู่อย่างน้อย 1 ราก จะมีรากสะสมอาหารจำนวน 5-7 ราก ต่อต้น ภายใน 1-2 เดือนหลังปลูก การทำค้างจะช่วยในการรับแสง ช่วยพยุงต้น และดูแลรักษาได้ง่ายขึ้น ในปีที่ 2 พบว่าระยะปลูก 1.5 x 1.5 เมตร และ 3 x 3 เมตร มีการเจริญเติบโตของต้นและหัวไม่แตกต่างกัน โดยที่อายุ 2 ปี จะได้น้ำหนักต่อรากประมาณ 0.3-0.5 กิโลกรัม หน้าแล้งควรให้น้ำอาทิตย์ละ 2 ครั้ง เพื่อให้การเจริญของต้นเป็นไปอย่างต่อเนื่อง (บุญร่วม คิดค้า, 2547) และในรูปที่ 9 แสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตในสภาพแปลงปลูกของกวาวเครือทั้งสองชนิด

ข้อดี และข้อเสีย

กวาวเครือขาวมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคค่อนข้างสูงเมื่อใช้ในปริมาณ 30-100 มิลลิกรัมต่อวัน ซึ่งจะส่งผลดีในด้านการรักษาอาการร้อนวูบวาบ และนอนไม่หลับของสตรีวัยทอง เนื่องจากฤทธิ์สารสำคัญในกวาวเครือขาว ซึ่งมีการวิจัยยืนยันว่ามีผลของสารคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนซึ่งมีประโยชน์มากในการใช้เพื่อทดแทนฮอร์โมนในสตรีวัยหมดประจำเดือน นอกจากนี้ยังให้ผลในด้านชะลอความชราช่วยให้กินได้ นอนหลับแล้วยังช่วยป้องกันโรคกระดูกพรุนได้อีกทางหนึ่ง และมีแนวโน้มที่จะให้ผลดีในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งกำลังมีการวิจัยอยู่ในปัจจุบัน การบริโภคที่ไม่ถูกต้องมีข้อเสียหลายประการ เช่น การมีฤทธิ์คุมกำเนิด ทำให้มีบุตรยาก หรือแท้งบุตรได้ จึงต้องมีการห้ามใช้ในวัยหนุ่มสาว หรือ การมีฤทธิ์ไปกดภูมิคุ้มกัน และการมีผลข้างเคียงแบบฮอร์โมน การมีฤทธิ์ต่อเต้านม และทำให้ท่อน้ำนมยาวขึ้นซึ่งเป็นผลของเอสโตรเจนนั้น มีข้อสังเกตบางประการว่ามีผลทำให้มีการสร้างน้ำนมซึ่งเป็นผลจากเทสโทสเตอโรน (testosterone) หรือไม่ ซึ่งถ้ามีอาจทำให้เสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งบางอย่างได้เนื่องจากมีฮอร์โมนตังกล่าวในร่างกายมากขึ้น ซึ่งต้องรอผลการวิจัยในระยะยาวต่อไป





รูปที่ 9 *กวาวเครือขาว และกวาวเครือแดงที่ปลูกด้วยระยะ 2 x 2 เมตร ที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี*

เอกสารอ้างอิง :

กรมวิชาการเกษตร. (2548). กวาวเครือขาว-พืชมหัศจรรย์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

ธนาธิป รักศิลป์. (2537). องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บุญร่วม คิดค้า. (2547). อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และการเขตกรรม ต่อการเจริญเติบโต และการสะสมสารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) วิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิต สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

บุญร่วม คิดค้า. (2547) อ้างถึง ธนาธิป รักศิลป์ 2537, อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และการเขตกรรมต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) วิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิต สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ประสาร ฉลาดคิด. (2546). อิทธิพลของสภาพแวดล้อมและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การออกดอก การติดฝักและเมล็ดและการสะสมสาร Daidzein และ Genistein ในหัวกวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica*). วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาเอก สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ประสาร ฉลาดคิด. (2546). อ้างถึง Ingham *et al.*, 1986; Ingham *et al.*, 1989 and William *et al.*, 1989 การออกดอก การติดฝักและการสะสมสาร Coumestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica*). วิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิต สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

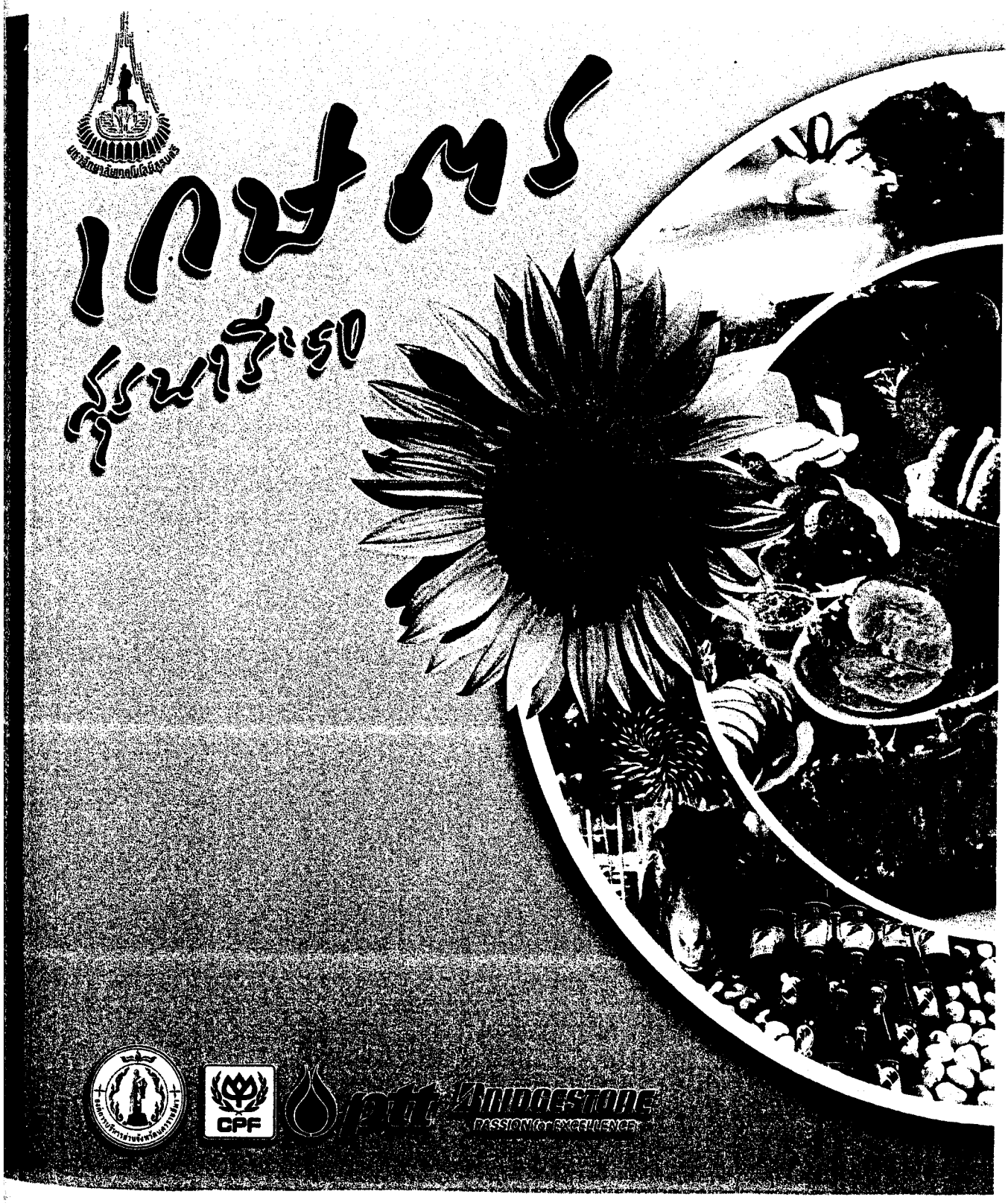
พรทิพย์ จันทร์ราช. (2548). การออกดอก การติดฝักและการสะสมสาร Coumestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica*) วิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิต สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. (2548). บทสรุปของการสัมมนาวิชาการกวาวเครือ (เทปบันทึกเสียง). ในการสัมมนาวิชาการ เรื่อง กวาวเครือกับการพัฒนาและคุ้มครองอย่างยั่งยืน. 13-15 กันยายน 2548. กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี.

มูลนิธิการแพทย์แผนไทย. (2548). กวาวเครือ...การพัฒนาและคุ้มครองอย่างยั่งยืน. ใน: เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ เรื่อง กวาวเครือกับการพัฒนาและคุ้มครองอย่างยั่งยืน. 13-15 กันยายน 2548. กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี.

สากล เจรจา. (2548) เปิดตำรายากวาวเครือเล่มแรก. หนังสือพิมพ์กรุงเทพธุรกิจ ปีที่ 18 ฉบับที่ 5949 วันพุธที่ 5 มกราคม พ.ศ. 2548. หน้า 3.

โสภณ เริงสำราญ และคณะ. (2543). ฟลาโวนอยด์และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์จากกวาวเครือแดง และฤทธิ์ต่อต้านไซคริกเอเอ็มพีฟอสโฟไดเอสเทอเรส. ว. วิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 25(1): 169-176.


มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เกษตร
สัมพันธ์
CPF
BRIDGESTONE
PASSION for EXCELLENCE

กวาวเครือแดง

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

นางสาวเกษร เมืองทิพย์ นายบุญร่วม คิดค้า
นางสาวจารุจินันท์ หล้ากวนวัน นายวิโรจน์ เชาว์วิเศษ
และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี มานะเกษม

กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) เป็นพืชสมุนไพรไทยพื้นบ้านชนิดหนึ่ง ที่มีการใช้กันมาแต่โบราณ ลักษณะเป็นไม้ยืนต้นรอเลื้อย มีอายุหลายปี มีรากเป็นแบบรากสะสมอาหารขนาดใหญ่ มีสรรพคุณเป็นยาอายุวัฒนะ ช่วยบำรุงสมอง บำรุงโลหิต บำรุงกำลัง บำรุงผม ทำให้ผมหงอกกลับดำ แก้ปัญหาอาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศของผู้ชาย เป็นต้น ในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์ประเภทอาหารเสริมสุขภาพหลายชนิดที่ผลิตจากกวาวเครือแดงโดยตรง หรือใช้กวาวเครือแดงเป็นส่วนผสมออกสู่ตลาดผู้บริโภคเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะในตลาดต่างประเทศ นอกจากนี้ ยังมีการส่งออกกวาวเครือแดงในรูปสารสกัดหยาบ (crude extract) ไปจำหน่ายยังต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศเยอรมันญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา จากความต้องการนำมาใช้ประโยชน์มากขึ้นทำให้กวาวเครือแดงในธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็ว และเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ การวิจัยด้านการปลูกเพื่อใช้ประโยชน์จึงเป็นทางออกที่ดีอีกทางหนึ่งในการแก้ปัญหาดังกล่าว

องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง

1. β-Sitosterol

β-Sitosterol เป็น sterol ชนิดหนึ่งที่พบในพืชบางชนิด เช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันรำข้าว น้ำมันถั่วลิสง rye germ oil เป็นต้น β-sitosterol สามารถช่วยลดคอเลสเทอรอล (cholesterol) ได้ การบริโภค β-sitosterol ปริมาณ 500 มิลลิกรัม ถึง 10 กรัมต่อวัน สามารถลดระดับของคอเลสเทอรอลในเลือดได้ การบริโภคในปริมาณ 60 มิลลิกรัม ถึง 130 มิลลิกรัมต่อวัน ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งต่อมลูกหมากชนิด benign prostatic hyperplasia (Field et al., 1997)

2. Stigmasterol

Stigmasterol เป็นสารกลุ่มไขมันพืช ที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์ steroid hormone ที่สามารถแสดงฤทธิ์ต่อระบบสืบพันธุ์ โดยใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาคุมกำเนิด

3. Flavonoids

แอนโธไซยานินเป็นสารประกอบชนิดหนึ่งของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ทำให้เกิดสารสีเหลืองแดง สารฟลาโวนอยด์ที่พบในกวาวเครือแดง คือ 3,7,3- trihydroxy-4-methoxy flavone สารชนิดนี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP phophodiesterase ได้สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ คุณสมบัติของเอนไซม์ชนิดนี้ จะไปยับยั้งการแข็งตัวขององคชาต โดยทำให้เลือดไหลเข้าสู่องคชาตได้ไม่เต็มที่ และสาร 3,3-dihydroxy-4-methoxyflavone-7-O-β-D-glucopyranoside พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP-phosphodiesterase ได้เช่นกัน (ไพลิน สิทธิวิเชียรวงศ์, 2542) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระได้เช่นกัน (Markarkis, 1982)

4. Steroids glycosides

สารในกลุ่มนี้ประกอบด้วย β-sitosteryl-3-O-β-D-glucopyranoside และ stigmasteryl-3-O-β-D-glucopyranoside (ธนาธิป รักศิลป์, 2537)

แอนติออกซิแดนท์ (antioxidant) ในกวาวเครือแดง

แอนติออกซิแดนท์ (antioxidant) เป็นสารต่อต้านหรือลดอนุมูลอิสระทำหน้าที่ปกป้องอันตรายจากอนุมูลอิสระ โรคมะเร็ง โรคเอดส์ การเสื่อมสภาพของเซลล์ ความชรา โรคข้ออักเสบ และอีกหลายโรค มีสาเหตุเนื่องมาจากการเพิ่มของอนุมูลอิสระ การเพิ่มของปฏิกิริยาออกซิเดชัน และการลดลงของสารต่อต้านอนุมูลอิสระหรือแอนติออกซิแดนท์ (ไมตรี สุทธจิตต์ และคณะ, 2545)

อนุมูลอิสระ (free-radicals) เป็นสารที่มีอะตอมหรือหมู่อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (singlet) อาจเกิดจากการขาดหรือการเกินของอิเล็กตรอน อนุมูลอิสระมีฤทธิ์ออกซิไดซ์ที่ว่องไวมาก คือมักทำปฏิกิริยากับอะตอมของธาตุอื่นเสมอ ตัวอย่างอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ และอนุมูลไฮดรอกซิล ซึ่งสามารถออกซิไดซ์สารชีวโมเลกุลได้แทบทุกชนิดให้มีการทำลายและสูญเสียโครงสร้างทางเคมี หน้าที่ทางชีวภาพของเซลล์เกิดการเสื่อมสภาพและทำลายเซลล์ และเนื้อเยื่อ สารที่จัดว่าเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ เช่น แอนโธไซยานิน (anthocyanin) เบต้ากลูแคน (β-glucan) และวิตามินซี เป็นต้น การวิจัยในประเทศญี่ปุ่นพบว่าในสัตว์ทดลอง แอนโธไซยานินสามารถกระตุ้นให้ขน

งอกกลับคืนมาเร็วกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ใช้สารถึง 1 เท่า การศึกษาในหลอดทดลองยืนยันว่าสารแอนโธไซยานินกระตุ้นให้เซลล์รากผม (hair keratinocytes) สร้างผมมากขึ้นถึง 3 เท่า นอกจากนี้แอนโธไซยานินยังช่วยให้ผิวหนังดูอ่อนกว่าวัย ช่วยให้ผิวหนังไม่เสื่อมสภาพ (National Center for Genetic Engineering and Biotechnology at Kasetsart University, 2546)

แอนโธไซยานิน (anthocyanin)

แอนโธไซยานินเป็นแอนติออกซิแดนท์ (antioxidant) ชนิดหนึ่ง จัดเป็นรงควัตถุที่มีสีช่วงสีแดงถึงสีน้ำเงิน พบในผลไม้ ผัก ดอกไม้ และพืชหัวหลายชนิด เช่น องุ่น ดอกอัญชัน กระเจี๊ยบแดง เป็นต้น โมเลกุลประกอบด้วยแอนโธไซยานิดิน หรือเรียกว่า aglycone ซึ่งจับกับน้ำตาลด้วยพันธะ β-glycosidic แอนโธไซยานิดินที่พบมากในธรรมชาติมีอยู่ 6 ชนิด แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดและสีของแอนโธไซยานิดิน

ชนิดของแอนโธไซยานิดิน	สี
Pelargonidin	ส้ม-แดง
Cyanidin	น้ำเงิน-แดง
Delphinidin	น้ำเงิน-แดง
Peonidin	ส้ม
Petunidin	ส้ม-แดง
Malvidin	น้ำเงิน-แดง

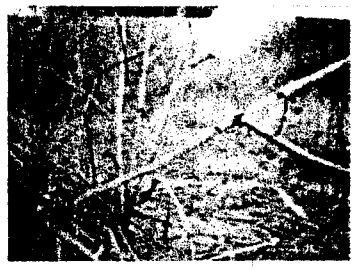
ดัดแปลงจาก Markarkis (1982)

สรรพคุณของกวาวเครือแดง

กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) มีสรรพคุณทั่ว ๆ ไป ตามที่หมอพื้นบ้านเล่าสืบต่อกันมา เช่น ปั้นผงกวาวเครือแดงเป็นก้อนขนาดเท่าเมล็ดพริกไทย แล้วแบ่งกินสองในสามส่วน สามารถรักษาอาการอ่อนเพลีย ผอมแห้งแรงน้อย กินไม่ได้ นอนไม่หลับ สรรพคุณกวาวเครือแดงเพิ่มเติมว่าใช้เป็นสมุนไพรรักษาแก้ปวดเมื่อยตามกล้ามเนื้อของร่างกาย บำรุงเส้นผมให้ดกดำ บำรุงสายตา บำรุงผิวพรรณให้เต่งตึง บำรุงฮอร์โมนเพศชาย และบำรุงกำลัง (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2541) องค์ประกอบทางเคมีของหัวกวาวเครือแดงประกอบไปด้วย steroid, steroid glycoside, flavonoid, flavonoid glycoside และ amino acid (ธนาธิป รักศิลป์, 2537) สำหรับ flavonoid ที่พบในหัวกวาวเครือแดงอาจเป็นไปได้ว่าเป็นสารแอนโธไซยานิน เนื่องจากที่หัวกวาวเครือแดงเมื่อได้รับบาดแผลจะมียางสีแดงไหลออกมา สารแอนโธไซยานินจะมีสีส้ม สีแดง และสีน้ำเงิน แอนโธไซยานินเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ การเสื่อมสภาพของเซลล์ และความชรา มีสาเหตุและกลไกเนื่องมาจากการเพิ่มของอนุมูลอิสระ (Markarkis, 1982) การเพิ่มของปฏิกิริยา

ดอกกวาวเครือแดง

การแตกเครือเถาใหม่



ฝักกวาวเครือแดง

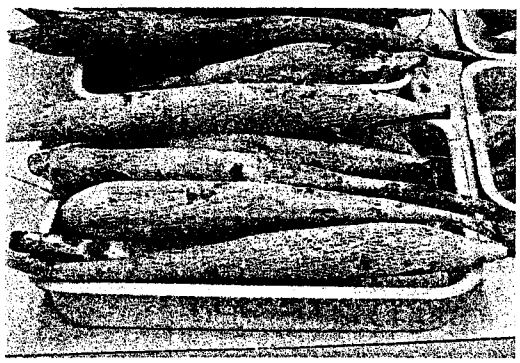
เมล็ดกวาวเครือแดง

ออกซิเดชัน และการลดลงของสารต่อต้านอนุมูลอิสระหรือแอนติออกซิแดนท์ (National Center for Genetic Engineering and Biotechnology at Kasetsart University, 2546) นอกจากนี้ กวาวเครือแดงช่วยในการบำรุงประสาท ยับยั้งอาการผมร่วง ผมหงอก ทำให้ในปัจจุบันมีการผลิตสมุนไพรออกมาในรูปผลิตภัณฑ์เพื่อจำหน่ายเป็นอาหารเสริม เช่น ยาแคปซูลสมุนไพรกวาวเครือแดงซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์รักษาอาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศในเพศชาย และเจลสำหรับสุภาพบุรุษ (PowerUp Gel) ซึ่งเป็นเจลบำรุงสมรรถภาพอวัยวะเพศชาย (วิชัย เชิดชีวศาสตร์, 2547)

สาร 3,7,3-trihydroxy-4-methoxyflavone (ฟลาโวนอยด์) ในรากกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP-phosphodiesterase (cyclic adenosine 3,5-monophosphate phosphodiesterase) ได้สูงกว่าไม่ใช้สารนี้ 50 เปอร์เซ็นต์ และอาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศของผู้ชายเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ (cAMP-phosphodiesterase) เอนไซม์นี้จะไปยับยั้งการแข็งตัวขององคชาต โดยทำให้เลือดไหลเข้าสู่องคชาตได้ไม่เต็มที่ (ไพลิน สิทธิวิเชียรวงศ์, 2542) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP-phosphodiesterase ของสาร 3,7,3-trihydroxy-4-methoxyflavone และสาร 3,3-dihydroxy-4-methoxyflavone-7-O-β-D-glucopyranoside ในรากกวาวเครือแดง พบว่า สารทั้งสองมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cAMP-phosphodiesterase ได้ที่ระดับของค่า inhibitory concentration 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) = 190 และ 58 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ (โสภณ เริงสำราญ และคณะ, 2543)

กวาวเครือแดงที่โตเต็มที่จะเลื้อยพันต้นไม้ที่อยู่ใกล้เคียง

รากสะสมอาหารกวาวเครือแดง



การใช้ประโยชน์จากกวาวเครือแดง

การทราบองค์ประกอบทางเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง ทำให้มีการศึกษาด้านฤทธิ์ทางชีวภาพ ด้านพิษวิทยา และความปลอดภัยของผู้บริโภค เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ สามารถสรุปข้อมูลเกี่ยวกับการนำสารสำคัญที่พบในกวาวเครือแดงมาใช้ประโยชน์ได้ดังนี้

การนำกวาวเครือแดงมาผลิตทั้งเครื่องดื่มและอาหารคาวหวาน ส่วนที่นำมาดื่มคือ ดอกกวาวเครือแดง โดยนำมาตากแห้งแล้วหั่น เพื่อชงเป็นชา (อรดี สหวัชรินทร์, 2542)

สารสกัดหยาบจากเปลือกรากกวาวเครือแดงแสดงการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ acetylcholinesterase (AchE) ได้ 50-65 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการรักษาโรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease)

สารกลุ่มไขมันพืช (phytosterols) ที่พบในกวาวเครือแดง ได้แก่ β-sitosterol, stigmasterol และ campesterol จะมีผลต่อเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมันในร่างกาย มีผลต่อความสมดุลของเกลือแร่อิเล็กโทรไลต์ และน้ำมีฤทธิ์บรรเทาการอักเสบ ฤทธิ์กดภูมิคุ้มกัน ผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด ผลต่อการเจริญเติบโต การแบ่งเซลล์ กล้ามเนื้อและกระดูก (Nes et al., 1993) และมีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่และมะเร็งเต้านม (Awad and Fink, 2005) รวมถึงการนำไปใช้เป็นยาลดระดับคอเลสเทอรอลในโลหิตได้ และพบว่ามีคุณสมบัติคล้ายเอสโตรเจน และเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สามารถแสดงฤทธิ์ต่อระบบสืบพันธุ์ โดยใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ผลิตยาคุมกำเนิดได้ (วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม, 2540)

แต่ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำกวาวเครือแดงมาใช้ในการคุมกำเนิด

ในชายสูงวัยจะช่วยทำให้ร่างกายสมดุล และพบว่าการใช้ในปริมาณน้อย ๆ อย่างต่อเนื่องไม่มีผลเสียต่อร่างกายแต่อย่างใด ทำให้ร่างกายแสดงผลฮอร์โมนเพศชายได้มากขึ้น สมรรถภาพทางเพศเพิ่มขึ้น ผมไม่ร่วงและต้านฤทธิ์มะเร็งที่ต่อมลูกหมาก (ทองทิศ ทองใหญ่, 2546)

การใช้กวาวเครือแดงเป็นอาหารเสริมสุขภาพในรูปแคปซูลละลายในกระเพาะอาหารในกลุ่มบุรุษวัยเจริญพันธุ์ที่มีอายุตั้งแต่ 20 ปีขึ้นไป พบว่า เกิดการตอบสนองในเชิงบวกต่อสมรรถภาพทางเพศ โดยทำให้อวัยวะเพศแข็งตัวเร็วขึ้น และอยู่ได้นานหลังการหลั่งอสุจิ บางรายพบว่ามีการสร้างอสุจิได้มากขึ้น นอกจากนี้ ยังพบว่ามีผลเชิงบวกต่อความรู้สึกกระปรี้กระเปร่า และมีผลเชิงบวกต่อการกระตุ้นให้ผมสีขาวเปลี่ยนเป็นสีดำอีกด้วย (วันเฉลิม จันทรากุล, 2542)

กรณีศึกษาของหมอพื้นบ้านที่เล่าสืบกันมาว่าตำรับยาที่ปรุงจากกวาวเครือแดงสามารถรักษาอาการอ่อนเพลีย ผอมแห้ง แรงน้อย กินไม่ได้ นอนไม่หลับ โดยการกินผงกวาวเครือแดงที่ปั้นเป็นก้อนขนาดเท่าเมล็ดพริกไทย แล้วแบ่งกินสองในสามส่วน (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2541)

การศึกษาผลกระทบที่เกิดจากการให้กวาวเครือแดงในหนูขาว พบว่า หนูขาวมีน้ำหนักของตับเพิ่มขึ้น เซลล์ตับมีขนาดใหญ่ขึ้น และตับทำงานมากขึ้น และมีคอเลสเทอรอลลดลงด้วย แต่ไม่พบผลดังกล่าวเมื่อให้สารสกัดปริมาณต่ำกว่า 50 มิลลิกรัมต่อวัน จึงสรุปว่าการกินกวาวเครือแดงในปริมาณที่ต่ำไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่อาจทำให้เกิดอันตรายต่ออวัยวะภายในของสัตว์ทดลอง (อธิพงษ์ มานะเสถียร, 2545)

ตำรับยาไทยที่มีกวาวเครือแดงเป็นส่วนผสม จะมีกวาวเครือเป็นส่วนประกอบเพียง 5-30 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น และการนำมาปรุงยาจะต้องลดความเป็นพิษลงโดยใช้พิกัดยามาช่วยควบคุมฤทธิ์ พิกัดยาที่นิยมใช้ร่วมกัน ได้แก่ พิกัดยาเบญจกูล ที่ประกอบด้วย ดอกดีปลี รากชะพลู เถาสะค้าน รากเจตมูลเพลิงแดง และหัวขิงแห้ง หรือ พิกัดยาตรีผลา ซึ่งประกอบด้วย ลูกสมอไทย ลูกสมอพิเภก ลูกมะขามป้อม เป็นต้น การบริโภคกวาวเครือทุกชนิดโดยไม่ผ่านการลดพิษหรือไม่ใช้พิกัดยาควบคุมฤทธิ์อาจทำให้เกิดอันตรายได้

Stigmasterol เป็นสารที่มีสรรพคุณเหมือน β-sitosterol นิยมใช้ร่วมกันในการป้องกันโรค และยังเป็นสารสำคัญในการสังเคราะห์ steroid hormone ในโรงงานอุตสาหกรรม (วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม, 2540) อีกทั้งยังเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สามารถแสดงฤทธิ์ต่อระบบสืบพันธุ์ โดยใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาคุมกำเนิด ในปัจจุบันกำลังได้รับความนิยมในการบริโภคเป็นอาหารเสริมสุขภาพ และช่วยลดการสะสมของคอเลสเทอรอลในร่างกายของมนุษย์ได้

แหล่งกวาวเครือแดงในธรรมชาติ

สามารถพบกวาวเครือแดงได้ตามป่าแล้งและป่าเบญจพรรณบริเวณป่าพื้นราบทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ป่าแถบศรีราชาจนถึงจันทบุรี และภาคตะวันตกของประเทศไทย และมีรายงานพบในประเทศพม่าในบริเวณป่าทั่วไป ตั้งแต่ Pegu และ Mortaban ถึงตอนบนของ Tenasserim (เสงี่ยม พงษ์บุญรอด, 2522 และ Kurz, S., 1877 อ้างโดย จิรศักดิ์ กีรติคุณากร และ ไพฑูรย์ พิศุทธิ์สินธุ์, 2543) กวาวเครือแดงจะเจริญเติบโตสูงจากระดับน้ำทะเล 300-500 เมตร เช่น ขอนแก่น หนองคาย มหาสารคาม (นิสากร ปานประสงค์, 2542) นอกจากนั้นยังพบที่ นครราชสีมา แพร่ ลำปาง สกลนคร กาฬสินธุ์ เป็นต้น

การปลูกกวาวเครือแดง

ข้อมูลด้านการปลูกกวาวเครือแดงในปัจจุบันนั้น มีน้อยมาก ดังนั้นผู้ที่สนใจจะปลูก สงสัย และมีคำถามถึงวิธีการปลูกและการดูแลที่เหมาะสมต่าง ๆ เช่น ควรใช้ระยะปลูกเท่าไร ปลูกนานแค่ไหน หรือต้องดูแลอย่างไร เหล่านี้เป็นต้น เมื่อเราต้องการที่จะปลูกพืชชนิดนี้ไม่ว่าจะเพื่อวัตถุประสงค์ใดๆ ก็ตาม คำแนะนำต่าง ๆ ต่อไปนี้ น่าจะเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์อย่างยิ่งในการปลูกกวาวเครือแดงให้ได้ผลผลิตที่ดีตามมา การปลูก และดูแลกวาวเครือนั้นควรเลียนแบบธรรมชาติรวมถึงควรหลีกเลี่ยงการใช้สารฆ่าแมลงและสารกำจัดวัชพืชให้มากที่สุด ตัวอย่างวิธีการปลูกมีสองแบบคือ ปลูกร่วมกับไม้ยืนต้นในระบบวนเกษตร เช่น สวนป่า สวนไผ่ สวนสัก หรือไม้ผลอื่น ๆ และวิธีที่สองคือ ปลูกในแปลงกลางแจ้ง ทำค้างด้วยไม้ไผ่ เป็นต้น (อรดี สหวัชรินทร์, 2541) ซึ่งสอดคล้องกับหลักการ Good Agricultural Practices (GAPs) ของ European Phramaceutical Associations (EUROPHRAM) โดยอาศัยหลักการที่จะต้องรบกวนสภาพแวดล้อมให้น้อยที่สุด หลีกเลี่ยงสิ่งสกปรก (sludge) โลหะหนัก และสารเคมีที่ไม่ได้มาจากธรรมชาติ ปุ๋ยอินทรีย์ที่ใช้ควรเป็นปุ๋ยที่หมักได้สมบูรณ์หลีกเลี่ยงการใช้สิ่งขับถ่ายจากมนุษย์และใช้ปุ๋ยทุกชนิดอย่างประหยัดที่สุด (EUROPHRAM, www, 1998)

ระยะปลูกที่เหมาะสม

การปลูกที่ระหว่างต้น 1.5 x 1.5 เมตร และ 3 x 3 เมตร ไม่ทำให้การเจริญเติบโตของราก และลำต้นแตกต่างกัน ในขณะที่กวาวเครือแดงมีอายุประมาณ 14 เดือน แต่เมื่อกวาวเครือแดงมีอายุมากขึ้นการใช้ระยะปลูก 3 x 3 เมตร น่าจะมีความเหมาะสมมากกว่าเนื่องจากกวาวเครือแดงเป็นไม้เลื้อยอายุยืนยาว และคุณภาพของรากที่จะนำมาใช้ประโยชน์จะดีขึ้นตามอายุของรากและต้น ดังจะเห็นได้จากการวิจัยด้านปริมาณสารสำคัญในรากกวาวเครือแดงที่อายุประมาณ 14 เดือน เปรียบเทียบกับรากที่มีอายุหลายปี พบว่า รากที่อายุยังน้อยจะยังไม่สะสมสารสำคัญบางอย่างโดยเฉพาะสารที่เกี่ยวข้องกับการแก้ปัญหาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศที่เป็นวัตถุประสงค์หลักของการใช้ประโยชน์จากกวาวเครือแดง สิ่งที่สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนที่สุดคือน้ำยางสีเลือดที่จะไหลออกมาจากรากที่มีอายุมาก เมื่อรากเกิดบาดแผล แต่ในรากที่อายุยังน้อยจะพบเพียงน้ำยางสีเหลืองอ่อน ๆ ไหลออกมาเท่านั้น นอกจากนี้การปลูกกวาวเครือแดงยังจำเป็นที่จะต้องทำค้างด้วย เนื่องจากกวาวเครือแดงเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว การทำค้างจะช่วยให้การเข้าไปปฏิบัติงานในแปลงทำได้ง่ายขึ้น และช่วยในการควบคุมทรงพุ่มและการรับแสงแดดของกวาวเครือแดงให้ดีขึ้นด้วย (บุญร่วม คิดค้า, 2547)

จำเป็นหรือไม่ที่ต้องพรางแสง

การพรางแสงอาจมีความจำเป็นในการปลูกพืชสมุนไพรบางชนิด เนื่องจากในธรรมชาติพืชสมุนไพรมักพบว่าขึ้นอยู่ในป่าเขาที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง สมุนไพรที่เป็นพืชขนาดเล็กย่อมได้รับแสงแดดเพียงเล็กน้อยในการเจริญเติบโต แล้วให้ประสิทธิภาพทางการรักษาที่ดี แต่ในกวาวเครือแดงนั้น การปลูกโดยการพรางแสงหรือไม่พรางแสงนั้นไม่ทำให้การเติบโตของราก หรือลำต้นแตกต่างกัน แม้ว่าในธรรมชาติจะพบเห็นว่ากวาวเครือแดงต้องอาศัยการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว และเลื้อยพันต้นไม้อื่นขึ้นมารับแสงแดดอยู่บ้างก็ตาม

ต้นกวาวเครือแดง

ต้องรดน้ำบ่อยแค่ไหน

การให้น้ำแก่กวาวเครือแดงก็คงไม่แตกต่างมากนักกับการปลูกไม้ยืนต้นทั่วไป เนื่องจากกวาวเครือแดงเป็นพืชที่ค่อนข้างทนแล้ง และมีกลไกการป้องกันการขาดน้ำอย่างดี เช่น การมีน้ำยางสีเลือดไหลออกมาปิดบริเวณที่เกิดบาดแผล และแห้งไปอย่างรวดเร็ว การที่รากมีเปลือกหนาและแข็งเมื่ออายุมากขึ้น หรือแม้กระทั่งการผลัดใบทั้งต้น แต่จากการทดลองให้น้ำ สรุปได้ว่า การให้น้ำทุก 7 วัน เพียงพอต่อการเจริญเติบโต และการสร้างสารสำคัญบางอย่างในราก เช่น ทำให้กวาวเครือแดงสร้าง stigmasterol มากขึ้นด้วย (บุญร่วม คิดค้า, 2547)

ต้องเก็บเกี่ยวอย่างไร

ควรเลือกเก็บเกี่ยวรากที่มีขนาดใหญ่ อายุหลายปี เหตุผลตามที่ได้กล่าวอ้างไว้ข้างต้น หรืออาจทดสอบโดยการทำให้เกิดบาดแผลที่รากแล้วดูปริมาณของน้ำยางสีเลือด ถ้าบริเวณที่เกิดบาดแผลมีน้ำยางดังกล่าวไหลออกมาแสดงว่าเป็นอันใช้ได้ โดยปกติของกวาวเครือแดงมีรากแบบรากสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน หลังจากขุดขึ้นมาแล้วต้องรีบล้างทำความสะอาด และฝานให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ เพื่อให้แห้งง่ายขึ้น การทำให้แห้งทำได้โดยการตากแดด หรือใช้ตู้อบ เมื่อตากจนแห้งดีแล้วก็สามารถส่งขายหรือเก็บไว้ใช้ประโยชน์ต่อไป กรณีที่ต้องการเก็บไว้ควรเก็บในที่แห้งเย็นและอากาศถ่ายเทได้ดี

กวาวเครือแดงเป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์จากการศึกษาทั้งในด้านการขยายพันธุ์ การปลูก การดูแลรักษา รวมถึงการนำไปใช้ประโยชน์ต่าง ๆ ดังที่กล่าวมาข้างต้นแล้วนั้น จำเป็นต้องมีการศึกษาและค้นคว้าสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ ผลของสารออกฤทธิ์นั้น ๆ ปริมาณการใช้และผลข้างเคียงของสารนั้น เพื่อการใช้ประโยชน์ในการรักษาโรค หรือผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวกับสุขภาพอย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

จิรศักดิ์ กีรติคุณากร และ ไพฑูรย์ พิศุทธิ์สินธุ์. (2543). คู่มือการตรวจสอบกวาวเครือและทองเครือ. ฝ่ายพันธุ์พืช กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ธนาธิป รักศิลป์. (2537). องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นิสากร ปานประสงค์. (2542). กวาวเครือ ความหวังสมุนไพรไทย บทความพิเศษ. วารสาร UPDATE. (กันยายน-ตุลาคม): 40-45.

บุญร่วม คิดค้า. (2547). อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และการเขตกรรม ต่อการเจริญเติบโต และการสะสมสารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. (2541). การใช้กวาวเครือในแพทย์แผนไทยและแพทย์พื้นบ้าน. ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ. สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์, กรุงเทพฯ, หน้า 1-8.

ไพลิน สิทธิวิเชียรวงศ์. (2542). การคัดกรองสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชสมุนไพรโดยวิธียับยั้งไซคริกเอเอ็มพีฟอสโฟไดเอสเทอเรส. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ (เทคโนโลยีชีวภาพ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ไมตรี สุทธจิตต์, ปกฤษฎางค์ แก้วสุริยะ, ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ อุดมภัณฑ์ ขาลสุวรรณ. (2545). แอนติออกซิแดนท์และสารสำคัญในพืชสมุนไพรไทย. วารสารเภสัชศาสตร์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ, 3 (มกราคม-มิถุนายน): 254-26.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. (2540). พจนานุกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กรุงเทพฯ. 1,036 หน้า.

วันเฉลิม จันทรากุล. (2542). เจาะขุมทรัพย์สมุนไพรไทย. ไทย-ยูโร โปรเจคท์, กรุงเทพ. 206 หน้า.

โสภณ เริงสำราญ และคณะ. (2543). ฟลาโวนอยด์ และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ จากกวาวเครือแดง และฤทธิ์ต่อต้านไซคริกเอเอ็มพีฟอสโฟไดเอสเทอเรส. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 25(1): 169-176.

วิชัย เชิดชีวศาสตร์. (2547). ผลิตภัณฑ์เพิ่มสมรรถภาพทางเพศสำหรับท่านชาย [ออนไลน์]. http://www.siamnana.com.

อรดี สหวัชรินทร์. (2541). แนวทางการคัดเลือกพันธุ์ ขยายพันธุ์ และการปลูกกวาวเครือ. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนากวาวเครือ ณ สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 44 หน้า

อรดี สหวัชรินทร์. (2542). กวาวเครือ สมุนไพรครอบจักรวาล. วารสารเคหะการเกษตร, 23(4): 127-136.

อธิพงษ์ มานะเสถียร. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบผลของกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ที่พบในพื้นที่แตกต่างกันสองแห่ง ต่อ หัวใจ ตับ ไต ต่อมหมวกไต และองค์ประกอบของเลือดในหนูขาวเพศผู้ (*Rattus norvegicus*). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

Awad, A.B., and Fink, C.S. (2005). [On-line]. Available: http://www.nutrition.org.

European Phamaceutical Associations. (1998). Guidelines for good agricultural practice (GAP) of medicinal and aromatic plants [On-line]. Availiable: http://www.inaro.de/Deutsch/GAPengl.htm.

Field, F.J., Born, E., and Mathur, S.N. (1997). Effect of micellar β-sitosterol on cholesterol metabolism in CaCo-2 cells. Journal of Lipid Research, 38: 348-360.

Markarkis, P. (1982). Stabolity of anthocyanins in food. In: Anthocyanina as Food Colors. Markarkis, P. (ed). P. 163-178.

National Center for Genetic Engineering and Biotechnology at Kasetsart University. 2546 [online]. Availiable: http://dna.kps.ku.ac.th.

Nes, W.D., Parker, S.R., Crumley, F.G. and Ross, S.A. (1993). Regulation of Phytosterol Biosynthesis. Lipid matabolism in plant. United States.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

www.sut.ac.th

CPF

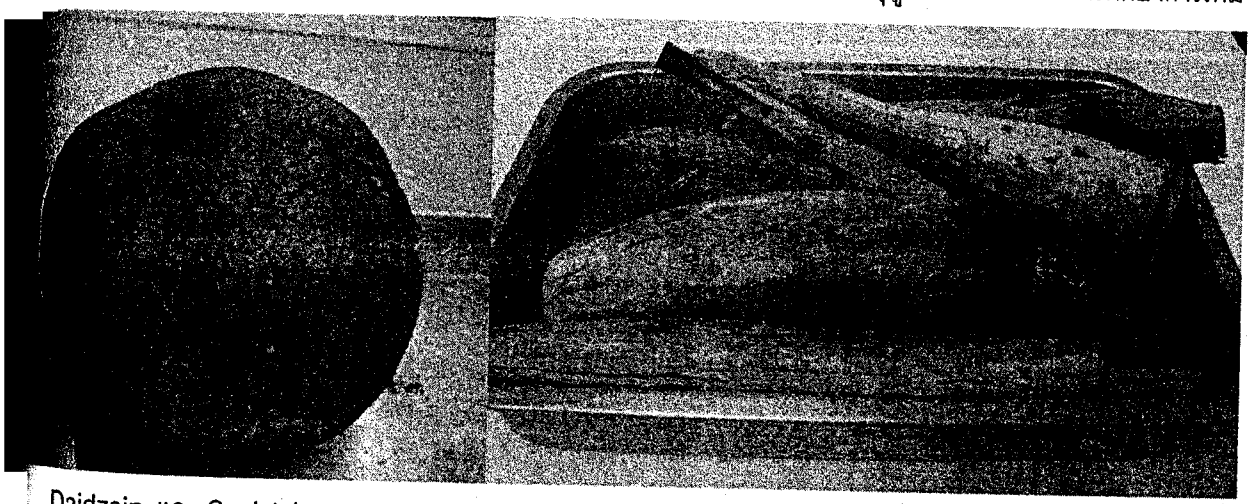
ptt

BRIDGESTONE
PASSION for EXCELLENCE

Science Park

ทางเพศของผู้ชายได้ เป็นต้น จากประโยชน์ดังกล่าวทำให้มีการขุดหัว (รากสะสมอาหาร) ของกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดงจากธรรมชาติออกมามาก ปริมาณกวาวเครือทั้งสองในธรรมชาติจึงลดลงอย่างรวดเร็ว รวมถึงปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สำคัญที่จะนำไปใช้ประโยชน์หรือใช้เป็นยาของกวาวเครือขาวทั้งสองชนิดที่ขุดจากธรรมชาตินั้นมีน้อย เนื่องจากปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สำคัญนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น อายุของกวาวเครือ เป็นต้น การหาวิธีเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญในกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดงจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

สารสำคัญในกวาวเครือขาว



Daidzein และ Genistein

Daidzein และ genistein มีคุณสมบัติเป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนอย่างอ่อน ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาสามารถช่วยลดการเกิดภาวะกระดูกพรุน (Osteoporosis) ในหญิงวัยหมดประจำเดือน ลดการเกิดไขมันอุดตันในเส้นเลือด โดยทำให้คลอเลสเตอรอลลดลง และยังยับยั้งการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิด การศึกษาการเพิ่มปริมาณของสารทั้งสองชนิดนี้โดยให้สารประกอบทองแดงทางใบ พบว่าสารประกอบทองแดง $CuCl_2$, $CuSO_4$ และ Cu-EDTA สามารถช่วยให้กวาวเครือขาวมีการสะสม daidzein และ genistein ในรากสะสมอาหารได้ และระดับความเข้มข้นของสารประกอบทองแดงทุกชนิดที่ 300 ppm สามารถช่วยให้กวาวเครือขาวมีการสะสมสารทั้งสองชนิดนี้มากที่สุด

Coumestrol

Coumestrol มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน coumestrol มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการต่อต้านกระบวนการเกิดและพัฒนาของเซลล์มะเร็ง ช่วยป้องกันการเกิดภาวะกระดูกพรุน (Osteoporosis) ในหญิงวัยหมดประจำเดือน ช่วยลดภาวะหลอดเลือดหัวใจตีบ และยังจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย การศึกษาการเพิ่มปริมาณของ coumestrol โดยการฉีดพ่นด้วยจุลธาตุ เช่น $CuCl_2$ 1,000 ppm $MnCl_2$ 1,000 ppm และ $FeCl_2$ 1,000 ppm ที่ใบของกวาวเครือขาว สามารถช่วยให้กวาวเครือขาวมีการสะสมปริมาณของ coumestrol มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ฉีดพ่น และการฉีดพ่นด้วย $CuCl_2$ 1,000 ppm สามารถเพิ่มปริมาณ coumestrol ได้มากที่สุด

มหัศจรรย์
กวาวเครือขาวและกวาวเครือแดง

นายวิโรจน์ เชาววิเศษ
นางสาวจารุจินันท์ หล้ากวนวัน
นางสาวเกษร เมืองทิพย์
นางสาวพรทิพย์ จันทร์ราช
นายบุญร่วม คิดค้า
นายประสาร ฉลาดคิด
และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี มานะเกษม

กวาวเครือขาว (*Pueraria candollei Grah var. mirifica* (Airy Shaw & Suvatabandhu) Niyomdham) และกวาวเครือแดง (*Butea superba Roxb.*) เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านไทยที่มีคุณประโยชน์มาก คนไทยได้นำมาใช้ตั้งแต่สมัยโบราณ กวาวเครือขาวใช้เป็นยาบำรุงสตรีที่มีประจำเดือนไม่ปกติมีคุณสมบัติที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ช่วยลดการเกิดมะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งต่อมลูกหมาก ตลอดจนโรคหลอดเลือดและหัวใจที่เกิดในสตรีวัยทอง มีฤทธิ์ในการยับยั้งการบาดเจ็บของเซลล์สมองหรือโรคอัลไซเมอร์ ช่วยลดการเกิดภาวะกระดูกพรุนที่มีสาเหตุจากการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน เพิ่มการไหลเวียนของเลือดซึ่งช่วยลดภาวะหลอดเลือดอุดตัน เป็นต้น ส่วนกวาวเครือแดงใช้เป็นยาอายุวัฒนะช่วยบำรุงสมอง มีคุณสมบัติคล้ายเอสโตรเจนที่สามารถแสดงฤทธิ์ต่อระบบสืบพันธุ์ โดยใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาคุมกำเนิด และสามารถช่วยแก้ปัญหาอาการเสื่อมสมรรถภาพ

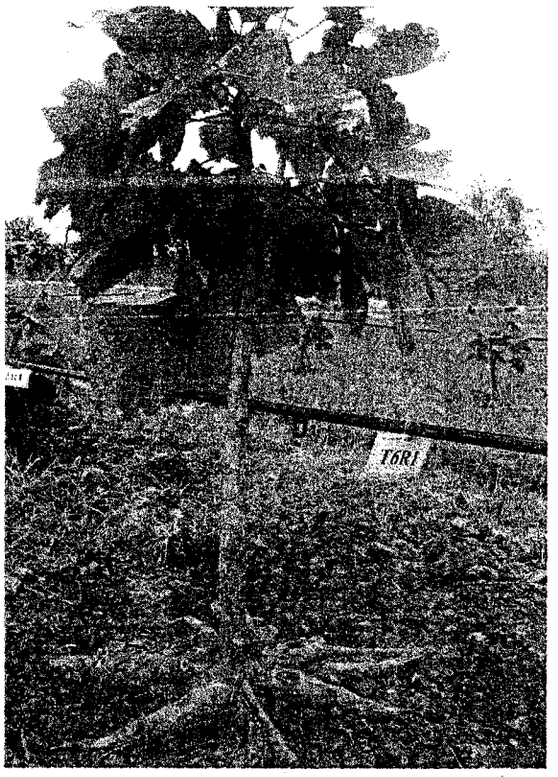
Puerarin

Puerarin มีฤทธิ์ช่วยคลายตัวของหลอดเลือด และเพิ่มการไหลเวียนของเลือดซึ่งช่วยลดภาวะหลอดเลือดอุดตัน และลดการเกิดโรคเกี่ยวกับความดันโลหิตสูง ช่วยลดอาการแอลกอฮอล์ในเลือดสูง มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดโรคมะเร็ง โดยไปยับยั้งการกลายลักษณะของเซลล์ที่จะเปลี่ยนไปเป็นเซลล์มะเร็งได้ การศึกษาการเพิ่ม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวโดยใช้ธาตุสังกะสีในรูปของซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$) พบว่า การฉีดพ่นธาตุสังกะสีที่ใบของกวาวเครือขาวสามารถเพิ่มการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวได้ และการฉีดพ่นสังกะสีที่ความเข้มข้น 200 ppm สามารถช่วยให้กวาวเครือขาวมีการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารมากที่สุด

สารสำคัญในกวาวเครือแดง

Anthocyanin

Anthocyanin มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) โดยทั่วไปแล้วมีหน้าที่ลดการอุดตันของหลอดเลือดหัวใจ ช่วยทำให้การมองเห็นดีขึ้น ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคข้ออักเสบ การเสื่อมสภาพของเซลล์ และความชรา เป็นต้น การศึกษาปริมาณ anthocyanin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดงที่มีอายุและขนาดใกล้เคียงกันจากจังหวัดนครราชสีมา กาฬสินธุ์ สกลนคร ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และมหาสารคาม ด้วยเทคนิค Random amplified polymorphic DNA (RAPD) จำนวน 49 สายต้น พบว่า ตัวอย่างจากจังหวัดชัยภูมิ บุรีรัมย์ และมหาสารคาม เป็นพืชที่มีลักษณะคล้ายกับกวาวเครือแดงมากนั่นก็คือ เถาพันซ้ายมีปริมาณ anthocyanin อยู่ระหว่าง 172-252 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด แต่พบว่ากวาวเครือแดงมีปริมาณ anthocyanin อยู่ระหว่าง 69-144 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางและความหนาของส่วนที่เป็นสีแดง (Cortex) ของรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดงมีความสัมพันธ์กับปริมาณ anthocyanin โดยแสดงค่าดัชนีสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.404 และ 0.405 ตามลำดับ แต่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง และจำนวนชั้นสีแดงของเถาพันซ้ายไม่แสดงค่าสหสัมพันธ์กับปริมาณ anthocyanin



β-Sitosterol

β-Sitosterol มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ช่วยลดปริมาณคลอเลสเตอรอลในเลือด เป็นสารที่แสดงฤทธิ์ต่อระบบสืบพันธุ์ และมีการนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาคุมกำเนิด ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมาก มีฤทธิ์ช่วยลดไข้ (Antipyretic agent) ช่วยเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันในร่างกาย ช่วยควบคุมระดับน้ำตาล

ในเลือด เป็นต้น จากการศึกษาการให้ปุ๋ยสูตรต่างๆ กับกวาวเครือแดง พบว่า ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ทำให้รากสะสมอาหารมีความยาว น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ ร่วมกับ 1- naphthylacetic acid (NAA) 100 ppm ทำให้รากสะสมอาหารมีปริมาณ β-Sitosterol มากที่สุด ดังนั้นการให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ร่วมกับ NAA 100 ppm เป็นปัจจัยที่มีนัยสำคัญในการทำให้รากมีปริมาณ β-Sitosterol ซึ่งเป็น phytosterol สูงสุด

Stigmasterol

Stigmasterol มีความสำคัญในการสังเคราะห์ steroid hormone มีฤทธิ์คล้าย β-Sitosterol ใช้ประโยชน์ในการแก้ปัญหาอาการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศของผู้ชาย ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาคุมกำเนิด ช่วยลดปริมาณคลอเลสเตอรอลในเลือด เป็นต้น การศึกษาการให้น้ำกับกวาวเครือแดง พบว่า กวาวเครือแดงที่ได้รับน้ำ 3 วัน และ 7 วันต่อครั้ง มีการสร้าง stigmasterol มากกว่ากวาวเครือแดงที่ไม่ได้รับน้ำ

ทั้งกวาวเครือขาวและกวาวเครือแดงมีการสะสมสารสำคัญที่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่เป็นประโยชน์ต่อการรักษาโรคดังกล่าว การเพิ่มการสะสมสารเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ต่อวงการการแพทย์ของไทย และอุตสาหกรรมการผลิตยารักษาโรค และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น ผลิตภัณฑ์เสริมความงาม และอาหารเสริมสุขภาพ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

เกษร เมืองทิพย์. (2549). พฤกษศาสตร์ พันธุ์ การเจริญเติบโตและการพัฒนา การติดฝักและเมล็ด และแอนโทไซยานินของกวาวเครือแดง (*Butea superba Roxb.*). วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา

จารุจินันท์ หล้ากวนวัน. 2549. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมสาร phytosterol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง (*Butea superba Roxb.*) และผลของสารนี้ต่อการทำงานของมดลูกหนูขาวเพศเมีย (Rattus norvegicus). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา

บุญร่วม คิดค้า. (2547). อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และการเขตกรรม ต่อการเจริญเติบโต และการสะสมสารเคมีในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง (*Butea superba Roxb.*). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา

ประสาร ฉลาดคิด. (2546). อิทธิพลของสภาพแวดล้อมและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การออกดอก การติดฝักและเมล็ด และการสะสมสาร Daidzein และ Genistein ในหัวกวาวเครือขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา

พรทิพย์ จันทร์ราช. (2547). การออกดอก การติดฝักและการสะสมสาร Coumestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว (*Pueraria candonllei Grah. var. mirifica*). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา

วิโรจน์ เชาว์วิเศษ. 2550. ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham) และผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว (*Rattus norvegicus*). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มุหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา

Guo, Q., Zhao, B., Shen, S., Huo, J. and Xin, W. (1999). ESR study on the structureantioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers. Biochem. Biophys. Acta. 1427: 13-23.

Ingham, J.L., Tahara, S. and Dziedzic, S.Z. (1986). A chemical investigation of Pueraria mirifica root. Z. Natureforsch. 41: 403-408.

Ryokkynen, A., Kayhko, U-R., Mustonen, A-M., Kukkonen, J.V.K. and Nieminen, P. (2005). Multigeneration exposure to phytosterols in the mouse. Journal of Reproductive Toxicology. (19): 535-540.

Wilt, T.J., MacDonald, R. and Ishani. (1999). Beta-sitosterol for the treatment of benign prostatic hyperplasia: A systematic review. BJU. Int. 83(9): 976-983.

ANTHOCYANIN ACCUMULATION AND MOLECULAR MARKERS CLASSIFICATION OF RED KWAO KRUA (*BUTEA SUPERBA ROXB.*)

Kesorn Muangtip,[1] Suchirat Sakuanrungsirikul,[2] and Yuvadee Manakasem[1]

[1] School of Crop Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, 111 University Avenue, Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand;
[2] Field Crop Research Institute,Muang District, Khon kaen 40000, Thailand

Red substances are released when the tuberous roots of the Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) are wounded. In traditional medical practices of Thailand the tuberous roots of Red Kwao Krua (RKK) are used to treat various illnesses and maintain male hormones. Tuberous roots were obtained from forests in six provinces in northeast Thailand in the years 2004 to 2006. Molecular classification by the RAPD technique together with botanical characteristics, determination of the concentration of anthocyanin via TLC, absorbent wavelength and pH differential techniques were performed on the root samples. The roots of the RKK from the provinces Nakhon Ratchasima, Kalasin and Sakon Nakhon had anthocyanin concentrations of 69-144 μg/g fresh weight, while those from Chaiyaphum, Buriram and Mahasarakham provinces had anthocyanin concentrations of 172-252 μg/g fresh weight. The RAPD technique and botanical classification showed that there were two groups (subgenera) at 32 % relatedness. 1) Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) included 2 subgroups at 70 % coefficient. Subgroup 1 was RKK from Nakhon Ratchasima and Kalasin provinces. Subgroup 2 was RKK from Nakhon Ratchasima and Sakon Nakhon provinces. 2) Tow Pan Say [*Spatholobus parviflorus* (DC.) Kuntze] included 3 subgroups at 84 % coefficient from Chaiyaphum, Buriram and Mahasarakham provinces. The dendrogram of botanical characteristics also showed 2 groups at 19 % relatedness and were related to the classification by DNA markers. Mistakes in harvesting traditional medicinal plants are very common: it may be necessary to regulate the traditional medicine industry using modern analytical methods to characterize the products.

INTRODUCTION

Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) is a protected plant. It has been shown to improve physical strength, improve skin quality, and maintain male hormones. Red substances are released when the tuberous of RKK are wounded. These substances were examined for anthocyanin. Mistakes in harvesting traditional plant are very common, however molecular marker and botanical characteristics can be used to classify RKK specimens. Examination of anthocyanin content and classification of RKK from six provinces were performed in this study.

MATERIALS AND METHODS

Tuberous roots of RKK were obtained from forests in six provinces in northeast Thailand in the years 2004 to 2006. The determination of the concentration of anthocyanin via TLC, absorbent wavelength and pH differential techniques were performed on the root samples.

Molecular classification by the RAPD technique and botanical characteristization were also performed on the root samples.

RESULT AND DISCUSSION

Anthocyanin was determined from the extracted solution of the tuberous roots of RKK with two mobile phases (a two solvent system) 7:51:42 and 25:24:51 HCl : HCOOH : H_2O using TLC, and had R_f values of 0.34 and R_f 0.12 respectively (Fig. 1.1 and Fig. 1.2). These R_f values are characteristic of anthocyanin (Sherma and Fried, 2003).

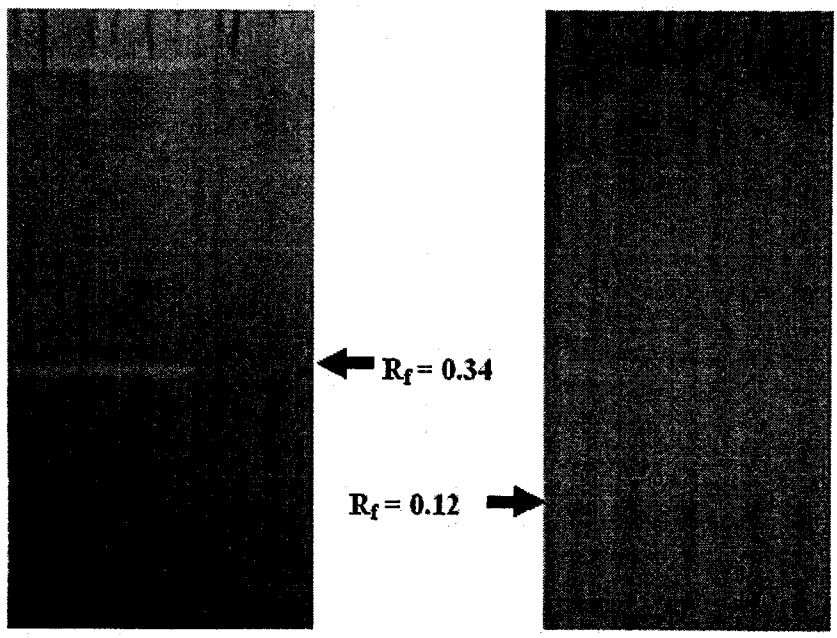


Figure 1.1 TLC (HCL : HCOOH : H_2O = 7 : 51 : 42) of extracted solutions showing an R_f value of 0.34

Figure 1.2 TLC (HCL : HCOOH : H_2O = 25 : 24 : 42) of extracted solutions showing an R_f value of 0.12

The extracted solution from the tuberous roots of RKK absorbed at 519 nm (Fig.2) which is similar to the absorption wavelength of anthocyanin (Longo and Vasapollo, 2006).

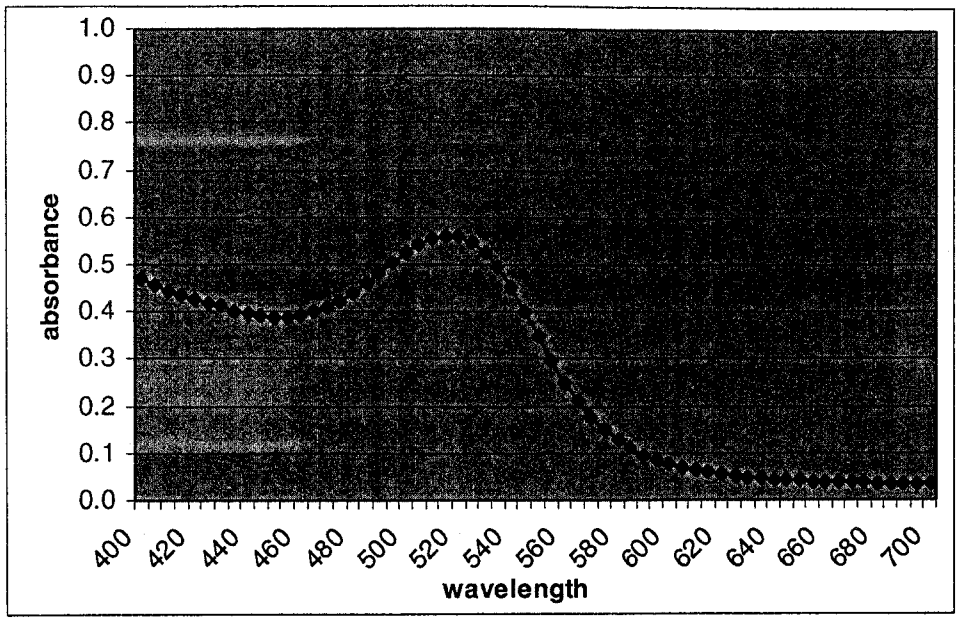


Figure 2 Spectrum of an extracted solution of anthocyanin from 400 to 700 nm (noted the absorption at 519nm).

Moreover, extracted solutions changed color from red to brown (Fig.3) if the pH was changed from 1 to 14 which is a characteristic of anthocyanin (Bonillard and Delaporte, 1977).

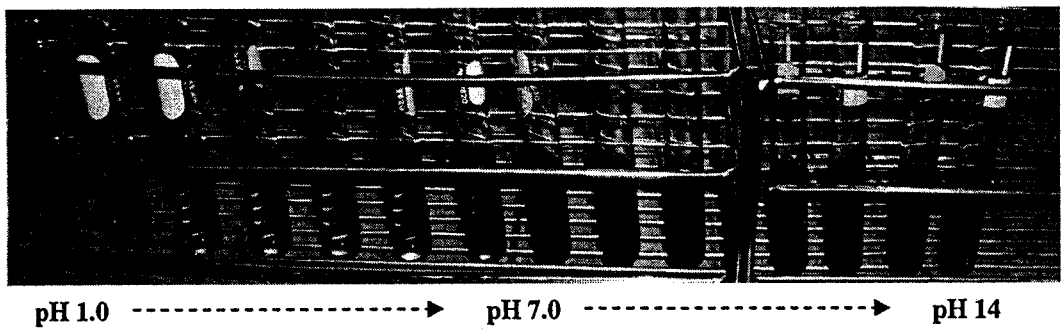


Figure 3 Colour changes of anthocyanin from pH 1.0 to pH 14

The roots of RKK from the provinces Nakhon Ratchasima, Kalasin and Sakon Nakhon had anthocyanin concentrations of 69-144 μg/g fresh weight (Table1), while those from Chaiyaphum, Buriram and Mahasarakham provinces had anthocyanin concentrations of 172-252 μg/g fresh weight (Table 2).

Table 1 Characteristics and amount of anthocyanin in the tuberous root samples from Kalsin, Nakhon Ratchasima, and Sakon Nakhon.

Clone number	Clone sources	Root diameter (cm)	Number of the year rings	The width of the red cortex (cm)	The amount of anthocyanin (μg/g fresh weight)
K1		11.4	6	1.1	124
K2		15.8	7	1.2	140
K3		12.4	6	0.9	118
K4		13.1	7	1.2	128
K5		9.5	5	0.8	69
K6	Kalasin	12.8	5	1.0	144
K7		15.3	6	0.7	120
K8		9.6	6	1.1	98
K9		11.4	6	0.8	90
K10		12.8	5	0.8	112
K11		8.4	5	0.7	92
N1		14.2	6	0.6	98
N2		9.8	5	0.6	80
N3		10.9	5	0.6	122
N4		14.3	5	0.7	84
N5	Nakhon	8.4	6	0.7	82
N6	Ratchasima	11.3	6	0.8	96
N7		12.7	7	1.2	118
N8		9.2	5	0.6	78
N9		12.4	6	0.9	104
N10		15.0	6	0.8	106
SK1		8.5	5	0.7	81
SK2		10.5	6	0.8	122
SK3	Sakon	9.2	5	0.7	82
SK4	Nakhon	10.5	6	0.8	130
SK5		14.3	6	1.1	132
SK6		12.8	6	0.9	120

Table 2 Characteristics and amount of anthocyanin in the tuberous root samples from Chaiyaphum, Buriram, and Mahasarakham.

Clone number	Clone sources	Root diameter (cm)	Number of the year rings	The amount of anthocyanin (μg/g fresh weight)
C1	Chaiyaphum	5.1	3	190
C2		4.8	3	218
C3		3.9	2	173
C4		5.5	3	178
C5		5.7	3	204
C6		6.2	3	230
C7		5.3	3	224
C8		5.9	3	252
C9		4.8	3	216
C10		5.4	3	218
B1	Buriram	6.1	2	219
B2		4.0	3	172
B3		4.7	3	178
B4		5.6	3	222
B5		5.4	3	182
B6		6.1	3	204
S1	Mahasarakham	6.2	3	242
S2		5.6	3	226
S3		6.1	3	230
S4		5.3	3	220
S5		4.7	3	173
S6		5.7	3	221

The diameter of the roots and the width of the cortex of tuberous roots of RKK (from Table 1) were correlated with the amount of anthocyanin (Table 3), but the diameter of the roots and the number of rings evident in the tuberous roots of RKK from Table 2 were not correlated with the amount of anthocyanin (Table 4). These results showed that there were 2 groups of the samples.

Table 3 The correlation of root diameter, number of year rings and cortex width with amount of anthocyanin in the samples from Nakhon Ratchasima, Kalasin and Sakon Nakhon.

Characteristics	The amount of anthocyanin
Root diameter	0.404*
Year rings	0.264^{ns}
cortex	0.405*
r^2	0.251^{ns}

^{ns} = non significant

* = significant differences at 5% level

Table 4 The correlation of root diameter, and number of year rings with amount of anthocyanin in the samples from Chaiyaphum, Buriram and Mahasarakham.

Characteristics	The amount of anthocyanin
Root diameter	0.258^{ns}
Year rings	0.029^{ns}
r^2	0.067^{ns}

^{ns} = non significant

The genetic distinctiveness of accessions of the tuberous roots of RKK collected from those 6 provinces using the RAPD technique coupled with comparison of botanical characteristics was performed. Forty RAPD primers were used and 888 loci were detected, comprising of 813 polymorphic loci (91.55 %) and 75 monomorphic loci (8.45 %). These loci were analyzed by the NTSYSpc. V. 2.10x program (Rohlf, 2000) and the genetic similarity coefficient was calculated by the method of Jaccard (Rohlf, 2000). The variables on the dendrogram were clustered with the unweighted pair group method using arithmetic means (UPGMA) (Sokal and Michener, 1958). It was found that the RKK accession 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 RKK from Nakhon Ratchasima and Kalasin provinces. Subgroup 2 was RKK from Nakhon Ratchasima and Sakon Nakhon provinces. 2) Tow Pan Say [*Spatholobus parviflorus* (DC.) Kuntze] included 3 subgroups at 84 % coefficient from Chaiyaphum, Buriram and Mahasarakham provinces (Fig. 4). All of the Samples were genetically different, except C_6 and C_7 that were genetically identical. Ditchaiwong, *et al.* (2005) also found genetically differences in White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. Var. mirifica (Airy Shaw et Suwatabandhu) Niyomdham]. The dendrogram of botanical characteristics also showed 2 groups at 19 % relatedness (Fig. 5). Group 1 was the samples from Nakhon Ratchasima, Kalasin and Sakon Nakhon provinces. Group 2 was the samples from Chaiyaphum, Buriram and Mahasarakham provinces. The botanical characteristic classification were related to the classification by DNA markers.

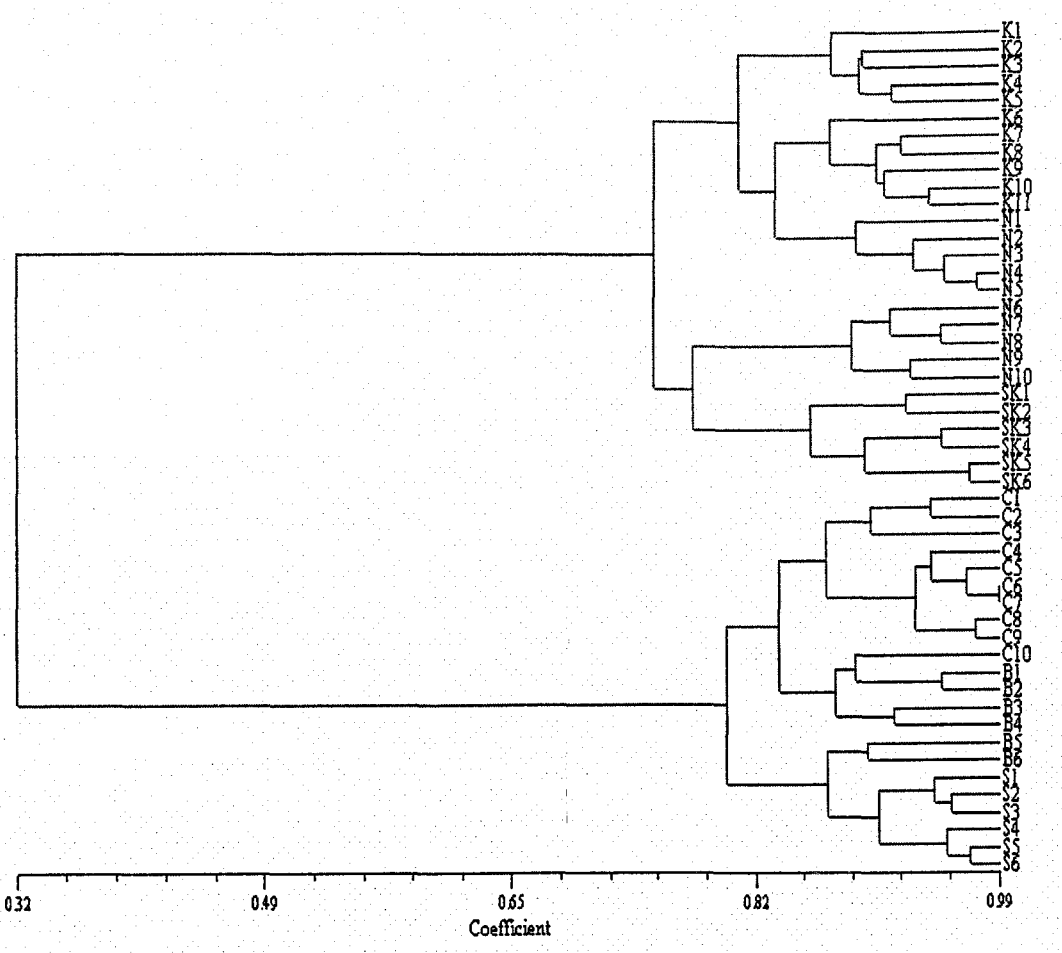


Figure 4 The clonal grouping of RKK and Too Pun Say by DNA fingerprint with differences at 888 positions by the RAPD technique.

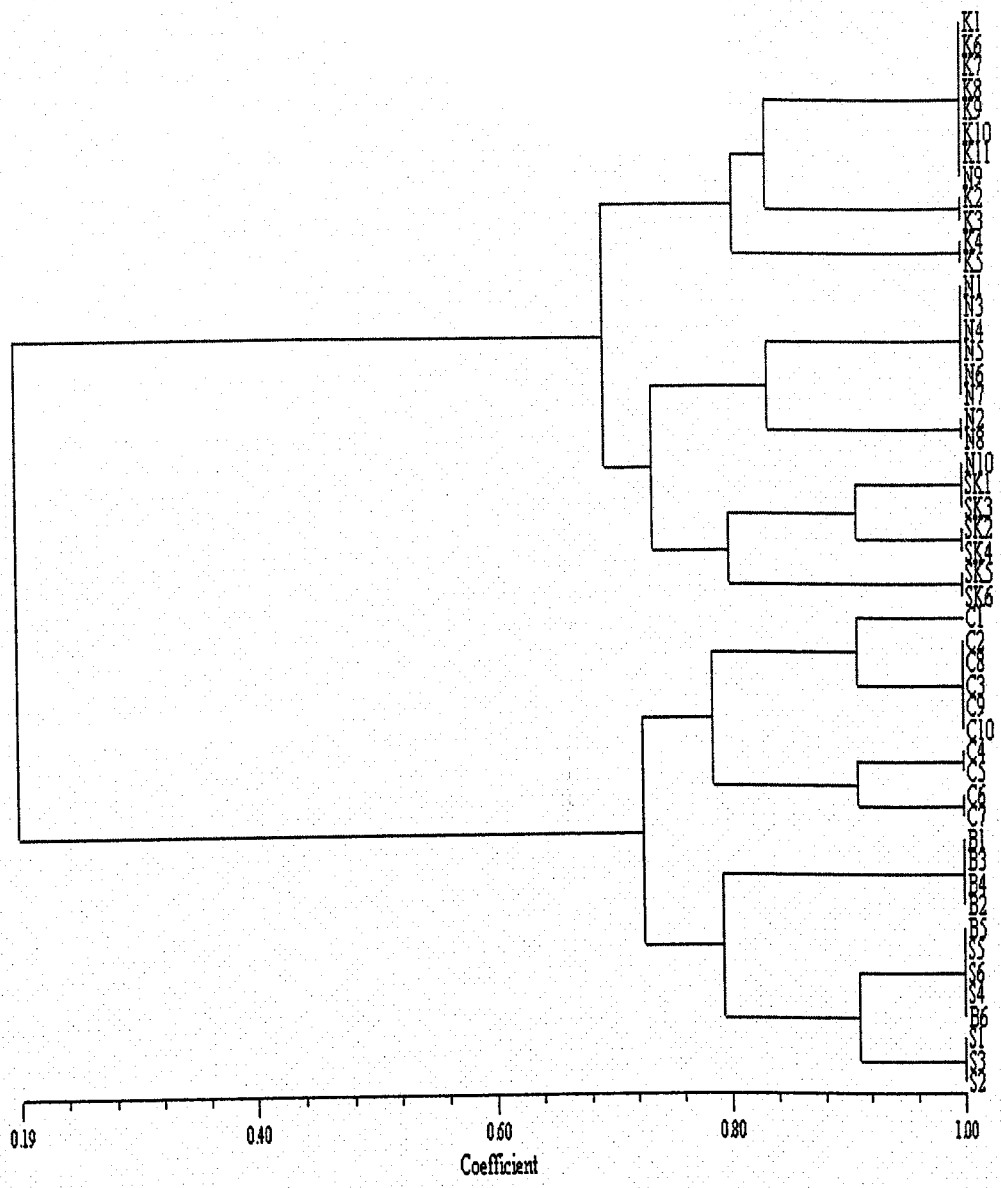


Figure 5 The clonal grouping of RKK and Too Pun Say clones using 10 botanical characteristics.

CONCLUSION

The RAPD technique could separate the clones of RKK, and the tuberous roots of RKK contained anthocyanin at levels of 69 to 144 μg/g fresh weight. Mistakes in harvesting traditional medicinal plants are very common: it may be necessary to regulate the traditional medicine industry using modern analytical methods to characterize the products.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors acknowledge the Suranaree University of Technology and the National Research Council of Thailand (NRCT) for equipment and financial support. In addition we

acknowledge Associate Professor Dr. Poonsok Sriyotha for chemical analysis advice and Associate Professor Dr. Adrain Flood for English correction.

REFERENCES

Bonillard, R. and Delaporte, B. (1977). Chemistry of anthocyanin pigments. 2.[1] kinetic and Thermodynamic study of proton transfer, hydration, and tautomeric reactions of malvidin 3-glucoside. Journal of the American Chemical Society. 99:26.

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

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

Rohlf, F.J. (2000). NTSYSpc. : Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis SYStem, State University of New York.

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

Sokal, R.R. and Michener, C.D. (1958). A statistical method for evaluating systematic relationships. In: University of Kansas Science Bulletin, 38: 1409-1438.

IRRIGATION, SPACING, AND SHADING ON LEAF AND ROOT GROWTH AND THE ACCUMULATION OF 3,7, 3'-TRIHYDROXY-4'-METHOXYFLAVONE AND STIGMASTEROL IN TUBEROUS ROOTS OF RED KWAO KRUA

Bunruam Khitka and Yuvadee Manakasem*

Received: Nov 23, 2007; Revised:Mar 21, 2008; Accepted: Mar 25, 2008

Abstract

An experiment was conducted in Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb) at Suranaree University of Technology during 2002 - 2004. A split-split plot arrangement of treatments in a RCBD with 3 blocks was designed to study the effects of irrigation, spacing and light shading on leaf area, fresh and dry weight of the tuberous roots, and the photosynthesis rate of the Red Kwao Krua (RKK). The accumulations of stigmasterol and 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxy-flavone in the tuberous roots of RKK were also determined at the ages of 6, 8, 10, 12, and 14 months. The main plot treatments were irrigation at 3 day intervals, 7 day intervals, and rainfed condition as a control. The sub-plot treatments were spacing at 1.5 m × 1.5 m and 3 m × 3 m. The sub-sub plot treatments were shading at 70% and non-shading. The experiment was replicated 3 times. The spacing and shading did not have any effects on leaf area, tuberous root weight, and the photosynthetic rate at any plant ages studied. However, the irrigation regimes had an effect on the leaf area, tuberous roots weight, and photosynthesis rate of RKK at the ages of 12 and 14 months. The 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone was not found at any treatments and at any plant ages studied. However, the tuberous roots of RKK at the ages of 12 and 14 months that were irrigated at 3 day intervals and 7 day intervals accumulated stigmasterol at the level of 500 - 1,000 ppm. The irrigation regime was a significant factor increasing the amount of stigmasterol in the tuberous roots of RKK.

Keywords: ***Butea superba*** **Roxb, cultivations, leaf and root growth, flavone, stigmasterol**

Introduction

RKK is found in the forests of the north, the west and the northeast of Thailand (Wutythamawech, 1997). Thais have traditionally used it as a medicine for maintaining good health. The biochemical 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone accumulated in its tuberous roots probably maintain the sexual ability of men (Tocharus *et al.*, 2005). Many clinical nutrition products have this chemical as an additive. A large amount of crude extract of RKK has been exported to

School of Crop Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, 111 University Avenue, Nakhon Ratchasima, 30000, Thailand. E-mail: yuvadee@g.sut.ac.th

* *Corresponding author*

Germany, Japan and the USA (OARD, 2000). Stigmasterol, which has the same characteristics as b-sitosterol, can also be found with about 75% concentration in the roots (Dyas and Goad, 1987). These substances can be used by industry to synthesize steroid hormones. Stigmasterol is a natural product that has an effect on human sexual performance (Ryokkynen *et al.*, 2005). It is also used as a primary substance for birth control (Ryokkynen *et al.*, 2005). It is a popular product in clinical nutrition that helps in reducing the accumulation of cholesterol (Wongrattanasathit and Choomsri, 1992). With the need for the crude extract from RKK, research for producing RKK on a marketing scale can help prevent the removal of RKK from the forests. The effects of planting space, irrigation, and shading on the growth and accumulation of important chemicals in the tuberous roots of RKK were the focus of the research. The objective of this study was to investigate the effect of irrigation and shading on leaf area, the fresh and dry weight of the tuberous roots, and the accumulation of stigmasterol and 3,7,3.-trihydroxy-4'-methoxyflavone in the tuberous roots of RKK.

Materials and Methods

The lateral buds of RKK from Kalasin province were planted at the Suranaree University of Technology farm on January 1, 2003. A total of 180 regular 4 month old plants was selected and the plants were set as a split-split plot in a randomized complete block design (RCBD) with 3 blocks (replications). The main plots had irrigation regimes, namely non-irrigation, irrigation at 3 day intervals, and irrigation at 7 day intervals. The drip irrigation system was applied for 3 h in each treatment. The rain was considered as non-irrigation since every treatment got the same amount of water. The 2 sub-plots had plant spacing at 1.5 × 1.5 m and 3 × 3 m. The 2 sub-sub plots were non-shaded and 70% shaded, using 70% Salant covered at 0.5 m above the RKK. The main plots were treated when the RKK was 4 months old. The sub-plots were designed immediately at the planting time. The sub-sub plots were treated when the RKK was 6 months old. The leaf area, the fresh and dry weight of the tuberous roots, and the photosynthetic rate, including stigmasterol and 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone, were sampled and measured from the RKK at the ages of 6, 8, 10, 12, and 14 months.

Methods of Chemical Extraction and Determination

The tuberous roots of the RKK at the ages of 6, 8, 10, 12, and 14 months from each treatment were dug, cleaned, sliced into thin pieces, then dried at 55°C for 72 h, and ground to a powder. The extraction and determination of 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone were determined using methanol, chloroform:water, 80% methanol: Hexane, column chromatography and FT-IR (model spectrum GX, Perkin Elmer) according to the method of Ruksilp (1995), using 6 kg of the ground powder. The stigmasterol was determined using 10 gm (dry weight) per sample. The extraction method was done according to Ruksilp (1995). Then thin layer chromatography (TLC) by comparison with standardized stigmasterol (Sigma, St. Louis, MO, USA) was performed. The amount of stigmasterol was compared to the spot size of standardized stigmasterol (1 µl) at concentrations of 0, 100, 250, 500, 750, and 1,000 ppm, respectively.

Data Examination

1. Leaf area, fresh and dry weight of the tuberous roots, and the photosynthesis rate were examined from the RKK at the ages of 6, 8, 10, 12, and 14 months. Leaf area was monitored in mature leaf of 3 plants/replication by using a leaf area meter (Delta-T Image Analysis), and the photosynthesis rate was measured on 3 leaves/plant/replication by using a leaf chamber analysis type LCA-4 at 10.00 am - noon.

2. Examination of 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone from the extracted solution of the tuberous roots of the RKK from each treatment was performed by comparing the appearance of the important functional groups in the spectrum.

3. Examination of the concentration

of stigmasterol in the tuberous roots of the RKK from each treatment was evaluated by comparing the spot size with the standardized.

Data Collection

3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone chromatography was performed on the solutions eluted with 5% methanol in chloroform. The infrared spectrum of the solution that was eluted with 5% methanol in chloroform was also collected. The amounts of 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone and stigmasterol were determined from each treatment and were statistically analyzed by analysis of variance (ANOVA) in a complete randomized design (Steel and Torrie, 1986). The significant differences between them were tested by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) according to the methods described by SAS (1985).

Results

Leaf and Root Growth

The spacing and shading did not have any effect on leaf area, the tuberous root weight, and photosynthetic rate at any ages of the RKK studied. However, the irrigation regimes had an effect on the leaf area, tuberous root weight, and photosynthesis rate of RKK at the ages of 12 and 14 months (Tables 1, 2, and 3). While the leaf area at the ages before 12 months old did not show any differences, this was because of the effect of precipitation in the rainy season at that time (Table 1). The dry weight per fresh weight of the tuberous roots of RKK was affected by the irrigation regimes (Table 2). The photosynthesis rate

Table 1. Effect of irrigation on leaf area (unit:cm^2)*

Irrigation regimes	6 months	8 months	10 months	12 months	14 months
Non irrigation	1,053.35	1,540.78	457.67	375.03 [a]	639.57 [a]
7 day intervals	1,333.98	1,642.06	574.12	551.84 [b]	1,472.49 [b]
3 day intervals	1,085.38	1,678.72	474.93	560.79 [b]	1,420.03 [b]

* *Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to DMRT (0.05).*

Table 2. Effect of irrigation on tuberous root dry weight/fresh weight (g/1g fresh weight)*

Irrigation regimes	6 months	8 months	10 months	12 months	14 months
Non irrigation	0.30	0.11	0.06	0.07 [a]	0.06 [a]
7 day intervals	0.34	0.11	0.06	0.04 [b]	0.03 [b]
3 day intervals	0.35	0.10	0.06	0.04 [b]	0.03 [b]

* *Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to DMRT (0.05).*

Table 3. Effect of irrigation on photosynthesis rate* (mmol $CO_2/m^2/s$)

Irrigation regimes	6 months	8 months	10 months	12 months	14 months
Non irrigation	14.71	15.24	5.22	7.69 [b]	8.17 [b]
7 day intervals	14.28	14.19	4.81	15.84 [a]	18.21 [a]
3 day intervals	16.92	16.42	5.97	16.13 [a]	20.04 [a]

* *Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to DMRT (0.05).*

was affected by the irrigation regimes starting from 12 months old (Table 3). The RKK that was irrigated had a greater photosynthesis rate than that not irrigated by 2 fold or more. This has also been found in soybean and sun flower (Flavia, 1990).

Examination of 3, 7, 3'-trihydrohy-4'-methoxyflavone

The 3,7,3'-trihydrohy-4'-methoxyflavone did not accumulate in all samples studied. Each fraction eluted from the column with 5% methanol in chloroform was found to have the same components. Analysis via TLC using 20% methanol in chloroform as a mobile phase resulted in the materials that had retention mobility (R_f) of 0.70 (A) and 0.73 (B) mixed together in the same fraction. The polar reduction of the mobile phase for the TLC method from 20% methanol in chloroform to 10% methanol in chloroform could be used to separate these fractions. The two fractions (A and B) could be separated with the R_f values of 0.76 and 0.80 respectively. In order to obtain sufficient materials for structural analysis using infrared (IR) spectroscopy, the fractions remaining from the elution of 5% methanol were eluted through silica gel once more using 3% methanol in chloroform as the solvent. Finally, three fractions were obtained as follows (Figure 1):

1. The fractions that came out by TLC analysis using 20% methanol in chloroform as a mobile phase which had the R_f value of 0.73 (B).

2. The mixture of fractions which had the R_f value of 0.70 (A) and 0.73 (B).

3. The last fraction that came out had an R_f value of 0.7 (A).

Because 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxy flavone has an R_f value of 0.69, the last material that came out could be the chemical. To confirm the result IR spectroscopy was applied, as shown in Figures 2 and 3. The comparison of the IR spectroscopy of fractions A and B with the IR spectroscopy from the 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone standard showed that there were differences. The peak at a position of 1,650 cm^{-1} for the standard 3,7,3'-trihydroxy-4' methoxyflavone (Ruksilp, 1995) did not appear on the spectrum of A and B [this peak is the specific character of the carbon group of the conjugated ketone (Srivibool, 1995)]. The absorption peaks at 1,739 cm^{-1} (Figure 2) and 1,715 cm^{-1} (Figure 3) were obtained in both A and B [these peaks are the specific character of the carbon group of the ketone (Srivibool, 1995)]. The results led to the conclusion that 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone did not accumulate in these samples.

Examination of Stigmasterol

The amount of stigmasterol from each treatment was evaluated by comparing the spot size of the unknown material with that of standardized stigmasterol (Table 4). The only variable that resulted in a difference in the amount of the stigmasterol was the level of irrigation. The

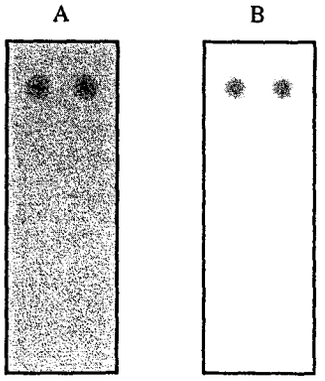


Figure 1. TLC chromatogram of substance A and B

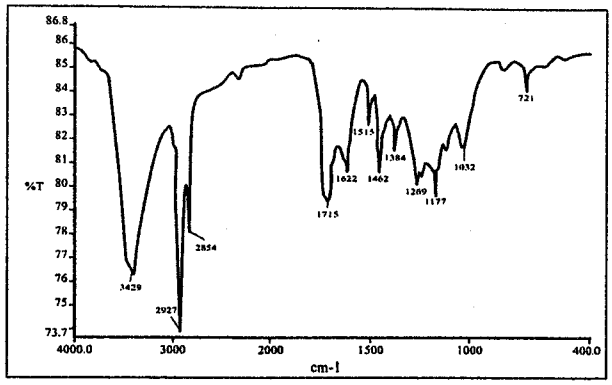


Figure 2. FT-IR spectrum of spot A

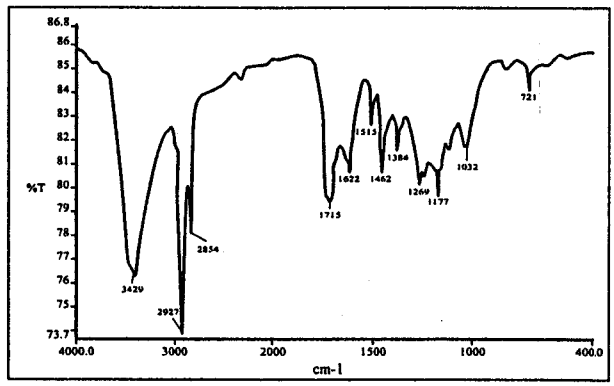


Figure 3. FT-IR spectrum of spot B

Table 4. Concentration of stigmasterol in *Butea superba* Roxb* estimated by TLC

Irrigation regimes	Spacing (m)	Shading	Concentration of stigmasterol (ppm)				
			6 months	8 months	10 months	12 months	14 months
non-irrigated	1.5 × 1.5	non	50	175	175[a]	175[a]	175[a]
		shaded	50	175	175[a]	175[a]	175[a]
	3 × 3	non	50	175	175[a]	175[a]	175[a]
		shaded	50	175	175[a]	175[a]	175[a]
7 day interval	1.5 × 1.5	non	50	175	375[b]	625[b]	875[b]
		shaded	50	175	375[b]	625[b]	875[b]
	3 × 3	non	50	175	375[b]	625[b]	875[b]
		shaded	50	175	375[b]	625[b]	875[b]
3 day interval	1.5 × 1.5	non	50	175	375[b]	625[b]	875[b]
		shaded	50	175	375[b]	625[b]	875[b]
	3 × 3	non	50	175	375[b]	625[b]	875[b]
		shaded	50	175	375[b]	625[b]	875[b]

** Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to DMRT (0.01).*

non-irrigated RKK had 50 ppm concentration of stigmasterol at the age of 6 months and 175 ppm at the age of 8, 10, 12, and 14 months (Table 4), while RKK that was irrigated at 3 and 7 day intervals had the same amount of stigmasterol. At the age of 6, 8, 10, 12, and 14 months the concentration of stigmasterol were 50 ppm, 175 ppm, 375 ppm, 625 ppm, and 875 ppm, respectively (Table 4).

Discussion

The irrigation regime was a significant factor increasing the amount of stigmasterol in the tuberous roots of RKK. It has been reported that RKK found in the forests in Lampang province accumulated 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxy-flavone; however, it was not the case in our study. This was possibly because the harvesting season could influence growth and development of the RKK, and it could also influence the synthesis of 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxy-flavone. The Doboysia in Australia accumulates much more hyoscine in summer than in winter (Luanratana and Griffin, 1980). The difference in the soil nutrition could affect the synthesis of the 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone substance. There has been a report that phosphorus and calcium could also stimulate the synthesis of hyoscine in Doboysia (Luanratana, 1992). The difference in the sea level between these two areas could also cause the accumulation of 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone. The different varieties of White Kwao Krua from 7 different locations that had differences in sea levels accumulated differening amounts of phytoestrogen (Ditchaiwong *et al.*, 2005). The difference in varieties could also have an effect on the synthesis of 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone. Finally, the difference in ages and the growth stages of the RKK could influence the synthesis and accumulation of the chemicals. For example, some plants synthesize anthocyanin when they are young to protect their shoots from excessive sun light (Fang and Hirsch, 1992). RKK in the forests in Lampang province that accumulated 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxy-flavone was probably older than the ones in this studied. The oldest in our study stet only 14 months old. The error could be caused from the extraction and separation steps. Further studies should improve these two steps to ensure that all of the stigmasterol is extracted from the samples. The use of gas chromatography or high-performance liquid chromatography probably can confirm the accuracy of the amount of stigmasterol (Abidi, 2001). The RKK that was irrigated at 3 and 7 day intervals had higher stigmasterol because it could photosynthesize more than that which was not irrigated (Sampetr, 1992). A higher level of photosynthate gives more substrate for synthesis of the chemical substances. This occurs in soybean grown at high temperature which has been irrigated and results in it having more oil than soybean that was not irrigated (Sampetr, 1992).

Conclusions

The spacing and shading did not have any effect on leaf area, tuberous root weight, and photosynthetic rate of RKK, for the ages studied. But the irrigation regimes did. Accumulation of 3, 7, 3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone was not found at any irrigation levels and at any age of the RKK studied. However, the tuberous roots of the RKK at the ages of 12 and 14 months that were irrigated at 3 day intervals and 7 day intervals accumulated stigmasterol at the level of 500 - 1,000 ppm. The irrigation regime was a significant factor increasing the amount of stigmasterol in the tuberous roots of the RKK.

Acknowledgement

The authors acknowledge the assistance of Suranaree University of Technology and the National Research Council of Thailand (NRCT) for equipment and financial support.

References

Abidi, S.L. (2001). Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. J. Chromatagr., 935(1):173-201.

Ditchaiwong, C., Sakranrungsirikul, S., Samitasiri, Y., Wongyai, S., Srijugawan, S., and

Suwanbury, S. (2005). Clonal selection of Pueraria mirifica Airy Shaw and Suvatabandhu by using molecular markers. Agricultural Sci. J., 36(Suppl):919-922.

Dyas, A.T. and Goad, J.G. (1987). Plant steroids in legumes. In: Natural Products from Plants. Thomas, A.E. (ed.). CRC Press, London, p. 56-69.

Fang, W. and Hirsch, P.W. (1992). The effect of light intensity on anthocyanin synthesis in plants. Phytochemistry, 17(3):1,893-1,896.

Flavia, N.I. (1990). Lipids of soybean and sunflower seedlings grown under drought conditions. Phytochemistry, 7(2):2,119-2,123.

Luanratana, O. (1992). Preparation of natural products for commercial. In: Pharmacognosy of Natural Products. Krisanapun, W. (ed.). Text & Journal Publication Co. Ltd., Bangkok, p. 8-19.

Luanratana, O. and Griffin, W.J. (1980). Cultivation of a Duboisia hybrid. J. Nat. Prsd., 43(5):546-551.

Ruksilp, T. (1995). Chemical constituents in the tuberous roots of *butea superba* Roxb, [Ph.D. thesis]. School of Organic Chemistry, Institute of Chemistry, Chulalongkorn University. Bangkok, Thailand, p. 89.

Ryokkynen, A., Nieminen, P., Mustonen, A-M., Pyykonen, T., Asikainen, J., Hanniene, S., Mononen, J., and Kukkonen, J.V.K. (2005). Phytoestrogens alter the reproductive organ development in the mink. Toxicol. Appl. Pharmacol., (202):132-139.

Sampetr, S. (1992). Crop Physiology. 1st ed. Chaingmai University, Chaingmai, Thailand, 276p.

SAS Institute Inc. (1985). SAS User's Guide: Statistics. 5th ed. Cary, NC, USA, 597p.

Srivibool, S. (1995). Analysis by Chromatographic Instruments. Ramkhamhaeng University Press, Bangkok, 48p.

Steel, R.D.G. and Torrie, J.H. (1986). Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach. 5th ed. McGraw-Hill, NY, USA, 633p.

Tocharus, C., Jeenapongsa, R., Teakthong, T., and Smitasiri, Y. (2005). Effects of Long-term Treatment of Butea superba on Sperm Motility and Concentration. Naresuan University J., 13(2):11-17.

Wongrattanasathit, T. and Choomsri, P. (1992). Pharmacognocy of Natural Products (II). 2nd ed. Text & Journal Publication Co. Ltd., Bangkok, 189p.

Wutythamawech, W. (1997). Encyclopedia of Thai Herbs I. 1st ed. Peth 69 printing, Bangkok, 288p.

Curriculum Vitae

1. Name **Asst. Prof Dr.Yuvadee Manakasem**

Date of birth 2 March 1951

Contact address : School of crop Production Technology
Institute of Agricultural Technology
Suranaree University of Technology
111 University Avenue, Muang District
Nakhon Ratchasima, 30000 Thailand
Phone : +66 44 22 4204 (work)
+66 44 22 4354 (work)
+66 44 22 5401 (home)
Fax : +66 44 22 4150
Email : yuvadee@g.sut.ac.th

2. Current position : Assistant Professor
School of Crop Production Technology
Suranaree University of Technology, Thailand.

3. Education :

B.Sc. (Plant Science) 1975. Bachelor of Science (Agriculture) Khon Kaen University, Thailand

M.Sc. (Crop Physiology) 1984. University of the Philippines at Los Banos (UPLB) The Philippines.
Thesis : Microclimate of corn (*Zea mays* L.) + Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) Intercrop at Three Planting Densities of Corn.

Ph.D. (Horticulture) 1991. The University of Sydney, Australia.
Thesis : Temperature and Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) Production.

4. Field of Specialization

(1) Physiology of environmental stress
(2) Physiology of flowering and fruit setting
(3) Plant growth regulators
(4) SEM
(5) Plant biochemistry

5. Experience

Period	Position	Institute
1975 – 1993	Agriculturist	Department of Agriculture (DOA) of Thailand
1993 – 1995	Lecturer	Suranaree University of Technology, Thailand
1996	Asst. Prof.	Suranaree University of Technology, Thailand

6. Current research projects :

Grants

(1) The varieties, phytochemical and their effects in White Kwao Krua [*Pueraria candolleiI* Grah. Var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham andhu]. Thailand Research Fund (TRF) 380,000 Thai Baht. Duration 2 years. (Ended in Sept 2008).

(2) Influence of environmental and copper on vegetative growth, flowering, fruit setting and constituents of daidzein and genistein in tuberous roots of white Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. Var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham andhu] and red Kwao Krua (*Bueia superba* Roxb). And the Influence of Environment on Cultivation, Growth and Constituent of Chemicals in Tuberous Root of Red Kwao Krua *(Butea superba* Roxb.) Thailand Research Fund (TRF): 760,000 Thai Baht. Duration 6 years. (Ended in Sept 2007).

(3) The study on the secondary initiation of the inflorescence of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) .TRF 43,500 Thai Bath. Duration 3 years. (Ended in Sept 2002).

(4) Study on the interaction of day-length and growth regulators on flowering of white marigolds (*Tagetes erecta* L.) TRF 97,400 Thai Baht. Duration 2 years (Ended May 2002).

7. Publications

1. Isarangkul, L. And **Y. Manakasem**. 1977 Study on Aspergillus Disease of Silk Worm. Research Report of Department of Agiculture. (in Thai)
2. **Manakasem, Y.** and P. Kammueng. 1981 Procedure for farm Trials. Booklet 19 p. Funny Press. (in Thai)

3. Pantastico, E.B. and **Y. Manakasem** 1982. Rainfed Crop Production Research and Development. Proc., DOA Ann. Conf.

4. **Manakasem, Y.**, 1982 Study on Growth of *Chrysanthemum morifolium* Meristems by Tissue Culture Technique. Annual Report of Botany and Weed Science Division, DOA. (in Thai)

5. **Manakasem, Y.**, 1984 Microclimate of Corn *(Zea mays L.)* + Mungbean [Vigna radiata (L.) Welczek] Intercrop at Three Planting Densities of Corn. M.Sc. Thesis, UPLB, College, Laguna, Philippines. 129 p.

6. **Manakasem, Y.**, 1985 Tissue Culture of Mulberry for Rapid Propagation. Annual Report of Botany and Weed Science Division, DOA. (in Thai).

7. Pantastico, E.B., **Manakasem, Y.**, and P. Chotikunta. 1985 Women in Agriculutre : Issues and Research Questions in Thailand. Proceedings Farming System Research Institute. DOA. 13 p.

8. Pantastico, E.B., Chandrapanya, D., **Manakasem, Y.**, and P. Chotikunta. 1985. Farming Systems Development in Thailand. Proceedings FAO Seminar, RAPA, BANGKOK. 20 p.

9. **Manakasem, Y.**, et. at., 1985. Mungbeen-Rice System. Extension Leaflet. Fainfed Farming Research and Development Project. Farming System Research Institute. DOA. (in Thai)

10. **Manakasem, Y.**, et. at., 1985. Direct Seeded Rice. Extension Leaflet. Rainfed Farming Research and Development Project. Farming System Research Institute DOA. (in Thai)

11. **Manakasem, Y.** 1991. Temperature and Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) Production. Ph.D. Thesis. The University of Sydney. N.S.W. Australia.

12. **Manakasem, Y.**, 1995. Changes in Apices and Effect of Microclimate on Floral Initiation of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). Suranaree J. Sci. Technol. 2 : 15-20

13. **Manakasem, Y.**, 1995. Changes in Apices and Effect of Microclimate on Floral Initiation of Rambutan (*Nephelium lappaceam* L.) Suranaree J. Sci. Technol. 2 : 81 – 87

14. **Manakasem, Y.**, 1996. The Comparative Studies of the Changes in Apices of Some Kinds of Tropical Fruit and Temperate Fruit. Proceedings of the International Conference on Tropical Fruit. 'Global Commercialisation of Tropical Fruits'. Kuala Lumpur, Malaysia, 23-26 July, 1996. 2: 160-167.

15. **Manakasem, Y.**, Sornsuk P. and Ketudat-Cairns M., 1998. A Survey of the Status and Problems of the Vegetable and Fruit Production and Post-Harvest Handling System in Nakhon Ratchasima Province. Suranaree J. Sci. Technol. 5: 95 – 100.

16. **Manakasem, Y.**, and P.B. Goodwin. 1998. Using the Floral Status of Strawberry Plants, and Determined by Stereomicroscopy and Scanning Electron Microscopy, to Survey the Phenology of Commercial Crops. J. AMER.Soc. Hort. Sci. 123(4): 513-517.

17. **Manakasem, Y.**, and Sawaschai, C. 1999. Using Tissue Culture Technique to Produce Ready to Plant Strawberry Runners. Suranaree J. Sci.Technol. 6: 32-41.

18. **Manakasem, Y.**, and R. Opassiri, 2000. Application of SEM for Studying Physiology of flowering in Rice (*Oryza sativa L.*). Proceeding of in the 7th Asia-Pacific Electron Microscope Conference, 26-30 June 2000, Singapore.

19. **Manakasem, Y.**, 2001. Strawberry Production and Strwaberry Marketing in Australia. Technical paper presented in the Seminar "Status and Direction of the Development of Strawberry Marketing in and out Thailand. BIOTEC 28 Nov. 2001, Ching Mai. Thailand. 12 p. (in Thai)

20. **Manakasem, Y.**, 2002. Strawberry Production and Strawberry Marketing in Australia. Technical paper. Royal Project Journal. 6(3): 9-10

21. Wongput, N. And **Y. Manakasem** 2002. Application of SEM for Studying the changes in Apices of White Marigold (*Tagetes erecta L.*) to Form Flower. J. Electron Microscopy Society of Thailand. 16 (1): 181-182

22. **Manakasem, Y.**, 2002 Changes in Apices from Vegetative to Flower Induction by SEM. Processding of the 15 th International Congress on Electron Microscopy, 1 – 6 Sept 2002. Durban South Africa.

23. Chaladket, P., **Manakasem, Y.**, Sriyotha, P., Sooththumrong, A., and Srijakawan, S 2002. Grawth and Development of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah.var mirifica Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham.] Extended Abstracts of Oral Presentation on The 3 rd National Symposium on Graduate Research of Thailand. 18-19 July 2002 at Suranaree university of Technology. Nakhon Ratchasima. Thailand. P 49-50. (in Thai)

24. Toasanarj, P., **Manakasem, Y.**, Sookthumrong, A., and Sriyotha, p. 2002. The Study of the Secondary Initiation of the Inflorescence of Strawberry (*Fragaria annassa* Duch.) Extended Abstracts of Oral presenlation on the 3 rd Nationsl Symposium on Graduate Research of Thailand. 18-19 July 2002 at Suranaree University of Technology. Nakhon Ratchasima. Thailand. P 47 – 48. (in Thai)

25. Thatphithakkul, N., Attakitmongcol, k., Sujitjorn, S. and **Manakasem, Y.** 2002. EM Image Comprssion. Extended Abstracts of Oral Presentation on The 3 rd National Symposium on Graduate Research of Thailand. 18 – 19 July 2002 at Suranaree University of Technology. Nakhon Ratchasima. Thailand. P 353 – 354. (in Thai)

26. Chalardkid, P., **Manakasem, Y.** and Sriyotha, P. 2003. **Growth, Development and the Accumulation of Daidzein and Genistein in the Tuberous Roots of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. Var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham].** Suranaree J. Sci. Technol. 10:350-358.

27. **Manakasem, Y.**, 2004. Inspection of the Increased Emergence of Jasmine Flower in Winter by SEM. Proceeding of the 4th Asean Microscopy Conference, 5-6 Jan 2004. Hanoi Vietnam.

28. **Manakasem, Y.** and P. Tuasange. 2004. Flowering Aspect in Strawberry by Light Microscopy and Electron Microscopy. Proceeding of the 8th Asia-Pacific Conference on Electron Microscopy, 7-11 June 2004. Kanazawa, Japan.

29. Rangsriwatananon, K., **Manakasem, Y.**, Kidka, B. and Kongmanklang, C. 2005. Improvement of soil by using minerals for crop production. Proceeding of "The Suitable Technology Transfer for Development of the Northeasthern of Thailand". 11 February 2005. Khon Kaen, Thailand.

30. **Manakasem, Y.**, and V. Chaowises. 2005. Scanning Electron Microscopy Study on Using Ethephon to Increase Pistillate/Staminate Flower Production In Cucumber. Proceeding of the 5th ASEAN Microscopy Conference November 24-25, 2005.Manila, Philippines.

31. **Manakasem, Y.,** and P. Chanrat. 2006. SEM Study on the Effect of Complete Fertilizer Calcium – Boron and NAA on Physiology of Flowering for Pod and Seed Setting of the White Kwao Krua *(Pueraria candollei* Grah. var. mirifica). Proceeding of the 16th International Microscopy Congress, September 3-8, 2006. Sapporo, Japan.

32. **Manakasem, Y.,** Laguanwan, C. and Kupittayanant, P. 2007. Effects of Manure, Chemical Fertilizer, NAA and GA_3 on Growth and Accumulation of Phytosterol in the Tuberous Roots of Red Kwao Krua *(Butea superba* Roxb.) and the Effects of this Phytosterol on Female Rat *(Rattus norvegicus)* Uterine Tension. Proceeding of the International Workshop on Medicinal and Aromatic Plants; In association with the Royal Flora Ratchaphruek 2006: International Horticultural Exposition for His Majesty the King of Thailand January 15-18, 2007. Chiang Mai, Thailand.

33. Muangtip, K., Sakuanrungsirikul, S. and **Manakasem, Y.** 2007. Phenological Cycle and Molecular Markers Classification of Red Kwao Krua *(Butea superba* Roxb.) Suranaree J. Sci. Technol. 14(1): 119-128.

34. Manakasem, Y.,Chalardkid, P. and Chanrat, P. 2007. The Effect of Cu^{2+} on the Accumulation of Daidzein, Genistein and Coumestral in the Tuberous Roots of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. Var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham]. Planta Medica. 9(73): 613. 55th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant Research. September 2-6, 2007, Graz, Austria.

35. Muangtip, K., Sakuanrungsirikul, S. and **Manaksem, Y.** 2007. Anthocyanin Accumulation and Molecular Markers Classification of Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.). The 6 th Princess Chulabhorn International Science Congress (PCVI). The Interface of Chemistry and Biology in the "Omics" Era. 25-29 November 2007, Bangkok, THAILAND.

36. Khika, K. and **Manakasem, Y.** 2008. Irrigation, Spacing, and Shading on Leaf and Root Growth and the Accumulation of 3,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone and Stigmasterol in Tuberous Roots of Red Kwao Krua. Suranaree J. Sci. Technol. 15(1):75-81.

37. Laguanwan, C., Kupittayanant, S. and **Manakasem, Y.** 2008. The Efficacy of Red Kwao Krua (*Butea superba* Roxb.) on Female Rat (*Rattus norvegicus*) Uterine Tension. The 12th International Congress Phytopharm , 2-4 July 2008, Saint-Petersburg, Russia.

38. Chaowiset, W., Kupittayanant, S., **and Manakasem, Y.**, 2008. The Effect of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. mirifica (Airy et Suvatabandhu) Niyomdham] Crude Extract Containing Puerarin on Vascular Relaxation in the White Rat (*Rattus norvegicus*). Panta Medica. 9 (74): 978. 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF. August 3-8 2008, Athens, Greece.

8. Teaching Experience :

8.1 Research Training : Supervision of graduate students, undergraduate students and research assistants.

8.2 Graduate Subjects Taught:

(1) Physiology of Environmental Stress

(2) Physiology of Flowering and Fruit Setting

(3) Plant Biochemistry

8.3 Undergraduate Subjects Taught :

(1) Physiology of Crop Production

(2) Plant Biology

(3) Plant Growth Regulators

(4) Landscape and Turf Management

(5) Economic Ornamental Crop Production

(6) CO-OP (Cooperative Education)

8.4 (1) Main supervisor 5 M.Sc. graduated.

(2) Main supervisor 2 Ph.D. graduated.

(3) 2 Ph.D. students and 2 Master students (in hand)

9. Awards :

(1) UNDP/FAO scholarship funding to study for the Master Degree at Los Banos UPLB. The Philippines. (1982 – 1984).

(2) Australia Government Scholarship under ACNARP Project award to study for the Doctoral Degree at The University of Sydney, Australia.

(1986-1991).

(3) Lee Foundation, Singapore Travel scholarship for presentation in the 7th APEM Asia-Pacific Electron Microscopy Conference, 26 to 30 June 2000. Singapore.

(4) German Academic Exchange Service (DAAD) award for Internation Summer School Course "Integrated Agricultural Engineering" Facultry of Agriculture, University of Gottingen, 23 July – 4 August 2001.

(5) NSTDA (National Science and Technology Development Agency) award supporting a presentation at the 15th International Congress on Electron Microscopy, 1-6 Sept. 2002 Durban South, Africa.

(6) Kazato Research Foundation Scholarship award to participate in the 8th Asia-Pacific Conference on Electron Microscopy, 7-11 June 2004, Kanazawa, Japan.

10. Members

(1) Electron Microscopy Society of Thailand (EMST)

(2) Thai–Australian Technological Services Center (TATSC) (administrative committee for 2 period)

(3) The Australian Student Center.

(4) Society for Medicinal Plant Research (GA)

11. Administrative Position

(1) The Secretary of the Agricultural Institute Committee (1993 – 1995).

(2) The Committee and the Secretary of the Agricultural Committee (1996 – 1999).

(3) The Committee and the Secretary of the Agricultural Committee (2001 – 2003).

(4) The Member of the Academic Senate of the Suranaree University of Technology (2000 – 2007).

(5) Acting Associate Dean in 2003.

(6) The Committee of the Agricultural Committee (2007 – 2009).