

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



E42179



TAXONOMY AND MOLECULAR STUDY OF GENUS *HEDYCHIUM*
(FAMILY ZINGIBERACEAE) IN THAILAND

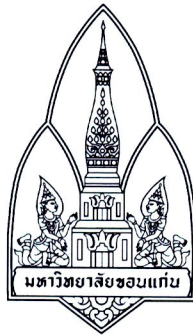
MISS PORNPIMON WONGSUWAN

A THESIS FOR DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
KHON KAEN UNIVERSITY

2010



E42179



**TAXONOMY AND MOLECULAR STUDY OF GENUS *HEDYCHIUM*
(FAMILY ZINGIBERACEAE) IN THAILAND**



MISS PORNPIMON WONGSUWAN

**A THESIS FOR DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
KHON KAEN UNIVERSITY**

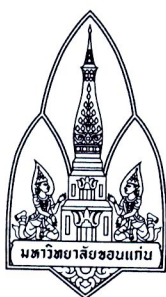
2010

**TAXONOMY AND MOLECULAR STUDY OF GENUS *HEDYCHIUM*
(FAMILY ZINGIBERACEAE) IN THAILAND**

MISS PORNPIMON WONGSUWAN

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND NATURAL PRODUCTS
GRADUATED SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY**

2010



**THESIS APPROVAL
KHON KAEN UNIVERSITY
FOR
MASTER OF SCIENCES**

IN PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND NATURAL PRODUCTS

Thesis Title: Taxonomy and molecular study of genus *Hedychium* (family Zingiberaceae)
in Thailand

Author: Miss Pornpimon Wongsuwan

Thesis Examination Committee

Prof. Dr. Thawatchai Santisuk	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Chayan Picheansoonthon	Member
Dr. Natsajee Nualkaew	Member
Dr. Tanit Padumanonda	Member

Thesis Advisors:

..... *Chayan Picheansoonthon* Advisor
(Assoc. Prof. Dr. Chayan Picheansoonthon)

..... *Natsajee Nualkaew* Co-Advisor
(Dr. Natsajee Nualkaew)

..... *L Manmart*
(Assoc. Prof. Dr. Lampang Manmart)
Dean, Graduate School

..... *Bn*
(Assoc. Prof. Dr. Bung-orn Sripanidkulchai)
Dean, Faculty of Pharmaceutical Sciences

พรพิมล วงศ์สุวรรณ. 2553. การศึกษาอนุกรมวิธานและเชิงโมเลกุลของพืชสมุนไพรสกุลว่านมหาหงส์
(วงศ์ขิง) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชเคมี
และผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รศ. ดร. ชยันต์ พิเชียรสุนทร,
อ. ดร. นาฏสจี นวลแก้ว

บทคัดย่อ

E 42179

พืชสกุลว่านมหาหงส์เป็นพืชวงศ์ขิงสกุลหนึ่ง มีความสำคัญเชิงพฤกษศาสตร์พื้นบ้าน หลายชนิดเป็นพืชสมุนไพร บางชนิดเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญของโลก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประมวลองค์ความรู้เชิงอนุกรมวิธานสำหรับระบุชนิดและชื่อที่ถูกต้องของพืชสกุลนี้ อันจะเป็นพื้นฐานสำคัญในการวิจัยพัฒนาด้านต่าง ๆ ต่อไป โดยเฉพาะด้านการวิจัยและพัฒนายาบำบัดโรคใหม่ ๆ การศึกษาทบทวนเชิงอนุกรมวิธานโดยการศึกษาตัวอย่างแห้งและตัวอย่างสดในธรรมชาติ พบว่าในประเทศไทยมีพืชสกุลนี้ไม่น้อยกว่า 21 ชนิด และ 6 พันธุ์ ในจำนวนนี้เป็นชนิดใหม่ของโลก 3 ชนิด ได้แก่ *H. muanwongyathiae*, *H. phuluangense* และ *H. siamense* มี 1 ชนิดพบครั้งแรกในประเทศไทย คือ *H. neocarneum* นอกจากนี้ ยังพบว่าชนิด *H. samuiense* และ *H. thaianum* เป็นชนิดเดียวกันกับชนิด *H. roxburghii* และ *H. pauciflorum* ตามลำดับ และลดลำดับชั้นของ *H. forrestii* จากระดับชนิดเป็นระดับพันธุ์ คือ *H. coronarium* var. *forrestii* โดยได้จัดทำรูปวิธานจำแนกชนิด คำบรรยายลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การกระจายพันธุ์ ภาพวาดลายเส้นและภาพถ่ายประกอบทุกชนิดและพันธุ์ ส่วนการศึกษาความสัมพันธ์เชิงทางวิวัฒนาการของพืชสมุนไพรสกุลนี้โดยใช้ข้อมูลจากลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง ITS ด้วยวิธี Maximum Parsimony พบว่าทุกชนิดที่พบในประเทศไทยมาจากชาติพันธุ์เดียวกัน ที่ค่าความเชื่อมั่นระดับสูง (bootstrap = 100%) และสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มแบ่งเป็นอีก 2 กลุ่มย่อย ที่ค่าความเชื่อมั่นระดับปานกลางถึงสูง (bootstrap = 70-100%) กลุ่มที่หนึ่งมีดอก 1 ดอกต่อใบประดับ แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ 1. ใบประดับซ้อนเหลื่อมรูปทรงกระบอกหรือรูปรี และ 2. กลุ่มย่อยที่ใบประดับไม่ซ้อนเหลื่อมกัน ส่วนกลุ่มที่สองมีดอกมากกว่า 1 ดอกต่อใบประดับ แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ 1. ใบประดับซ้อนเหลื่อมกันจนถึงขีดยาวออกไป และ 2. ใบประดับไม่ซ้อนเหลื่อมกัน

Pornpimon Wongsuwan. 2010. **Taxonomy and molecular study of genus *Hedychium* (family Zingiberaceae) in Thailand.** Master of Science Thesis in Pharmaceutical Chemistry and Natural Products, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors: Assoc. Prof. Dr. Chayan Picheansoonthon,
Dr. Natsajee Nualkaew

ABSTRACT

E42179

The genus *Hedychium* J. König is one of the ethnobotanically and economically important genera of the family Zingiberaceae. This study is aimed to compile taxonomic identification for members of the genus *Hedychium* in Thailand for further studies in other related fields, particularly drug development. The genus was revised based on investigation of herbarium specimens and living specimens in their natural habitats. At least 21 species and 6 varieties of the genus *Hedychium* are enumerated for Thailand, 3 of which are new species: *H. muanwongyathiae*, *H. phuluangense* and *H. siamense*. *H. neocarneum* is newly recorded for Thailand, while 2 species, *H. samuiense* and *H. thaianum*, are found conspecific with *H. roxburghii* and *H. pauciflorum* respectively. *H. forrestii* is treated here as a variety of *H. coronarium*. Key to the species and varieties, together with botanical description, distribution, and illustrations of all taxa are provided. Phylogenetic study of the Thai *Hedychium* based on ITS sequence data were analyzed and the Maximum Parsimony analyses indicated that the genus *Hedychium* is monophyletic (bootstrap=100%) and four clades are defined with moderately to strongly supported bootstrap value 70-100%. Based on both taxonomic study and phylogenetic analyses, the genus can be divided into 2 groups, with 2 subgroups each. The first group consists of taxa with 1-flowered bracts, either cylindrical or elliptic imbricate bracts or not imbricate bracts, whereas the latter group comprises taxa with more-than-one-flowered bracts, either with conspicuous conical imbricate-elongate bracts, or not imbricate bracts.

Goodness Portion to the Present Thesis is Dedicated
for my Parent and Entire Teaching Staff

ACKNOWLEDGMENTS

I would like to express my deepest and sincere gratitude to my advisor, Associate Professor Dr. Chayan Picheansoonthon for his guidance, valuable suggestions, encouragement, patience, supports throughout my study and also for providing me an opportunity to grow as a good student.

I would like to express my greatest appreciation and sincere gratitude to my co-advisor, Dr. Natsajee Nualkaew for her valuable advices, guidance and kindness suggestion.

I wish to express my greatest appreciation to Thai Traditional Medical Knowledge Fund of the Ministry of Public Health for the financial support, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University for financial assistance support and it is also impossible to forget the Graduate School, Khon Kaen University for financial assistance with travel to join the 5th International Symposium on the Family Zingiberaceae at Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Xishuangbanna, China.

I would like to special thanks to everyone in the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University and other persons whose names have not been mentioned here for helping me get through the difficult times and friendships. Many thanks are due to the curators and staff of the herbaria for allowing access to herbarium materials.

I would like to thanks to all members of our research unit, Mr. Supachai Koonterm, Mr. Piyapong Yupparach, Mr. Chalermchoke Boonchit and Mr. Jeeradej Mayoe for field assistance, friendships and help during the time of this study.

Finally, and most important, I would like to express my gratitude to my dear parents and family for their love, care understanding and cheerfulness throughout my life.

Pornpimon Wongsuwan

TABLE OF CONTENTS

	Page
ABSTRACT (IN THAI)	i
ABSTRACT (IN ENGLISH)	ii
DEDICATION	iii
ACKNOWLEDGMENTS	iv
LIST OF TABLES	vii
LIST OF FIGURES	viii
LIST OF ABBREVIATIONS	xi
CHAPTER I INTRODUCTION	1
Objectives	1
Scopes of the research	2
Research outcome	2
CHAPTER II LITERATURE REVIEW	3
Introduction	3
Taxonomic history of the genus <i>Hedychium</i> J. König	3
Taxonomic history of the genus <i>Hedychium</i> in Thailand	6
Molecular history of the genus <i>Hedychium</i>	7
CHAPTER III TAXONOMIC STUDY	13
Materials and methods	13
Results	13
Key to the species of <i>Hedychium</i> in Thailand	16
Botanical and taxonomic descriptions of <i>Hedychium</i> in Thailand	18
Distribution of <i>Hedychium</i> in Thailand	120
Discussions and conclusions	126
CHAPTER IV MOLECULAR STUDY	129
Materials and methods	129
Results	137
Discussions and Conclusions	142
CHAPTER V DISCUSSION AND CONCLUSION	145
REFERENCES	149

TABLE OF CONTENTS (cont.)

	Page
APPENDICES	153
Appendix A Floristic regions and provinces of Thailand	155
Appendix B The multiple sequence alignment of ITS sequences	159
RESEARCH PUBLICATIONS	173
VITAE	175

LIST OF TABLES

	Page
Table 2.1 Placement of genera in the new classification of the family Zingiberaceae	9
Table 2.2 Characteristics of the subfamilies and tribes of the new classification of the Zingiberaceae	10
Table 2.3 Characteristics and genera of the previously recognized tribes of the Zingiberaceae	11
Table 4.1 List of specimens examined for molecular phylogenetic analysis	132
Table 4.2 List of specimens examined for molecular phylogenetic analysis from GenBank	135

LIST OF FIGURES

	Page
Figure 3.1 Illustration of <i>H. aureum</i> C. B. Clarke & Mann ex Baker	20
Figure 3.2 Photograph illustration of <i>H. aureum</i> C. B. Clarke & Mann ex Baker	21
Figure 3.3 Illustration of <i>H. biflorum</i> Sirirugsa & K. Larsen	24
Figure 3.4 Photograph illustration of <i>H. biflorum</i> Sirirugsa & K. Larsen	25
Figure 3.5 Illustration of <i>H. coccineum</i> Buch.-Ham. ex Sm	28
Figure 3.6 Photograph illustration of <i>H. coccineum</i> Buch.-Ham. ex Sm	29
Figure 3.7 Illustration of <i>H. collinum</i> Ridl.	32
Figure 3.8 Photograph illustration of <i>H. collinum</i> Ridl.	33
Figure 3.9 Photograph illustration of ethnobotany	37
Figure 3.10 Illustration of <i>H. coronarium</i> J. König var. <i>coronarium</i> J. König	38
Figure 3.11 Photograph illustration of <i>H. coronarium</i> J. König var. <i>coronarium</i> J. König	39
Figure 3.12 Illustration of <i>H. coronarium</i> J. König var. <i>chrysoleucum</i> (Hook.) Baker	42
Figure 3.13 Photograph illustration of <i>H. coronarium</i> J. König var. <i>chrysoleucum</i> (Hook.) Baker	43
Figure 3.14 Illustration of <i>H. coronarium</i> J. König var. <i>flavescens</i> (Carey ex Roscoe) Baker	46
Figure 3.15 Photograph illustration of <i>H. coronarium</i> J. König var. <i>flavescens</i> (Carey ex Roscoe) Baker	47
Figure 3.16 Illustration of <i>H. coronarium</i> J. König var. <i>foresstii</i> (Diels) Picheans. & Wongsuwan	50
Figure 3.17 Photograph illustration of <i>H. coronarium</i> J. König var. <i>foresstii</i> (Diels) Picheans. & Wongsuwan	51
Figure 3.18 Illustration of <i>H. ellipticum</i> Buch.-Ham. ex Sm	54
Figure 3.19 Photograph illustration of <i>H. ellipticum</i> Buch.-Ham. ex Sm	55
Figure 3.20 Illustration of <i>H. gomezianum</i> Wall	58
Figure 3.21 Photograph illustration of <i>H. gomezianum</i> Wall	59

LIST OF FIGURES (conti.)

	Page
Figure 3.45 Photograph illustration of <i>H. spicatum</i> Sm. var. <i>acuminatum</i> (Roscoe) Wall.	107
Figure 3.46 Illustrations of <i>H. stenopetalum</i> Lodd.	110
Figure 3.47 Photograph illustration of <i>H. stenopetalum</i> Lodd.	111
Figure 3.48 Illustrations of <i>H. tomentosum</i> Sirirugsa & K. Larsen	114
Figure 3.49 Photograph illustration of <i>H. tomentosum</i> Sirirugsa & K. Larsen	115
Figure 3.50 Illustrations of <i>H. villosum</i> Wall.	118
Figure 3.51 Photograph illustration of <i>H. villosum</i> Wall.	119
Figure 3.52 Distribution of <i>Hedychium</i> in Thailand 1	122
Figure 3.53 Distribution of <i>Hedychium</i> in Thailand 2	123
Figure 3.54 Distribution of <i>Hedychium</i> in Thailand 3	124
Figure 3.55 Distribution of <i>Hedychium</i> in Thailand 4	125
Figure 4.1 Relative positions and directions of the PCR amplication and sequencing primers in nuclear gene region ITS	136
Figure 4.2 One of 237 equally most parsimonious trees of Thai <i>Hedychium</i> based on ITS sequences	140
Figure 4.3 One of 321 equally most parsimonious trees of Thai <i>Hedychium</i> and data from Genbank based on ITS sequences	141

LIST OF ABBREVIATIONS

18s rDNA	18s ribosomal RNA gene
A, T, G, C	Nucleotides containing the base adenine, thymine, guanine and cytosine, respectively
BK	Bangkok Herbarium
BKF	Forest Herbarium
bp	Base pairs
°C	Degree Celcius
CAL	Botanical Survey of India
CI	Consistency index
cm	Centimeter
CMU	Chiang Mai University Herbarium
DNA	Deoxyribonucleic acid
dNTPs	Deoxynucleotide triphosphates (dATP, dTTP, dGTP, dCTP)
ITS1	Internal transcribed spacer 1
ITS2	Internal transcribed spacer 2
K	Royal Botanic Gardens, Kew Herbarium
KKU	Khon Kaen University Herbarium
L	Nationaal Herbarium Nederland, Leiden University branch
MgCl ₂	Magnesium chloride
mm	Millimeter
mM	Millimolar
P	Herbier National de Paris
PAUP	Phylogenetic analysis using parsimony
PCR	Polymerase chain reaction
PSU	Prince of Songkla University Herbarium
QBG	Queen Sirikit Botanic Garden Herbarium
RC	Rescaled consistency index
RI	Retention index
SING	Singapore Botanic Gardens Herbarium
μl	Microliter
UV	Ultraviolet