

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างผักและผลไม้พื้นบ้านจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ฝอยทอง ผักหนาม ผักแปม สะแล มะแฟน และมะใจัก ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน เพื่อศึกษาความหลากหลาย การกระจายพันธุ์และคุณสมบัติทางชีวเคมีของพืชเหล่านี้ โดยมีการเก็บข้อมูลลักษณะทาง สัณฐานวิทยา พฤกษศาสตร์ และ คุณค่าทางโภชนาการ และนำไปพิจาณาหาความหลากหลาย ทางพันธุกรรมด้วยการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ รวมทั้งนำสารสกัดของพืชมาทดสอบคุณสมบัติ ทางชีวเคมี ผลจากการวิจัยพบว่า ผักทั้ง 3 ชนิด เป็นพืชปลูกที่มีการเจริญเติบโตได้ง่าย และปลูกได้ทั่วไป ยกเว้นฝอยทองที่พบได้ตามพื้นที่รกร้างและใช้ส่วนของลำต้นปลูกพืชชนิด อื่น ผักหนามพบในที่ชุ่มชื้นและเย็นมีการกระจายพันธุ์อยู่ตามริมแม่น้ำและลำคลอง ขณะที่ผัก แปมและสะแล เป็นพืชปลูกมีการกระจายพันธุ์และเจริญเติบโตได้ในสภาพพื้นที่ทั่วไป ส่วนมะแฟน และมะใจัก เป็นไม้ผลที่เจริญเติบโตในป่า ไม่พบทั่วไป การกระจายพันธุ์ของพืชจึงเป็นไปตาม ถิ่นที่อยู่อาศัย สำหรับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและพฤกษศาสตร์พบว่า ฝอยทอง เป็นพืชไร่ใบ มีลำต้นสีเหลืองอ่อนถึงสีส้ม ดอกและผลมีขนาดเล็กมากและมีอวบน้ำ พิเศษสำหรับแทงเข้าไปในพืชอาศัยเพื่อดูดกินธาตุอาหาร จากการสำรวจและเก็บตัวอย่าง พบว่า มีอยู่สองกลุ่ม ได้แก่ ลำต้นขนาดใหญ่และลำต้นขนาดเล็ก ซึ่งมีลักษณะของดอกและผล แตกต่างกัน ขณะที่ผักแปมไม่มีความแตกต่างกันทางสัณฐานวิทยา ส่วนผักหนามมีความ แตกต่างกันในรูปทรงใบ ขนาดลำต้นเล็กหรือใหญ่ขึ้นกับความอุดมสมบูรณ์ของดินที่เจริญอยู่ สำหรับสะแลพบความแตกต่างที่ดอกซึ่งแยกเป็นต้นเพศผู้และต้นเพศเมีย ส่วนมะแฟน พบ เพียง 1 ตัวอย่าง ขณะที่มะใจัก ไม่พบตัวอย่าง จึงต้องรอสำรวจทั้งมะแฟนและมะใจักในระยะที่ 2 ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการพบว่า ฝอยทองประกอบด้วยธาตุอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะโพแทสเซียม และฟอสฟอรัสที่มีปริมาณสูง รวมทั้งมีวิตามินเอ วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 ส่วนผักหนามมีปริมาณฟอสฟอรัสและแคลเซียมสูง มีวิตามินเอ วิตามินอี วิตามินบี 1 และ วิตามินบี 2 สำหรับปริมาณแอนติออกซิแดนท์ทั้งหมดที่พบในฝอยทองใหญ่ และผักหนาม เท่ากับ 215 และ 22.40 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ขณะที่ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด ที่พบใน ฝอยทองใหญ่ และผักหนามเท่ากับ 9.38 และ 15.48 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

สำหรับการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคไอ เอสเอสอาร์พบว่า ฝอยทอง จำนวน 36 ตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วยไพรเมอร์จำนวน 6 ชนิดมี เปอร์เซ็นต์โพลิมอร์ฟิซึมเท่ากับ 97.84 ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันอยู่ระหว่าง 0.09–1.00 และค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.99435 โดยสามารถแบ่งฝอยทองได้เป็น 2 กลุ่ม หรือสองชนิด ชัดเจน และตัวอย่างฝอยทองในแต่ละชนิดมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ สำหรับการ

เลือกไฟร์เมอร์ที่เหมาะสม เพื่อใช้วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของผักแปม ผักหนาม และสะแล จากไฟร์เมอร์จำนวน 70 ชนิด พบว่า มีไฟร์เมอร์จำนวน 8 ชนิด จากไฟร์เมอร์จำนวน 70 ชนิดที่เหมาะสมกับผักแปม สำหรับไฟร์เมอร์ที่เหมาะสมกับผักหนามมีจำนวน 7 ชนิด และไฟร์เมอร์ที่เหมาะสมกับสะแลมี จำนวน 15 ชนิด

ส่วนการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเพื่อหาสารสกัดที่มีฤทธิ์ชักนำให้เซลล์มะเร็ง เกิดการตายแบบ apoptosis พบว่า จากการติดตามการเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ ทดสอบ U-937 เมื่อถูก treat ด้วยสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลจากพืชทดสอบ ที่ความเข้มข้นและช่วงเวลาต่างกัน ลักษณะของเซลล์แบบ apoptotic bodies ถูกพบตั้งแต่ 24 ชั่วโมงแรกของการทดสอบด้วยสารสกัดความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของผักแปมและสะแล บัอมทั้งที่สกัดด้วยน้ำและ เอทานอล และพบในปริมาณมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปจนถึง 96 ถึง 120 ชั่วโมง (4-5 วัน) ของการทดสอบ ขณะที่สารสกัดทั้ง 2 แบบของฝอยทองเล็ก ทำให้เซลล์ U-937 มีลักษณะเหมือนเซลล์ที่ตายแบบ necrosis อย่างไรก็ตามพบว่า สารสกัดจากฝอยทองเล็กสามารถชักนำให้ U-937 เกิด DNA fragmentation ได้ที่ 6 ชั่วโมงของการทดสอบซึ่งเร็วที่สุดในกลุ่มพืชที่ใช้ในการทดสอบนี้ ขณะที่สารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลจากสะแลบัอม และสะแลยาวแสดงฤทธิ์ชักนำให้เซลล์ U-937 เข้าสู่ apoptosis pathway ได้ที่ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เริ่มพบที่ 72 ชั่วโมง (3 วัน) ของการทดสอบและพบมากขึ้น ที่ความเข้มข้นสารทดสอบ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ 96 ชั่วโมง (4 วันของการทดสอบ) โดยลักษณะ apoptotic bodies ถูกพบมากกว่า single large vesicle

Abstract

Survey and sampling of six indigenous plants; *Cuscuta* spp. (Dodder), *Eleutherococcus trifolius* (Pak Pam), *Lasia spinose* (Pak Nham), *Broussonetia Kurzii* (Salae), *Protium serratum* (Ma Fan) and *Schleichera oleosa* (Ma Jok) in the upper north of Thailand. Collected plant samples were used for study in diversity, distribution and biochemical characteristics. Morphological and botanical characters included nutritional value were also studied. The leaf samples were analyzed for DNA fingerprinting to determine their genetic diversity. Moreover, the plant extracts were used for testing the biochemical effects. The results revealed that three indigenous vegetables were cultivated plants which grow easily in every area. The ecology and habitat of the sample in each species were similar. The morphological and botanical characters of six plants found that dodders were parasitic herbs which grow easily in every area. Dodders were leafless, lack of chlorophyll and yellowish to orange stem. Their flowers and seeds were very small and they had haustoria to penetrate their hosts for nutrients. Two groups of dodders were found from survey and sampling: Big stem dodder and small one. They were also different in flowers and fruits characters. While *Eleutherococcus trifolius* (Pak Pam) samples were similar in morphological characters and the samples of *Lasia spinose* (Pak Nham) were dissimilarity in leaf shape. *Broussonetia Kurzii* (Salae) samples were dissimilarity in flower type which separated male and female plants. *Protium serratum* (Ma Fan) found only one plant while *Schleichera oleosa* (Ma Jok) was not found. For the nutritional value of vegetables, only two plants were analyzed. The nutritional value of big dodder stem was found most nutrients and high in potassium, phosphorus and composed of vitamin A, B₁ B₂ while young leaves of *Lasia spinose* (Pak Nham) were high in phosphorus, calcium and also composed of vitamin A, E, B₁, and B₂. Total antioxidant of big dodder stem and young leaves of *Lasia spinose* (Pak Nham) was 215.0 and 22.40 mg/ 100 g, respectively. However, total polyphenol was 9.38 และ 15.48 mg/g in big dodder stem and young leaves of *Lasia spinose* (Pak Nham). ISSR technique of DNA fingerprinting analysis was used to identify indigenous plants. Thirty six samples of dodders were analyzed by 6 primers, 97.84 % were polymorphic bands. The similarity coefficient was ranged from 0.09–1.00 and the cophenetic correlation was 0.99435. The result indicated that 36

samples of dodders were clearly divided into two groups or two species related to morphological characters and the level of genetic diversity in each group was low. Seventy primers were used to screen the DNA samples of another plants. Primers that produced clear, amplified bands, reproducibility, reliability and high polymorphism were selected for ISSR analysis. The results revealed that 7 primers out of 70 primers were selected for *Eleutherococcus trifolius* (Pak Pam), 8 primers for *Lasia spinose* (Pak Nham) and 15 primers were selected for *Broussonetia Kurzii* (Salae).

The objectives of biochemical activities tests were to investigate apoptosis induction (morphological changes and DNA fragmentation induction) of the crude extract from indigenous plants. The U-937's morphological changes, apoptotic bodies, were detected within 24 hours using 4 mg/ml of *Eleutherococcus trifolius* (Pak Pam) and *Broussonetia Kurzii* (Salae Pom) (both water and ethanoic extractions) and increase within 96–120 hours exposure time. Although, the morphological of U-937 treated with water or ethanoic extracts of small dodder after 24 hours exposure time gives necrotic cells. DNA fragmentation was induced within 6 hours after those cells treated with water or ethanoic extracts of “small dodder”, which is the strongest DNA fragmentation induction activity of those experimental plants extracts. Both water and ethanoic extracts of “Salae Pom” and “Salae Yao” (1 mg/ml) induced the DNA fragmentation within 72 hours exposure time, less treated concentration but longer exposure time. Almost of the morphological changes detected in this study was apoptotic bodies, meanwhile “Single large vesicle”, another apoptotic induced morphologies of cells, were majority for the others plants extracts.