

แบบสรุปผู้บริหาร [Executive Summary]

1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัยย่อยที่ 2

1.1 ชื่อเรื่อง

ชื่อโครงการวิจัย เอกลักษณ์ระดับเซลล์พืชสมุนไพร พืชถิ่นเดียว พืชหายาก และพืชใกล้สูญพันธุ์ของประเทศไทย

(Cytogenetic based identification of medicinal endemic rare and threatened plants of Thailand)

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

1.2.1 รศ. ดร. พวงผกา สุนทรชัยนาคแสง (ผู้อำนวยการแผนงาน และหัวหน้าโครงการย่อยที่ 2)

1.2.2 ผศ. ดร. งามนิจ ชื่นบุญงาม

ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

โทรศัพท์/โทรสาร : 02-201-5232, 089-793-7302 / 02-354-7172

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับอนุมัติงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

งบประมาณที่ได้รับ 418,000 บาท ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี

เริ่มทำการวิจัยเมื่อ เดือน สิงหาคม 2556 ถึง เดือน กรกฎาคม 2557

2. สรุปโครงการวิจัย

ความสำคัญและที่มา

มีพืชสมุนไพร พืชถิ่นเดียว พืชหายาก และพืชใกล้สูญพันธุ์ของประเทศไทยจำนวนมากที่ยังไม่เป็นที่รู้จัก และเห็นคุณค่า และมีการเก็บพืชจากธรรมชาติอย่างรู้เท่าไม่ถึงการณ์ ประกอบกับภูมิอากาศมีการเปลี่ยนแปลง และมีการทำลายป่าซึ่งเป็นแหล่งทรัพยากรพันธุกรรมพืช ดังนั้น เพื่อไม่ให้พืชบางชนิดสูญพันธุ์ และมีความหลากหลายทางพันธุกรรมลดลง อีกทั้งมีพืชสมุนไพรต่างชนิดที่เรียกชื่อเหมือนกัน แต่มีสรรพคุณแตกต่างกันทำให้มีความสับสนในการนำพืชเหล่านั้นมาใช้ประโยชน์ และอาจเกิดผลเสียแก่ผู้บริโภคได้ ซึ่งรัฐบาลในปัจจุบันมีการส่งเสริมให้มีการใช้ผลิตภัณฑ์สมุนไพรในการรักษาโรค เพื่อทดแทนยาแผนปัจจุบัน เป็นการลดการนำเข้ายาจากต่างประเทศ และเพิ่มรายได้ให้กับท้องถิ่นให้มากที่สุดเท่าที่เป็นไปได้ การศึกษาจำนวนและลักษณะการจับคู่ของโครโมโซมเป็นประโยชน์ในการระบุความสัมพันธ์พันธุ์ การเป็นลูกผสมหรือสายพันธุ์บริสุทธิ์ และการสร้างผลผลิต และการสืบทอดลูกหลานต่อไปของพืชชนิดนั้น เพื่อนำไปสู่การอนุรักษ์และบริหารจัดการทรัพยากรพืชได้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและเอกลักษณ์ระดับเซลล์ โดยใช้เทคนิคทางเซลล์พันธุศาสตร์ พืชสมุนไพร พืชถิ่นเดียว พืชหายาก และพืชใกล้สูญพันธุ์ ของประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลในการแก้ไขปัญหาและสนับสนุนการระบุชื่อและการจัดการทรัพยากรพืช เพื่อการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

วิธีการ

สำรวจและสืบค้นข้อมูล และออกเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร พืชหายาก พืชใกล้สูญพันธุ์ และพืชถิ่นเดียวของประเทศไทย 5 ชนิดได้แก่ ธนนไชย เทียนนางคาร์ ชยัน บุตเดือน และเปราะราสี โดยเก็บดอกอ่อน ตาอ่อน ราก และ/หรือต้นกล้าของพืชที่ใช้ในการศึกษานำมาปลูกเพื่อศึกษาเอกลักษณ์ระดับเซลล์ด้วยเทคนิคทางเซลล์พันธุศาสตร์ โดยศึกษาจำนวน ลักษณะ หรือการจับคู่ของโครโมโซมจากเซลล์ไมโครสปอร์โรไซท์หรือเซลล์กำเนิดเรณู

ผลการศึกษา

เอกลักษณ์เซลล์มีลักษณะการจับคู่ของโครโมโซม 4 ชนิด และจำนวนโครโมโซมของพืช 3 ชนิด รายงานเป็นครั้งแรก ธนนไชย (11II: $2n=22$), เทียนนางคาร์ (18II: $2n=36$), หล้านางแดง (13II: $2n=26$) และเปราะราสี (11II) ส่วนบุตเดือน และเปราะราสี มีจำนวนโครโมโซม $2n = 34$ และ $2n = 22$ ตามลำดับ เช่นเดียวกับรายงานที่มีมาก่อน ไม่พบความแปรผันของโครโมโซมของพืชชนิดเดียวกันจากแหล่งต่าง ๆ กัน พบผลึกแคลเซียมมาร์บอเนตรูปดาวในเซลล์ของธนนไชย และผลึกรูปเข็มและหยดน้ำมันในเซลล์ของเทียนนางคาร์ ซึ่งหยดน้ำมันอาจบ่งชี้ถึงการมีสารสมุนไพรของพืชชนิดนี้ ผลการวิจัยทำให้ได้ข้อมูลเอกลักษณ์เซลล์พืชที่จะช่วยแก้ไขปัญหาและสนับสนุนการระบุชื่อและการจัดการทรัพยากรพืช เพื่อการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน นำไปใช้ในการศึกษาต่อยอด การตรวจสอบพันธุ์ การปกป้อง และอนุรักษ์พันธุ์พืช ตลอดจนปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตให้พอเพียง ในการใช้ประโยชน์ได้ตามวัตถุประสงค์ และมีมาตรฐานสากล ลักษณะโครโมโซมที่บ่งบอกเอกลักษณ์เซลล์ที่ช่วยในการระบุชนิดพืช และทุกชนิดมีความสมบูรณ์พันธุ์ ที่จะสืบทอดสายพันธุ์สู่ลูกหลานต่อไปได้เป็นอย่างดี มีผลผลิตจำนวนมาก และสามารถปรับปรุงพันธุ์ได้ง่าย แต่บางชนิด เช่น เทียนนางคาร์ บุตเดือน และเปราะราสี มีลักษณะนิสัยที่เติบโตในลักษณะนิเวศที่จำเพาะต่อสภาพภูมิอากาศ และภูมิประเทศ และกระจายพันธุ์อยู่ในบริเวณที่จำกัด ทำให้มีการผสมพันธุ์ในเชื้อสายเดียวกัน (inbreeding) เป็นผลทำให้ฐานพันธุกรรมแคบลง และสร้างลูกหลานที่แสดงลักษณะอ่อนแอ เนื่องจากการแสดงออกของยีนด้อย ทำให้ไม่ต้านทานต่อสิ่งแวดล้อม ในที่สุดพืชเหล่านี้อาจสูญพันธุ์ได้ ซึ่งถ้าหากมีการขยายอนุรักษ์ และปรับปรุงพันธุกรรมจะทำให้สามารถนำไปศึกษาเพิ่มเติม และใช้ประโยชน์ได้อย่างยั่งยืน

กลุ่มเป้าหมาย การนำไปประโยชน์ และข้อเสนอแนะ

ข้อมูลพันธุกรรมจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการศึกษาต่อยอด การตรวจสอบพันธุ์ การปกป้องพันธุ์พืช อนุรักษ์ และจัดการทรัพยากรพันธุกรรมพืช ตลอดจนปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตอย่างพอเพียง ในการใช้ประโยชน์ได้ตามวัตถุประสงค์ และมีมาตรฐานสากล ผู้ที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์มีดังนี้

1. บุคคลทั่วไป เกษตรกร และคนในท้องถิ่น นำพืชที่ขยายพันธุ์ได้ง่าย เช่น ชยัน และธนนไชย ซึ่งเป็นพืชสมุนไพร อาหาร และเป็นไม้ประดับ และปรับปรุงพันธุ์พืช หายากใกล้สูญพันธุ์ เช่น เทียนนางคาร์ บุตเดือน และ เปราะราสี เพื่อสร้างพันธุ์ที่ต้านทานต่อสิ่งแวดล้อม นำไปปลูก และขยายพันธุ์ ให้ได้ผลผลิตอย่างพอเพียงสำหรับการบริโภค และสร้างรายได้

2. หน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการปกป้องพันธุ์พืช ข้อมูลพันธุกรรมระดับเซลล์ จะเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว ที่ใช้ในการปกป้องพันธุ์ และตรวจสอบพันธุ์พืช เพื่อวัตถุประสงค์ต่าง ๆ

3. นักวิชาการ การศึกษาต่อยอดเพื่อสร้างองค์ความรู้ โดยนักวิชาการ เช่นการศึกษายีนโม การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมี และการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฯลฯ

4. ผู้ค้าและผู้ผลิต พืชสมุนไพร อาหาร และไม้ดอกไม้ประดับสามารถเลือกชนิดพืชมาใช้ได้ตามวัตถุประสงค์ มีข้อมูลและคุณภาพมาตรฐานโลก

5. หน่วยงานต่าง ๆ เช่น หน่วยงานอนุรักษ์พันธุกรรมพืช ได้แก่ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพรรณพืช กรมป่าไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์ กรมวิชาการเกษตร องค์การเภสัชกรรม และแหล่งทุนสนับสนุนการวิจัย เป็นต้น หน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนที่มีการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพืช ในการสร้างผลผลิตทั้งในระดับท้องถิ่น จนถึงระดับสากล นำผลการวิจัยไปใช้ในการบริหารจัดการทรัพยากร ทั้งในและระหว่างประเทศ เช่น พืชหายาก และถิ่นเดียวที่มีประโยชน์เป็นสมุนไพร อาหาร และไม้ประดับ ได้แก่ ธนนิไชย และขยัน ควรส่งเสริมให้มีการศึกษาคุณค่าทางอาหาร สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และ ทรงพุ่ม ดอก และใบหนา มันสวยงามเป็นไม้ประดับได้พร้อม ๆ กัน และสนับสนุนให้ปลูกในท้องถิ่น ส่วนเทียนนางคาร์ ปุดเดือน และเปราะราสี เป็นพืชสวยงามแปลกตา ใกล้สูญพันธุ์ควรสนับสนุนให้มีขยายและอนุรักษ์ และปรับปรุงพันธุ์เพื่อเป็นพืชเศรษฐกิจต่อไป ไมเช่นนั้นพืชทั้ง 3 ชนิดจะถูกกลืนหายไปจากป่าจนสูญพันธุ์ โดยที่ยังไม่ได้ศึกษาข้อมูลและใช้ประโยชน์ นอกจากนั้นยังได้ข้อมูลในการสร้างจิตสำนึกและการถ่ายทอดความรู้จากปราชญ์ไปสู่คนรุ่นหลัง ฯลฯ

อีกทั้งผลจากการศึกษาจะช่วยแก้ปัญหาการระบุชนิดพืชสมุนไพรต่างชนิดที่เรียกชื่อเหมือนกัน แต่มีสรรพคุณแตกต่างกัน ที่มีอยู่เป็นจำนวนมากทำให้มีความสับสนในการนำพืชสมุนไพรเหล่านั้นมาใช้ประโยชน์ และอาจเกิดผลเสียแก่ผู้บริโภคได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์กับนโยบายรัฐบาลในปัจจุบันที่มีการส่งเสริมให้มีการใช้ผลิตภัณฑ์สมุนไพรในการรักษาโรค เพื่อทดแทนยาแผนปัจจุบัน เป็นการลดการนำเข้ายาจากต่างประเทศ และเพิ่มรายได้ให้กับท้องถิ่นให้มากที่สุดเท่าที่เป็นไปได้

3. บทคัดย่อภาษาไทยและบทคัดย่อภาษาอังกฤษ (Abstract)

บทคัดย่อ

พืชสมุนไพร พืชถิ่นเดียว พืชหายาก และพืชใกล้สูญพันธุ์เป็นที่ต้องการของนักเก็บพรรณไม้ทั้งในและนอกท้องถิ่น การเก็บพืชจากธรรมชาติมากเกินไปประกอบกับภูมิอากาศเปลี่ยนแปลง อีกทั้งการทำลายป่าเพื่อสร้างถนน และความต้องการพื้นที่เพื่อวัตถุประสงค์ต่าง ๆ ทำให้พืชบางชนิดสูญพันธุ์ และมีความหลากหลายทางพันธุกรรมลดลง การศึกษาและอนุรักษ์พืชจึงจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการจัดการทรัพยากรพืชและการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเอกลักษณ์ระดับเซลล์ของพืชสมุนไพร พืชถิ่นเดียว พืชหายาก และพืชใกล้สูญพันธุ์ของประเทศไทย 5 ชนิดใน 4 วงศ์ ได้แก่ ธนนิไชย (*Buchanania siamensis* Miq.) วงศ์ ANACARDIACEAE เทียนนางคาร์ (*Impatiens kerriae* Craib) วงศ์ BALSAMINACEAE ญานางแดง (*Bauhinia strychnifolia* Craib) วงศ์ LEGUMINOSAE ปุดเดือน (*Hedychium longicornutum* Griff. ex Baker) และเปราะราสี (*Kaempferia larsenii* Sirirugsa) วงศ์ ZINGIBERACEAE ส่วนของพืชที่ใช้ในการศึกษาเก็บตัวอย่างจากพืชที่เกิดในธรรมชาติจากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย เตรียมโครโมโซมในการศึกษาด้วยวิธีสควอช หรือ โปรโทพลาสต์ดรอพ โดยใช้รากจากต้นกล้าหรือยอดอ่อนสำหรับศึกษาโครโมโซมร่างกาย และ/หรือเก็บช่อดอกอ่อนเพื่อศึกษาลักษณะการจับคู่ของโครโมโซม ด้วยวิธีอะซีไตคาร์มินสเมียร์ ตรวจดูโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง Olympus BX50 กำลังขยาย 1,000 X บันทึกภาพโครโมโซมที่กระจายดีในเซลล์ร่างกายระยะเมทาเฟส และโครโมโซมที่จับคู่กันในเซลล์ที่กำลังแบ่งแบบไมโอซิสระยะต่าง ๆ ระบุจำนวน และการจับคู่ของโครโมโซม ผลการศึกษาพบว่าเอกลักษณ์เซลล์มีลักษณะการจับคู่ของโครโมโซม 4 ชนิด และจำนวนโครโมโซมของพืช 3 ชนิดรายงานเป็นครั้งแรก ได้แก่ ธนนิไชย (11II: 2n=22), เทียนนางคาร์ (18II: 2n=36), ญานางแดง (13II: 2n=26) และเปราะราสี (11II) ส่วนปุดเดือน และเปราะราสี มีจำนวนโครโมโซม 2n = 34 และ 2n = 22 ตามลำดับ

เช่นเดียวกับรายงานที่มีมาก่อน และไม่พบความแปรผันของโครโมโซมของพืชชนิดเดียวกันจากแหล่งต่าง ๆ กัน ธนไชยและเประราศรีมีโครโมโซมจับคู่กันเป็น 11II และจำนวน $2n=22$ เท่ากัน แต่ขนาดของโครโมโซมแตกต่างกันชัดเจน นอกจากนี้ ในเซลล์กำเนิดเรณูของธนไชยพบผลึกแคลเซียมออกซาเลตรูปดอกไม้ และเทียนนางคาร์พบผลึกรูปเข็ม และหยดน้ำมันปริมาณมากเป็นเอกลักษณ์เซลล์พืชทั้งสองชนิด และหยดน้ำมันในเซลล์กำเนิดเรณูของเทียนนางคาร์ อาจมีประโยชน์ในแง่สมุนไพร ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไป การจับคู่โครโมโซมไม่เพียงแต่จะเป็นประโยชน์ในการศึกษาจำนวนโครโมโซม แต่เป็นประโยชน์ในการระบุความสัมพันธ์ และ ปริมาณผลผลิตที่เป็นผล เมล็ด และการสืบทอดลูกหลานต่อไปของพืชชนิดนั้น การเป็นลูกผสมหรือเป็นพืชที่เกิดในธรรมชาติ ซึ่งสามารถนำข้อมูลนี้ไปใช้ในการอนุรักษ์และบริหารจัดการทรัพยากรพืชได้ พืชทุกชนิดที่นำมาศึกษา ยกเว้นปุดเดือน มีการจับคู่กันเป็นไบวาเลนต์ แสดงว่าพืชทุกชนิดมีความสมบูรณ์พันธุ์ ที่จะสืบทอดสายพันธุ์สู่ลูกหลานต่อไปได้เป็นอย่างดี และมีผลผลิตเป็นเมล็ดและผลจำนวนมากอย่างสมบูรณ์ ทุกชนิดที่นำมาศึกษาเป็นพืชพืชถิ่นเดียว พืชหายาก และ/หรือพืชใกล้สูญพันธุ์เนื่องจากมีถิ่นที่อยู่และกระจายตัวอยู่ในบริเวณที่จำกัด และมีการผสมพันธุ์ในเชื้อสายเดียวกัน ซึ่งถ้าหากมีการขยาย อนุรักษ์ และปรับปรุงพันธุ์กรรมจะทำให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างยั่งยืน จำนวนและ/หรือรูปร่างลักษณะโครโมโซมของพืชแต่ละชนิดมีความจำเพาะเป็นเอกลักษณ์เซลล์พืช ซึ่งเป็นข้อมูลพันธุ์กรรมที่มีประโยชน์ในการ ปกป้อง และระบุพันธุ์ การวิเคราะห์โมม การปรับปรุงสายพันธุ์ หาสายสัมพันธ์ของพืช ดูภาวะการณสูญพันธุ์ และการอนุรักษ์พันธุ์ของพืชดังกล่าว ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการจัดการและวางนโยบายการพัฒนาการใช้ทรัพยากร และสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน

คำสำคัญ: โครโมโซม, พืชถิ่นเดียว, พืชสมุนไพร, พืชหายาก, พืชใกล้สูญพันธุ์

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ (Abstract)

Medicinal endemic rare and threatened plants are attractive to both local and foreign collector. Over collection from natural resources and global climate change and also deforestation for road development and land use demands are causing the extinction of some species and loss of genetic diversity, intensive study and conservation of available species are needed for sustainable use and resource management. This research project aims to study cytogenetic Identification of medicinal endemic rare and threatened plants of 5 species from 4 Families in Thailand. Those are *Buchanania siamensis* Miq. (ANACARDIACEAE), *Impatiens kerriae* Craib (BALSAMINACEAE), *Bauhinia strychnifolia* Craib (LEGUMINOSAE), *Hedychium longicornutum* Griff. ex Baker and *Kaempferia larsenii* Sirirugsa (ZINGIBERACEAE). Plant materials of each species used in this study were from living plants collection from wild habitats in various parts of Thailand. Chromosome preparations were made from young root of seedling or young shoot or buds for mitotic analysis and young inflorescences for meiotic figures. The mitotic chromosomes were prepared by Feulgen squash and/or protoplast dropping method. Meiotic chromosomes were prepared using aceto-carmines smear technique. The chromosomes have been examined under 1,000 x magnifications in Olympus BX50 light microscope. Well spread mitotic metaphases and various stages of meiotic pairing were photographed. The results reveal that cytogenetic based identification as meiotic figure of 4 species and chromosome number of 3 species are

reported for the first time: *Bu. siamensis* Miq. (11II: $2n=22$), *I. kerriae* Craib (18II: $2n=36$), *B. strychnifolia* Craib (13II: $2n=26$) and *k. larsenii* Sirirugsa (11II). On the other hand; *H. longicornutum* and *K. larsenii* Sirirugsa have $2n = 34$ and $2n = 22$ respectively which resemble to those of previous study. It was not found chromosomal variation in a species from geographic difference. Chromosome pairing and chromosome number of *Bu. siamensis* and *K. larsenii* Sirirugsa are similar as 11II and $2n=22$ but their sizes are different. Moreover, calcium oxalate crystals of druse and raphide are found in pollen mother cell of *Bu. siamensis* and *I. kerriae*, respectively. A large amount of oil droplet is also commonly in microsporocyte of *I. kerriae*. Crystals and oil droplet are cellular identification of these two species. More interesting is that oil droplet may be bioactive compound which need further study. Meiotic figures are not only useful for chromosome number investigation but also for fertility, fruit, seed and progeny productions, hybrid or wild species indication which will be supported to conservation strategy and plant resource management. Almost species studied except *H. longicornutum* show chromosome pairing in bivalent. These indicate that *B. strychnifolia*, *Bu. siamensis*, *I. kerriae* and *K. larsenii* are wild species with high fertility and productivity. They are endemic rare and/or threatened species according to their habitats which may particularly narrow ecological niches, small distributional ranges and also close inbreeding. Hence plant propagation conservation and improvement are needed for sustainable use. Chromosome number and meiotic figure of each species are used as cell identification which is very useful for plant species protection and identification genome analysis plant improvement phylogeny and conservation. This will be practical for environmental policy and sustainable management of natural resources.

Key words: chromosome, endemic plant, medicinal plant, rare plant, threatend plant