

ชื่อโครงการ การพัฒนาพันธุ์พืชสมุนไพร

Development of Medicinal Plants

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมด้วยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2552 จำนวน 5,233,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 25 พฤษภาคม 2552 ถึง 25 พฤษภาคม 2553

ชื่อผู้วิจัย	ผศ.ดร.วิเชียร กิรตินิจกาล	นางสาวกุหลาบ เหล่าสาธิต
	นางสาวโสภิตา ชิดชื่นเชย	นายชัยมงคล ตะนะสอน
	นางสาวอารีย์รัตน์ ขุนภิบาล	นางสาวเมทินี กัดมูข
	นางสาวจูนิตา บุญสร้างสม	นางสาวอุดมลักษณ์ สุขอัครตะ
	นายวัฒนา อาจวิชัย	

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสมุนไพรสองชนิดคือ ไพล และว่านชักมดลูก เนื่องจากพืชทั้งสองชนิดนี้จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ซึ่งยังมีความสับสนในการจัดจำแนกชนิด และสายพันธุ์อยู่มาก คณะผู้วิจัยได้ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดเอเอฟแอลพีในการจำแนกสมุนไพรดังกล่าว โดยโครงการวิจัยแบ่งเป็น 2 โครงการย่อยคือ โครงการย่อยที่ 1 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไพลในประเทศไทย และโครงการย่อยที่ 2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของว่านชักมดลูกในประเทศไทย จากผลการวิจัยพบว่าเทคนิคเอเอฟแอลพีเป็นเทคนิคที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ไพลและว่านชักมดลูกได้เป็นอย่างดี และพบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการจำแนกโดยแผนภูมิทางพันธุกรรม มีความสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการ

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไพลในประเทศไทย

โครงการนี้ประกอบด้วยงานวิจัยย่อย 3 ส่วน คือ (1) ศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันไพลที่เหมาะสม (2) การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจำแนกสายพันธุ์ไพลโดยใช้เทคนิคเอเอฟแอลพี และ (3) การคัดเลือกสายพันธุ์ไพลที่ให้ผลผลิตสูงและน้ำมันมีคุณภาพดี

การทดลองส่วนแรกคือการศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยไพลที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบวิธีการสกัด 2 วิธีคือการการกลั่นด้วยน้ำ และการสกัดเย็นด้วยเฮกเซน ผลการทดลองพบว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยไพลมากกว่าวิธีการสกัดเย็นด้วยเฮกเซน อีกทั้งลักษณะทางกายภาพของน้ำมันที่ได้ และองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมีค่าใกล้เคียงมาตรฐานที่กำหนดมากกว่า คณะผู้วิจัยจึงเลือกใช้วิธีการกลั่นด้วยน้ำในการสกัดน้ำมันไพลในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่อไป

ส่วนที่สองคือการทดลองเพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและจำแนกสายพันธุ์ไพลโดยใช้เทคนิค เอเอฟแอลพี โดยตัวอย่างในการทดลองแบ่งออกเป็นสองกลุ่มคือ ไพลกลุ่มที่ 1 ที่มีอายุ 32 เดือน มีจำนวนทั้งสิ้น 21 ตัวอย่าง ตัวอย่างกลุ่มนี้สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ทันที และไพลกลุ่มที่ 2 จำนวนทั้งสิ้น 132 ตัวอย่าง เป็นกลุ่มที่เริ่มปลูกในปี 2552 จากผลการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอพบว่าไพลกลุ่มที่ 1 สามารถจำแนกได้เป็น 6 กลุ่มสายพันธุ์ และตัวอย่างไพลกลุ่มที่ 2 สามารถจำแนกได้เป็น 49 กลุ่มสายพันธุ์ ซึ่งผลการแบ่งกลุ่มโดยใช้ข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ มีความสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการ เช่น ลักษณะริ้วบนแผ่นใบ รูปร่างของช่อดอก และลักษณะสีที่ปรากฏบริเวณปลายกลีบประดับของช่อดอก ทั้งนี้ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมในด้านลักษณะสัณฐานวิทยา ผลผลิต ไชวม ปริมาณน้ำมันหอมระเหย แล้วนำข้อมูลที่นำมาพิจารณาร่วมกับผลการจำแนกกลุ่มโดยใช้ข้อมูลทางพันธุกรรม เพื่อให้สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีที่สุดให้ผลผลิตสูง มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยและองค์ประกอบทางเคมีที่ตรงตามมาตรฐานต่อไป

ส่วนสุดท้ายคือการคัดเลือกไพลสายพันธุ์ดี เมื่อพิจารณาผลผลิตปริมาณน้ำมันหอมระเหยเฉลี่ยต่อกอในตัวอย่างไพลกลุ่มที่ 1 พบว่ากลุ่มสายพันธุ์ที่ 5 เป็นกลุ่มสายพันธุ์ที่มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยเฉลี่ยต่อกอมากที่สุดเท่ากับ 88.1 มิลลิกรัม รองลงมาคือกลุ่มสายพันธุ์ที่ 1 มีค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำมันหอมระเหยต่อกอเท่ากับ 63.3 มิลลิกรัม คณะผู้วิจัยมีความเห็นว่าสายพันธุ์ที่ 5 และสายพันธุ์ที่ 1 น่าจะเป็นสายพันธุ์ที่ดี แต่ทั้งนี้ควรทำการทดลองเพื่อปลูกทดสอบสายพันธุ์ดังกล่าวเพื่อยืนยันผลการวิจัยต่อไป

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของว่านชั้กมดลูกในประเทศไทย

โครงการย่อยนี้เป็นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของว่านชั้กมดลูกโดยใช้เครื่องหมายเอเอฟแอลพี จากการรวบรวมพันธุกรรมว่านชั้กมดลูกจากทุกภูมิภาคของประเทศไทย พบว่าสามารถรวบรวมว่านชั้กมดลูกได้ทั้งสิ้น 411 ตัวอย่าง คัดเลือกตัวอย่างที่มีลักษณะภายนอกแตกต่างกันจำนวน 60 ตัวอย่าง นำมาตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเอเอฟแอลพี เมื่อนำผลจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาวิเคราะห์การจัดกลุ่มแล้วสร้างแผนภูมิทางพันธุกรรม พบว่าสามารถจำแนกตัวอย่างจำนวน 60 ตัวอย่างได้เป็น 3 กลุ่ม โดยเป็นกลุ่มของว่านชั้กมดลูก 2 กลุ่ม และกลุ่มของพืชชนิดอื่นที่มีลักษณะคล้ายว่านชั้กมดลูก 1 กลุ่ม เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาาร่วมด้วย พบว่าสามารถระบุชนิดของตัวอย่างกลุ่มที่ 3 ได้เป็น *Curcuma comosa* ส่วนตัวอย่างว่านชั้กมดลูกกลุ่มที่ 1 และกลุ่มของพืชชนิดอื่นที่มีลักษณะคล้ายว่านชั้กมดลูกซึ่งถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 2 สามารถระบุชนิดได้เป็น *Curcuma* sp. จากข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอเอเอฟแอลพีพบว่าสามารถแบ่งตัวอย่างออกเป็นกลุ่มได้อย่างชัดเจน ซึ่งเมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าการแบ่งกลุ่มโดยใช้ข้อมูลจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอเอเอฟแอลพีมีความสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา

คำสำคัญ สมุนไพร ไพล ว่านชั้กมดลูก การสกัดน้ำมันหอมระเหย องค์ประกอบทางเคมี เครื่องหมายดีเอ็นเอ เอเอฟแอลพี ความหลากหลายทางพันธุกรรม

Abstract

This research project aims to evaluate the genetic diversity and to identify varieties of two medicinal herbs, Plai and Wan Chak Mod Loog. These herbs belong to Zingiberaceae family which the knowledge involving an identification of species and varieties is still unclear. In the present study, the AFLP marker was used for variety identification of those herbs. The study divided into two sub-project; (1) Genetic diversity of Plai (*Zingiber montanum* (Koen.) Theilade) in Thailand and (2) Genetic diversity of Wan Chak Mod loog (*Curcuma comosa* Roxb., *Curcuma latifolia* and *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) in Thailand.

Sub-project 1 Genetic Diversity of Plai (*Zingiber montanum* (Koen.) Theilade) in Thailand

Sub-project 1 is the study of genetic diversity of Plai in Thailand. This sub-project consists of three main experiments; (1) the study on volatile oil extraction methods; (2) the evaluation of genetic variation and the varieties identification of Plai using AFLP technique and (3) the selection of promising variety providing high volatile oil yield.

The first part is the experiment to find the appropriate method for Plai volatile oil extraction. The water distillation and hexane extraction methods were studied. The result indicated that water distillation showed high extraction efficiency in term of quantity, physical characteristics, and chemical compositions. We concluded that the best approach for volatile oil extraction from Plai rhizome was water distillation, which will be used in our further experiment.

The second part was performed to evaluate the genetic diversity and to identify Plai varieties using AFLP technique. This research was divided into two sub-experiments. The first sub-experiment was performed in Plai group 1 containing 21 samples, which were planted for 32 months, and the second sub-experiment was carried out in Plai group 2 containing 132 samples, which have been planted in 2009. The result showed that AFLP technique can be successfully applied to identify Plai varieties. The AFLP fingerprints revealed that Plai group 1 could be divided into six varieties and Plai group 2 could be divided into 49 varieties. These groupings were also relevant to some morphological differences of the phenotype such as white-stripe or yellow-strip leaf, inflorescence shapes and the height of pseudostem.

The last part, we investigated the volatile oil yields of Plai group 1 in order to select the promising variety. The result revealed that the fifth variety showed the highest average volatile oil yield per clump at 88.1 ml and the second average volatile oil yield was 63.3 ml found in the first variety. We recommended the fifth variety as a promising variety. We suggest that further experiment on yield test of those two varieties should be focused to confirm this result. The

morphological characteristics, rhizome yield and volatile oil yield of Plai group 2 should be also observed in next year when it matures enough to harvest rhizomes.

Sub-project 2 Genetic diversity of Wan Chak Mod Loog (*Curcuma comosa* Roxb., *Curcuma latifolia* and *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) in Thailand

This study was performed to assess genetic diversity and to identify varieties of Wan Chak Mod Loog using AFLP technique. In total, 411 accessions of *Curcuma* spp. were collected from cultivated sites throughout Thailand. Sixty samples which showed different phenotypes were selected and then subjected to AFLP fingerprinting. The result indicated that all 60 samples could be divided into three groups. Considering the morphological characteristics, the samples in group III could be assigned to *Curcuma comosa*, whereas samples in group I and related species samples which clustered in group II could be assigned to *Curcuma* sp. We found that the morphological characteristics and AFLP data could be used to accurately identify and classify all sixty samples.

Keywords: medicinal herb, *Zingiber montanum*, *Curcuma comosa*, volatile oil extraction, chemical composition, DNA marker, AFLP, genetic diversity