

บทคัดย่อ

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างผักพื้นบ้านจำนวน ๔ ชนิดได้แก่ ผักฮ้วน ผักเชียงดา ถั่วแปบ และเพกา ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน เพื่อนำมาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวเคมี โดยเก็บข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา พฤกษศาสตร์ และนิเวศวิทยา ขณะที่ตัวอย่างของใบและผลนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ และหาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ นอกจากนี้ยังนำสารสกัดของตัวอย่างใบและผลมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวเคมี ผลจากการวิจัยพบว่าผักทั้ง ๔ ชนิดนั้นเป็นพืชปลูกและเจริญเติบโตได้ในสภาพพื้นที่ทั่วไป ดังนั้นลักษณะนิเวศวิทยาแหล่งอาศัยของผักแต่ละชนิดไม่ได้มีความแตกต่างกัน ด้านลักษณะทางสัณฐานวิทยาและพฤกษศาสตร์พบว่า ผักฮ้วนแต่ละต้นพันธุ์มีลักษณะของต้น ลักษณะใบและดอกไม่แตกต่างกัน ส่วนผักเชียงดาก็มีลักษณะต้นและดอกไม่แตกต่างกัน ยกเว้นความแตกต่างในรูปทรงของใบที่มีทั้งใบใหญ่กว้างและใบรียาว สำหรับถั่วแปบมีลักษณะต้นและใบที่ไม่แตกต่างกัน ยกเว้นสีดอกที่พบมีทั้งสีขาวและสีม่วง อีกทั้งลักษณะผลมีรูปทรงและขนาดแตกต่างกัน ขณะที่เพกามีลักษณะต้น ใบและผลคล้ายกันแต่มีลักษณะดอกต่างกัน ด้านการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีรวมทั้งคุณค่าทางโภชนาการพบว่า ดอกของผักฮ้วนมีปริมาณโซเดียม แคลเซียม เหล็ก ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมสูงและยังประกอบด้วยวิตามินเอ วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และวิตามินบี๑ สำหรับผักถั่วแปบมีปริมาณโปรตีน แคลเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมสูงและประกอบด้วยวิตามินอี วิตามินบี๑ ขณะที่ผักเพกามีปริมาณโซเดียม แคลเซียม เหล็ก ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม วิตามินเอ วิตามินอี และเบต้าแคโรทีนสูง ส่วนปริมาณแอนติออกซิแดนซ์ทั้งหมดที่พบในดอก ผักฮ้วนและผักเพกาสูงกว่าผักถั่วแปบ สำหรับการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคไอเอสเอสอาร์พบว่า ผักฮ้วนจำนวน ๑๒ ต้นพันธุ์เมื่อวิเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ที่เหมาะสมจำนวน ๑๐ ชนิด มีเปอร์เซ็นต์โพลิมอร์ฟิซึมเท่ากับ ๖๔.๐๘ ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันอยู่ระหว่าง ๐.๖๗-๐.๘๑ และค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ ๐.๗๙๘๐๘ แสดงถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรผักฮ้วนอยู่ในระดับปานกลาง สำหรับผักเชียงดาจำนวน ๑๑ ต้นพันธุ์เมื่อวิเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ที่เหมาะสมจำนวน ๑๒ ชนิด พบว่าผักเชียงดามีเปอร์เซ็นต์โพลิมอร์ฟิซึมเท่ากับ ๖๖.๕๐ มีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันอยู่ระหว่าง ๐.๖๔-๐.๗๘ และค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ ๐.๘๒๑๒๔ แสดงให้เห็นว่ายังมีความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรผักเชียงดาแต่อยู่ในระดับปานกลาง ขณะที่ถั่วแปบจำนวน ๑๓ ต้นพันธุ์ที่วิเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ ๘ ชนิดพบว่า มีเปอร์เซ็นต์โพลิมอร์ฟิซึมเท่ากับ ๕๒.๐๐ มีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันอยู่ระหว่าง ๐.๗๓-๐.๘๘ และค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ

๐.๓๙๘๑๑ แสดงถึงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรถั่วแปบอยู่ในระดับปานกลางถึงค่อนข้างต่ำ ส่วนเพกาจำนวน ๔ ต้นพันธุ์ที่วิเคราะห์ด้วยไพร์เมอร์ ๑๑ ชนิดพบว่า มีเปอร์เซ็นต์โพลิมอร์ฟิซึมเท่ากับ ๕๑.๑๑ มีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันอยู่ระหว่าง ๐.๕๙-๐.๗๓ และค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ ๐.๘๗๔๗๘ แสดงถึงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรเพกาอยู่ระดับปานกลาง ผลการศึกษาสรุปว่าผักพื้นบ้านแต่ละชนิดมีความผันแปรทางพันธุกรรมแม้ว่าต้นพันธุ์ส่วนใหญ่มีลักษณะภายนอกที่คล้ายคลึงกัน โดยผักเชียงดา เพกา และผักฮ้วนมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่าถั่วแปบ

สำหรับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวเคมีของผักทั้งสามชนิดพบว่า สารสกัดหยาบจากการต้ม น้ำของผักถั่วแปบ แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทดสอบ HT-๒๙ และ สารสกัดด้วย methanol ของผักถั่วแปบ แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทดสอบ HL-๖๐ ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับในกลุ่มตัวอย่างพืชที่นำมาทำการทดสอบโดยมีค่า IC_{๕๐} = ๐.๕๓±๐.๒๓ และ ๐.๔๔±๐.๐๘ mg/ml ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากถั่วแปบด้วยการต้ม น้ำแสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์ HT-๒๙ ได้ดีกว่า Irinotecan ซึ่งเป็น positive control ถึง ๑.๐๔ เท่า ขณะที่สารสกัดหยาบจากถั่วแปบด้วย methanol แสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์ HL-๖๐ ได้ดีกว่า Doxorubicin ซึ่งเป็น positive control ๑.๔๓ เท่า ในขณะที่สารสกัดของผักที่นำมาทดสอบทุกชนิดไม่เป็นพิษเฉียบพลันต่อเซลล์ทดสอบ และจากการติดตามการเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์มะเร็งพบว่า สารสกัดทั้งสองแบบที่ความเข้มข้น ๒๐ mg/ml สามารถชักนำให้เซลล์มะเร็ง HT-๒๙ เกิด morphological changes ได้ภายใน ๔ ชั่วโมง โดยพบว่า เซลล์มีการเกาะกันเป็นก้อนและ nuclei มีการหดตัวรวมเป็นก้อนอย่างชัดเจนภายในเวลา ๔๘ ชั่วโมง และพบเซลล์ในลักษณะ single large vesicle ได้ภายในเวลา ๗๒ ชั่วโมง นอกจากนี้พบว่า มีเพียงสารสกัดหยาบจากผักถั่วแปบต้ม น้ำที่ความเข้มข้น ๒๐ mg/ml เท่านั้นที่สามารถชักนำให้เซลล์มะเร็ง HT-๒๙ เกิด DNA fragmentation ได้ที่เวลา ๒๔ ชั่วโมง ขณะที่สารสกัดหยาบจากใบถั่วแปบต้ม น้ำ ที่ความเข้มข้น ๒๐ mg/ml แสดงฤทธิ์ชักนำให้เซลล์มะเร็ง HL-๖๐ เข้าสู่กระบวนการ apoptosis โดยสามารถตรวจพบ DNA fragmentation ได้ภายในเวลา ๗ วัน สำหรับสารสกัดหยาบจากผักชนิดอื่นแสดงให้เห็นฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและฤทธิ์ชักนำให้เซลล์เกิด apoptosis ได้แตกต่างกัน ซึ่งควรจะมีการศึกษาเพิ่มเติมให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ เพื่อพัฒนาและใช้ประโยชน์จากผักพื้นบ้านสำหรับเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป

Abstract

Survey and sampling of four indigenous vegetables; *Dregea volubilis* Stapf., *Gymnema inodorum* Dence., *Dolichos lablab* Linn. and *Oroxylum indicum* (L.) Vent. in the upper north of Thailand. Collected plant samples were used for genetic diversity assessment and biochemical activities tests. Morphological, botanical characters and ecological included nutritional value were also studied. The leaf samples were analyzed for DNA fingerprinting to determine their genetic diversity. Moreover, the vegetable extracts were used for testing the biochemical effects. The results revealed that four indigenous vegetables were cultivated plants which grow easily in every area. The ecology and habitat of the accessions in each species were similar. The morphological and botanical characters of *Dregea volubilis* accessions such as stems and leaves characters were similar. While the *Gymnema inodorum* accessions were similar in stem, flower but leaves were different in shape, blade and long. For the accessions of *Dolichos lablab*, there were similar in stems and leaves but flowers were white and purple. Fruits were different forms of shape and size. While *Oroxylum indicum* accessions were similar in stems, leaves and fruits but flowers were different in size and color. For the nutritional value of vegetables, three plants were analyzed. The results found that young flowers of *Dregea volubilis* were high in sodium, calcium, iron, phosphorus potassium and it also composted of vitamin A, E, B1 and beta carotene. While *Dolichos lablab*'s fruits (pods) were high in protein, calcium, phosphorus, potassium and composted of vitamin E and B1. For the fruits (pods) of *Oroxylum indicum* were high in sodium, calcium, iron, phosphorus potassium, vitamin A, E, and beta carotene. The total antioxidant was high in *Dregea volubilis* and *Oroxylum indicum* while *Dolichos lablab* was low. For DNA fingerprinting analysis, ISSR technique was used to identify four indigenous vegetables. The result revealed that 12 accessions of *Dregea volubilis* Stapf. were analyzed by 10 primers, 64.08 % were polymorphic bands. The similarity coefficient was ranged from 0.67-0.81 and the cophenetic correlation was 0.79808, which indicated that medium levels of genetic variation in the populations. For *Gymnema inodorum* Dence., 11 accessions were analyzed by twelve primers, 66.50% were polymorphic bands. The similarity coefficient was ranged from 0.64-0.78 and the cophenetic correlation was 0.82124 which indicated that medium level of the genetic diversity in the populations. While 13 accessions of *Dolichos lablab* Linn. were analyzed by 8 primers, 52.00 % were polymorphic bands. The similarity coefficient was ranged from 0.73-0.88 and the cophenetic correlation was 0.79811.

The level of genetic diversity in the populations was medium to relatively low. The last plant, 4 accessions of *Oroxylum indicum* were analyzed by eleven primers, 51.11 % were polymorphic bands. The similarity coefficient was ranged from 0.59-0.73 and the cophenetic correlation was 0.87478 which indicated that the level of genetic diversity in the populations was also medium. This analysis was concluded that four vegetable species collected from different areas showed genetic variation despite their similar appearance. However, *Dregea volubilis*, *Oroxylum indicum* and *Gymnema inodorum* were high level of genetic diversity than *Dolichos lablab*.

For the biochemical activities tests, the extracts of *Dolichos lablab* pods showed the highest anti-proliferation activities (IC₅₀ = 0.53±0.23 mg/ml, 1.04 times stronger than Irinotecan] and IC₅₀ = 0.44±0.08 mg/ml, 1.43 times stronger than Doxorubicin]) according to the hot water extracts treated to HT-29 and the methanolic extracts treated to HL-60, respectively. The others plant extracts were not showed acute cytotoxicity. The concentration at 20 mg/ml of the hot water and the methanolic extracts of *Dolichos lablab* pods induced morphological changes, single large vesicle (within 72 hours) and clumping (within 4 hours). DNA fragmentation was induced by the concentration at 20 mg/ml of hot water extract of *Dolichos lablab* pods, not the methanolic extract, within 24 hours in HT-29 and within 7 days in HL-60. The results from this study can be applied for the development and use of the indigenous vegetables for pharmaceutical or nutraceutical products.