

**Thesis Title** Characteristics and Varietal Phylogenetics of *Peliosanthes tetra* Andr., *Basella alba* L. and *Gymnema inodorum* Decne. Collected from Some Areas in the Upper-North of Thailand

**Author** Mr. Phichai Chaikla

**Degree** Doctor of Philosophy (Horticulture)

**Thesis Advisory Committee**

Lect. Dr. Chuntana Suwanthada	Advisor
Assoc. Prof. Dr. Chusie Trisonthi	Co-advisor
Asst. Prof. Dr. Prasit Noree	Co-advisor
Lect. Dr. Siwaporn Thumdee	Co-advisor

**ABSTRACT**

Local and indigenous vegetables have gained increasing attraction among the towners these days when cultivation of such vegetables is restricted to the rural communities. Apart from this, exploitation of some indigenous plants from their natural habitats is still at large. Attempts have been made in conserving genetic resources of these plants through surveying, collecting, growing and maintaining the plants while sustainable utilization has been publicly campaigned. Being part of this plant genetic resources conservation, this research was organised accordingly. Surveys and collections of three local vegetables, i.e. Nang Laeo (*Peliosanthes tetra* Andr.), Phak Plang (*Basella alba* L.) and Chiang Da (*Gymnema inodorum* Decne.), were hence conducted, covering some areas of eight provinces of the Upper-North of the country. Studies on characterizations of the plants were consequently carried out.

Surveys and collections of the plants were done in the provinces of Chiang Mai, Chiang Rai, Lampang, Lamphun, Mae Hong Son, Nan, Phayao and Phrae. Accessions of the plants collected were 349 in number, being 72, 172 and 105 of Nang Laeo, Phak

Plang and Chiang Da, respectively. They were gathered from 120 villages of 48 districts. From interviews made to the locals, the plants were grown in the homestead among other vegetables, mainly for household consumption. Surplus was sold in local market, but only in very small quantity. The plant parts used as food was young inflorescences in Nang Laeo, young shoots and young inflorescences in Phak Plang and young shoots in Chiang Da.

Growth studies showed that Nang Laeo was herbaceous perennial in nature. It grew all year round, producing inflorescence seasonally around April to May. Phak Plang was an annual, flowered in September while Chiang Da was perennial, bloomed during May to June.

Characteristics of the three plant species were evaluated from collected samples grown in cultivation plots. Morphological characterization revealed different types of the plants, Nang Laeo of rhizomatous, Phak Plang of climber and Chiang Da of lianous. Characteristics of the three species were described in details. Evaluation of leaf characters of individual species using UPGMA cluster analysis carried out among collected samples could classified those of Nang Laeo, Phak Plang and Chiang Da into 4, 3 and 3 groups at the coefficient indices of 63%-76%, 55%-70% and 47%-76%, respectively, according to their relatedness.

Examination of pollen morphology showed that the pollen of Nang Laeo appeared as ellipsoidal monad. Pollen aperture was monosulcate with the exine of regulate type. Phak Plang's pollen appeared in cuboidal monad of 6-colpate aperture and reticulated exine while the pollen of Chiang Da was in form of pollinia, waxy and yellow in colour.

Anatomical studies of the plants from longitudinal and transverse sections of root, stem, leaf and flower sampled from mature plants clearly expressed that different organs of the plants comprised three tissue systems of dermal, ground and vascular. Samples of the same species obtained similar internal structure of the plant body but differences could be figured from details of the form, shape and density of cells in each

tissue system. In individual species specific characters were observed, obviously from patterns of inorganic accumulation in certain cell types appearing in particular areas.

Karyotypic studies yielded appropriate technique of root tip tissue preparation for chromosome investigation. The protocol was as follows: root sampling at 10.00 a.m., pre-treating in PDB at 10°C for 6, 8 and 2 hours for Nang Laeo, Phak Plang and Chiang Da, respectively, fixing in Carnoy's solution for 5 minutes, macerating in 1 N HCl for 5 minutes and staining in carbol fuchsin for 6, 4 and 8 hours, respectively. Chromosome counts showed that the chromosome number of Nang Laeo was  $2n = 54$ , Phak Plang Khao was  $2n = 38$ , Phak Plang Daeng was  $2n = 44$  and Chiang Da was  $2n = 22$ . Karyotype formulae evaluating from the size and configurations of the chromosomes were different, according to plant species and representative samples.

Isozyme patterning studied from polyacrylamide gel electrophoresis using the enzyme systems of acid phosphatase, esterase, glucose dehydrogenase, glutamate oxaloacetate transaminase, leucine aminopeptidase, malate dehydrogenase, peroxidase and shikimate dehydrogenase expressed different band patternings enabled classification of the samples from their relatedness evaluated by using NTSYSpc programme version 2.21i.

This research provides valuable information for conservation of Nang Laeo, Phak Plang and Chiang Da. Practical techniques and evaluations gathered from the studies can be used as the prototypes for further studies.

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์**

ลักษณะและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในระดับพันธุของ  
ผักนางแลว ผักปลั่ง และผักเชียงดาที่รวบรวมจากบางพื้นที่  
ในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย

**ผู้เขียน**

นายพิชัย ใจกล้า

**ปริญญา**

วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (พืชสวน)

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์**

อาจารย์ ดร. ฉันทนา สุวรรณธาดา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

รองศาสตราจารย์ ดร. ชุทธิ ไตรสนธิ

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประสิทธิ์ โนรี

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

อาจารย์ ดร. ศิวพร ธรรมดี

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

**บทคัดย่อ**

ความนิยมบริโภคผักพื้นบ้านและผักพื้นเมืองเริ่มมีมากขึ้นในสังคมเมืองในปัจจุบัน ในขณะที่การเพาะปลูกพืชผักเหล่านี้ยังคงจำกัดอยู่เพียงในชนบท และการเก็บเกี่ยวพืชบางอย่างมาใช้ประโยชน์ยังคงเป็นการนำออกไปจากป่า ความพยายามในการรักษาพันธุกรรมพืชผักเหล่านี้จึงเป็นการสำรวจ รวบรวม และนำไปปลูกรักษา รวมทั้งการณรงค์ให้มีการใช้ประโยชน์ต้นพืชอย่างยั่งยืน การวิจัยครั้งนี้เป็นส่วนหนึ่งของความพยายามดังกล่าว โดยดำเนินการสำรวจและรวบรวมพันธุกรรมผักพื้นบ้าน 3 ชนิด ได้แก่ นางแลว ผักปลั่ง และเชียงดา จากบางพื้นที่ใน 8 จังหวัดของภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย และศึกษาพันธุกรรมของพืชเหล่านั้น

การสำรวจและรวบรวมพันธุ์ดำเนินการในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แม่ฮ่องสอน น่าน พะเยา และแพร่ ตัวอย่างที่แตกต่างกันของพืชที่เก็บรวบรวมได้มี 349 ตัวอย่าง เป็นนางแลว 72 ตัวอย่าง ผักปลั่ง 172 ตัวอย่าง และเชียงดา 105 ตัวอย่าง จากพื้นที่ปลูกเลี้ยงใน 120 หมู่บ้าน ของ 48 อำเภอ จากการสำรวจพบว่า พืชผักเหล่านี้มีปลูกไว้ในสวนหลังบ้านร่วมกับผักชนิดอื่นเพื่อใช้บริโภคภายในครอบครัวเป็นส่วนใหญ่ มีการนำไปจำหน่ายในตลาดท้องถิ่นอยู่บ้าง แต่ไม่มากนัก วิธีการ

บริโภคนั้นมีการใช้ดอกอ่อนของนางแลว ยอดอ่อนและดอกอ่อนของฝักปลั่ง และยอดอ่อนของเชียงคามาเป็นอาหาร

การศึกษาการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 3 ชนิด พบว่า นางแลวเป็นพืชหลายปีที่ไม่มีเนื้อไม้ มีการเจริญเติบโตทางใบตลอดปี และออกดอกในช่วงเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม ฝักปลั่งเป็นพืชฤดูเดียว ออกดอกในช่วงเดือนกันยายน ส่วนเชียงคายเป็นพืชหลายปี ออกดอกในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายน

การศึกษาลักษณะของพืชทั้ง 3 ชนิดเป็นการศึกษาจากตัวอย่างที่แตกต่างกันที่ได้รวบรวมมาปลูกไว้ในแปลงรวบรวมพันธุ์ โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยา เซลล์พันธุศาสตร์ และรูปแบบไอโซไซม์ สำหรับผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า นางแลวมีลำต้นเป็นเหง้า ใบเป็นใบเดี่ยว แบบพับจีบ ใบรูปใบหอกแกมรูปไข่กลับถึงรูปใบหอกแกมรูปไข่ ช่อดอกแบบกระจะ ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีสีขาวย และมีสีม่วงที่ปลายกลีบ ผลเป็นแบบผลเมล็ดเดี่ยวแข็ง มีสีน้ำเงิน ฝักปลั่งแยกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ ฝักปลั่งขาวและฝักปลั่งแดง ฝักปลั่งมีลำต้นอวบน้ำ มีเมือก ลำต้นของฝักปลั่งขาวเป็นสีเขียว ลำต้นของฝักปลั่งแดงเป็นสีแดง ใบเป็นใบเดี่ยว ใบรูปไข่ถึงรูปรี ช่อดอกมี 2 แบบ คือ ช่อเชิงลดและช่อแยกแขนง ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ กลีบรวมมีสีขาวย ปลายกลีบมีสีชมพูหรือม่วง ผลเป็นผลเดี่ยว มีสีม่วงถึงดำ เมล็ดสีน้ำตาลอ่อน เชียงคามีลำต้นเป็นไม้เถาเลื้อย ใบเป็นใบเดี่ยว รูปใบหอกถึงไข่กลับ ช่อดอกแบบซี่ร่ม ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ดอกมีสีเหลือง ผลเป็นผลแบบแตกแนวเดียว เมล็ดลึบแบน มีกระจุกคล้ายเส้นไหมที่ส่วนปลาย เมื่อนำลักษณะของใบมาประเมินค่าความสัมพันธ์โดยใช้ค่าแบบ UPGMA cluster จากกลุ่มประชากรของพืชแต่ละชนิด พบว่า ค่าความสัมพันธ์ที่ 63%-76% สามารถแบ่งประชากรนางแลวออกได้ 4 กลุ่ม ค่าความสัมพันธ์ที่ 55%-70% สามารถแบ่งประชากรของฝักปลั่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม และค่าความสัมพันธ์ที่ 47%-76% แบ่งประชากรของเชียงคาก่อนได้เป็น 3 กลุ่ม

การศึกษาลักษณะของเรณู พบว่าเรณูของนางแลวมีลักษณะเป็นเรณูเดี่ยว รูปทรงรี มีสมมาตร มีช่องเปิด 1 ช่อง ผิวเรณูมีลักษณะแบบรอยนูนเป็นสัน เรณูของฝักปลั่งเป็นเรณูเดี่ยว รูปลูกบาศก์ มีช่องเปิด 6 ช่อง ผิวเป็นลายตาข่าย และเรณูของเชียงคายเป็นเรณูแบบหลอมรวมติดกัน มีสีเหลืองอ่อน ลักษณะคล้ายขี้ผึ้ง

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของพืช 3 ชนิดศึกษาจากเนื้อเยื่อตัดตามยาวและตัดตามขวางของ ราก ลำต้น ใบ และดอกของต้นพืชที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ พบว่า เนื้อเยื่อของอวัยวะต่าง ๆ ของพืชทั้งสามมีระบบเนื้อเยื่อผิว เนื้อเยื่อพื้น และเนื้อเยื่อลำเลียงที่เห็นลักษณะได้ชัดเจน พืชชนิดเดียวกันมีองค์ประกอบของเนื้อเยื่อระบบต่าง ๆ คล้ายคลึงกัน แต่มีความแตกต่างในรายละเอียดของรูปร่าง ลักษณะ และขนาดและปริมาณของเซลล์ที่ประกอบกันขึ้นมาเป็นเนื้อเยื่อแต่ละระบบ ในพืชแต่ละชนิดมีลักษณะจำเพาะของชนิด ซึ่งสามารถระบุได้จากรูปแบบของการสะสมสารอินทรีย์ในเซลล์ที่อยู่บริเวณต่าง ๆ

การศึกษาลักษณะในรูปแบบของแคโรโอไทป์พบเทคนิคที่เหมาะสมในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากของพืชทั้ง 3 ชนิดเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม คือ เก็บตัวอย่างปลายรากเวลา 10.00 น. หยดวงซีพเซลล์ในสารละลาย PDB ที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 6, 8 และ 2 ชั่วโมง สำหรับนางแลว ผักปลัง และเชียงดา ตามลำดับ รักษาสภาพเซลล์ในน้ำยานาน 5 นาที ย่อยแยกเซลล์ใน HCl 1 N นาน 5 นาที ย้อมสีด้วย carbol fuchsin นาน 6, 4 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ การตรวจนับจำนวนโครโมโซม พบว่านางแลวมีจำนวนโครโมโซม  $2n = 54$  ผักปลังขาวมีจำนวนโครโมโซม  $2n = 38$  ผักปลังแดงมีจำนวนโครโมโซม  $2n = 44$  และเชียงดามีจำนวนโครโมโซม  $2n = 22$  สูตรแคโรโอไทป์ที่ประเมินได้จากขนาดและรูปร่างของโครโมโซมแตกต่างกันไปตามชนิดของพืชและตามตัวอย่างที่แตกต่างกันซึ่งนำมาเป็นตัวแทน

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์โดยใช้เทคนิคโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส ซึ่งใช้ระบบเอนไซม์ acid phosphatase, esterase, glucose dehydrogenase, glutamate oxaloacetate transminase, leucine aminopeptidase, malate dehydrogenase, peroxidase และ shikimate dehydrogenase พบว่าเกิดแถบสีที่แตกต่างกัน สามารถใช้แยกกลุ่มของพืชแต่ละชนิดได้ชัดเจนตามความคล้ายคลึงกันของประชากร โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc version 2.21i

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการอนุรักษ์พันธุกรรมนางแลว ผักปลัง และเชียงดา และได้วิธีการและเทคนิคในการศึกษาลักษณะแบบต่าง ๆ ซึ่งสามารถนำไปเป็นเทคนิคต้นแบบได้เมื่อจะมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป