

การศึกษาเบื้องต้นลักษณะทางพันธุกรรม สัณฐานวิทยา และพฤกษเคมีของสัตถุณี

Preliminary Study of Genetic, Morphology and Phytochemistry of *Paris polyphylla* Sm.

สุพัฒน์กิจ โพธิ์สว่าง^{1*} พัชราวดี ขุนไกร¹ เกษม ทองขาว¹ ลัดดาวัลย์ อินทร์สังข์²
ปิยรัษฎ์ ปริญญาพงษ์ เจริญทรัพย์³ วินัย แสงแก้ว⁴ และ สายชล โนสุวรรณ¹

Supattanakij Posawang^{1*} Pattawadee Khunkrai¹ Kaseam Tongkhaw¹ Laddawan
Insung² Piyarat Parinyapong Chareonsap³ Winai Sangkaew⁴ and Saichon Nosuwan¹

¹ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ 313 หมู่ 12 ตำบลหนองควาย อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ 50230

¹ Royal Agricultural Research Center, Chiang Mai 313 Moo 12, Nong Khwai Sub-district, Hang Dong District, Chiang Mai 50230

² สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

² Horticulture Research Institute Department of Agriculture, Bangkok 50 Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900

³ สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) เชียงใหม่ 50300

³ Plant Genetic Conservation Project Under The Royai Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn, Chiang Mai 50300

⁴ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

⁴ Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290

* Corresponding author: weerapon99@hotmail.com

Abstract

Paris polyphylla Sm. is perennial herb with rhizome. The stem is 0.5-1.0 m above ground. Leaves are found in a whorl of 5 to 10 leaves with broadly oval shape and parallel edge. Petiole is brown. Solitary flower, with 4-6 green bracts. Fruit is capsule and round shape with smooth surface. Seeds are red with orange. Plants are distributed in highland about 900-1,900 meters above sea level. Generally, plants grow in late summer-late rainy season and break dormant to summer. The utilization of plants is tonic medication,

healing wounds and bruise. At present, *Paris polyphylla* Sm. is risk of extinction due to slow growth and excessive harvesting. The main ingredients of this plant in saponins and polyphenol. This preliminary study was conducted for plant samples from 10 locations of Chiangmai (Doisaket), Samoeng, Mae Wang (Khun Wang), Mae Chaem (Mae Jon Luang), Chiang Dao, Chom Thong (Khun Taeand Mae Dad), Chiang Rai (Wiang Pa Paoand Pang Khon) and Nan (Mae Charim) which classified into 7 sample sites as Doisaket (S1), Samoeng (S2), Mae Chaem (S3), Mae Wang (S4), Wiang Pa Pao (S5), Chiang Dao (S6) and Mae Charim (S7) which were genetically different. After classified by Agglomerative hierarchical clustering (AHC), all samples were separated into 3 groups as follow: group 1 composed of S1 (Doisaket), S2 (Samoeng), S5 (Wiang Pa Pao), and S6 (Chiang Dao), group 2 composed of S3 (Mae Chaem) and S4 (Mae Wang) and group 3 was S7 (Mae Charim). For phytochemical study, it was found that sample from Wiang Pa Pao (S5) showed the highest total phenolic compounds of (0.009 mg/gDW). Sample from Samoeng (S2) showed the highest antioxidant capacity (23.63±0.03 %) and sample from Mae Chaem (S3) showed the highest total saponins substance (32.26±0.65 mg/gDW.).

Keywords: *Paris polyphylla* Sm., saponins, antioxidant, phenolic compounds

บทคัดย่อ

สัตถุณีเป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี มีลำต้นเหนือดินสูง 0.5-1.0 เมตร มีเหง้าอยู่ใต้ดิน ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเวียนรอบข้อ รูปรีแกมรูปขอบขนาน ฐานใบมน ปลายใบแหลม พบ 5-10 ใบ/ต้น ก้านใบสีน้ำตาล ดอกเดี่ยวออกที่ปลายยอด มีใบประดับ 4-6 ใบใต้ฐานรองดอก ผลแบบแคปซูลทรงกลม ผิวเรียบ เมล็ดสีแดงอมส้ม พบกระจายตัวบนพื้นที่สูงประมาณ 900-1,900 เมตร เจริญเติบโตในช่วงปลายฤดูร้อน-ปลายฤดูฝน พักตัวในฤดูหนาว-ฤดูร้อน มีการนำมาใช้ประโยชน์ด้านยาบำรุงกำลัง สมานแผล รักษาอาการไข้ ในปัจจุบันอยู่ในภาวะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์เนื่องจากการเก็บจากป่าจำนวนมาก กลุ่มสารสำคัญที่พบคือ สารซาโปนินและสารกลุ่มฟีนอล จากการสำรวจพบสัตถุณีจำนวน 10 พื้นที่ในภาคเหนือตอนบน คือ จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอดอยสะเก็ด อำเภอสะเมิง อำเภอแม่ว่าง (ขุนวาง) อำเภอแม่แจ่ม (แม่จอนหลวง) อำเภอเชียงดาว อำเภอจอมทอง (บ้านขุนแตะ และบ้านแม่แดด) จังหวัดเชียงราย อำเภอเวียงป่าเป้า (บ้านขุนแม่ลาว) อำเภอเมือง (บ้านปางขอน) และจังหวัดน่าน (อำเภอแม่จริม) จากผลวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสัตถุณีพบว่าตัวอย่างที่เก็บมาจาก 10 พื้นที่จำแนกได้เป็น 7 กลุ่ม ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมได้แก่ ดอยสะเก็ด (S1) สะเมิง (S2) แม่แจ่ม (S3) แม่ว่าง (S4) เวียงป่าเป้า (S5) เชียงดาว (S6) และ แม่จริม (S7) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแบบ Agglomerative hierarchical clustering (AHC) สามารถแยกเป็น 3 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มที่หนึ่งได้แก่ กลุ่มตัวอย่างจาก ดอยสะเก็ด (S1)

สะเมิง (S2) เวียงป่าเป้า (S5) และ เชียงดาว (S6) กลุ่มที่สองได้แก่ กลุ่มตัวอย่างจาก แม่แจ่ม (S3) และ แม่วาง (S4) และกลุ่มที่สามได้แก่ กลุ่มตัวอย่างจาก แม่จริม (S7) จากการศึกษาวิเคราะห์สารสำคัญจากส่วน หัวใต้ดินพบว่า ตัวอย่างจากเวียงป่าเป้า (S5) มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ คือ 0.009 mg/gDW เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระพบว่า สัตถุพืชที่สำรวจจากอำเภอสะเมิง (S2) มีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ 23.63 ± 0.03 % และการวิเคราะห์ปริมาณ สารซาโปนินทั้งหมดพบว่า สัตถุพืชที่สำรวจจากอำเภอแม่แจ่ม (S3) มีปริมาณสารซาโปนินทั้งหมด มากที่สุด คือ 32.26 ± 0.65 mg/gDW

คำสำคัญ: สัตถุพืช ดินฮังตอย สารซาโปนินทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระ สารฟีนอลิก

คำนำ

สัตถุพืช (*Paris polyphylla* Sm.) ชื่อท้องถิ่น เล็บฮั่ง, ดินฮั่งตอย, ตัง (คนเมือง), ต่องลั้งจ้อ (ไทใหญ่) ยาประดงร้อยเอ็ด (ลัวะ) เล็บฮั่งเป็น พืชล้มลุก มีเหง้าอยู่ใต้ดิน ใบเดี่ยวออกเวียนรอบข้อ 5-9 ใบ รูปรีแกมรูปขอบขนาน โคนใบมนหรือสอบ ปลายใบแหลม ก้านใบสีน้ำตาล ดอกเดี่ยวมีเยื่อ เกสรเพศเมียสีเหลืองหรือสีส้ม มีใบประดับ 4-6 ใบ ร่องรับ ผลแบบแคปซูล ทรงกลม ผิวเรียบ เมล็ดมี เยื่อหุ้มอวบน้ำสีแดงอมส้ม ลำต้นใต้ดิน ขอบขึ้นตาม พื้นในป่าสนเขา ที่มีเรือนยอดโปร่ง ความสูงตั้งแต่ 1,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล (เกรียงไกรและคณะ, 2551) ลำต้นใต้ดิน กินสดหรือต้มต้มน้ำรักษา อาการบาดเจ็บ และเอาไปดองเหล้ากินเป็นยาบำรุง กำลัง (สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2544) ส่วน ของเหง้านิยมนำไปใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย ในประเทศต่างๆ เช่น เนปาลและจีน ในประเทศ เนปาลใช้เป็นยาอายุเสมหะ รักษาพิษไข้ พิษจาก อาหาร แก้วพิษงูกัด พิษแมลงกัด เป็นยาบรรเทา ผลกระทบจากยาเสพติด เคี้ยวรากรักษาแผลภายใน คอ รักษาบาดแผลภายนอก ใช้เป็นยาแก้ปวด

ต้มรากรักษาแผลคอตีบ โรคต่อมน้ำเหลือง ต่อม ทอนซิล คางทูม โรคเต้านมอักเสบ โรคไขข้อ บรรเทาผี ประเทศจีนใช้เป็นส่วนผสมหลักในยา รักษาตับ ท้อง จุก ปวดคอ และมะเร็งเต้านม (*Madhu et al.*, 2010) และใช้รักษาเนื้องอก ท้ามเลือด ต่อต้านการอักเสบ ลดอาการปวดบวม มะเร็งปอด และมะเร็งกล่องเสียง และเป็น ส่วนประกอบที่สำคัญของสิทธิบัตรยาจีน เช่น แคปซูล “Gongxuening” “JideshengSheyao” “BiyangqingduKeli” (*Wen et al.*, 2012; *Shah et al.*, 2012; *Qin et al.*, 2013) CNC-DIVERSITAS (2012) ได้รายงานสายพันธุ์ไว้ว่าพบ *Paris polyphylla* Sm. 12 สายพันธุ์ทั่วโลก *Qin et al.*, (2013) รายงานว่า *P. polyphylla* Sm. แบ่งออก ได้มากกว่า 10 สายพันธุ์ มี 2 สายพันธุ์ที่สำคัญ คือ *P. polyphylla* var. *chinensis* และ *P. polyphylla* var. *yunnanensis* ซึ่งมีเขตการกระจายพันธุ์ตั้งแต่ แถบหิมาลัยไปยังประเทศจีน ทิเบต เนปาล เทือกเขาหิมาลัย จีน ไต้หวัน พม่า ลาว และ เวียดนาม (*eMonocot*, 2011) และส่วนใหญ่อยู่ใน เขตภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และแถบ ตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศจีน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในมณฑลยูนนาน มณฑลเสฉวน และมณฑลกุ้ยโจว

(CNC-DIVERSITAS, 2012) ในไทยพบเฉพาะสายพันธุ์ *chinensis* พบเฉพาะทางภาคเหนือแถบจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แพร่ น่าน ขึ้นในป่าดิบเขา ระดับความสูง 900-1,900 เมตร ในต่างประเทศพบในระดับความสูงจนถึง 3,000 เมตร ทรัพยากรของสมุนไพรนี้มีปริมาณลดลงอย่างมาก การเจริญเติบโตของเหง้าช้ามาก สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังจากปลูกไปแล้วเมื่อมีอายุ 5-7 ปีขึ้นไป ในประเทศจีนเกิดปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบในช่วงปลายปี ค.ศ.1990 การผลิตมีปริมาณน้อยกว่า 1,000 ตันต่อปี ในขณะที่ความต้องการประมาณ 2,000 ตันต่อปี (Wen *et al.*, 2012) รัฐมนตรีประ ของประเทศอินเดีย มีการส่งออกไปยังประเทศจีนและประเทศอื่นๆ ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ผ่านไปทางประเทศพม่าอย่างผิดกฎหมาย (Shah *et al.*, 2012) ทั้งนี้ International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN) กำหนดให้สัตว์ฤๅษีเป็นหนึ่งในพืชสมุนไพรที่ระบุว่าเป็นความเสี่ยงภายใต้ภัยคุกคาม (Madhu *et al.*, 2010) การศึกษาสารประกอบ สามารถแยกสารประกอบได้ 8 ชนิด คือ Falcarindiol, β -ecdysterone และ saponins 6 ชนิด ซึ่งมีฤทธิ์ต่อต้านมะเร็งอย่างมีนัยสำคัญ โดยโครงสร้างของ saponins มีฤทธิ์ด้านเนื้องอกได้ นอกจากนี้ยังสามารถบรรเทาอาการบวม น้ำที่ปอดและกล้ามเนื้อหัวใจ (Shah *et al.*, 2012)

สำนักคุ้มครองภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย (2555) จัดสัตว์ฤๅษีไว้เป็นสมุนไพรที่อาจจะสูญพันธุ์ และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ในพื้นที่เขตอนุรักษ์ป่าดอยม่อนฤๅษี ในเขตป่าสงวนแห่งชาติป่าขุนแม่กว้ง ตำบลเทพเสด็จ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ สำนักงานสวนสาธารณะ (2552)

จัดสัตว์ฤๅษีเป็นไม้พื้นเมืองของไทยที่ควรค่าแก่การอนุรักษ์พันธุกรรม

อุปกรณ์และวิธีการ

พืชทดลองและแหล่งเก็บตัวอย่าง

สัตว์ฤๅษีจากแหล่งสำรวจจากพื้นที่ของจังหวัดเชียงใหม่ 6 อำเภอ ได้แก่ ดอยสะเก็ด สะเมิง แม่วาง แม่แจ่ม เชียงดาว และกัลยาณิวัฒนา จังหวัดเชียงใหม่ 2 อำเภอ ได้แก่ เวียงป่าเป้า และอำเภอเมืองเชียงใหม่ และจังหวัดน่าน หนึ่งอำเภอ คือ แม่จริม รวมจำนวน 10 พื้นที่ อย่างไรก็ตามเมื่อจำแนกตามกลุ่มของดีเอ็นเอ ที่สกัดได้จะนำเสนอผลการทดลองแยกตามกลุ่มตัวอย่าง 7 กลุ่ม ดังนี้

S1 กลุ่มดอยสะเก็ด (Doisaket)

ตัวอย่างจากอำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่

S2 กลุ่มสะเมิง (Samoeng)

ตัวอย่างจากอำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่

S3 กลุ่มแม่แจ่ม (Mae Chaem)

ตัวอย่างจากบ้านแม่จอนหลวง อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่

S4 กลุ่มแม่วาง (Mae Wang)

ตัวอย่างจากบ้านขุนวาง อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

S5 กลุ่มเวียงป่าเป้า (Wiang Pa Pao)

ตัวอย่างจากบ้านขุนแม่ลาว อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย

S6 กลุ่มเชียงดาว (Chiang Dao)

ตัวอย่างจากอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่

S7 กลุ่มแม่จริม (Mae Charim)

ตัวอย่างจากอำเภอแม่จริม จังหวัดน่าน

วิธีดำเนินการทดลอง

การบันทึกข้อมูลด้านลักษณะพื้นฐานวิทยาและการเจริญเติบโต

บันทึกข้อมูลด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิด นิเวศวิทยา และการกระจายพันธุ์ การใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ ของสัตตฤๅษีลักษณะประจำพันธุ์ ชื่อเรียกท้องถิ่น ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ โดยใช้แบบสอบถาม รวมถึงบันทึกการเจริญเติบโตของต้นสัตตฤๅษีที่นำมาเพาะปลูกบันทึกลักษณะประจำพันธุ์ ประเมินคุณลักษณะทางพันธุกรรมจำแนกพันธุ์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตามแบบบันทึกของสำนักคุ้มครองพันธุ์พืช (2542)

การวิเคราะห์สารสำคัญและความหลากหลายทางพันธุกรรม

วิเคราะห์สารสำคัญโดยเก็บตัวอย่างหัวสัตตฤๅษีมาใช้ในการวิเคราะห์ที่ได้แก่ ปริมาณฟิโนลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu reagent รายงานเป็น มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งพืชตัวอย่าง (mg/gDW) และ ปริมาณสารซาโปนิน โดยวิธี Total saponin colourimetry assay รายงานผลเป็น มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของพืชตัวอย่าง (mg/gDW) วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ รายงานผลเป็นร้อยละ (%) ของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค RAPD โดยการสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อน ตามกรรมวิธีของ Doyle and Doyle (1987) ดังนี้ นำใบอ่อนหรือยอดอ่อนของสัตตฤๅษี มาทำการสกัดดีเอ็นเอโดยนำมาชั่งให้ได้ 0.2 กรัม แล้วบดในโกร่งที่มีไนโตรเจนเหลวให้ละเอียด เสร็จแล้วเทใส่หลอดทดลอง จากนั้นเติม 2XCTAB buffer จำนวน 600 ไมโครลิตร ลงในหลอด

ที่เตรียมไว้ แล้วนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เติมหคลอโรฟอร์ม (chloroform): ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (isoamyl alcohol) อัตราส่วน 24 : 1 จำนวน 800 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน แล้วนำไปเหวี่ยง (centrifuge) ที่ระดับความเร็ว 12,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 นาที จากนั้นดูดเฉพาะน้ำที่ใสส่วนบนลงในหลอดทดลองใหม่ แล้วเติมไอโซโพรพานอล (isopropanol) ที่เย็นจัด จำนวน 600 ไมโครลิตร เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน นำไปแช่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-20 นาที แล้วนำไปเหวี่ยงที่ความเร็วและอุณหภูมิเท่าเดิม เป็นเวลา 5-10 นาที จากนั้นเทไอโซโพรพานอลทิ้งไป แล้วเติมแอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 800 ไมโครลิตร แล้วนำไปเหวี่ยงที่ความเร็วและอุณหภูมิเท่าเดิม เป็นเวลา 5-10 นาที แล้วเทแอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์ ทิ้งไป และทำซ้ำขั้นตอนนี้อีก 2 ครั้ง ปล่อยให้ตะกอนแห้งโดยการเปิดฝาทิ้งไว้ เป็นเวลา 20-30 นาที จากนั้นนำมาละลายใน TE buffer จำนวน 50-100 ไมโครลิตร เก็บรักษาสารละลายดีเอ็นเอได้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และทำการวัดคุณภาพและปริมาณสารละลายดีเอ็นเอโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) ความเข้มข้นของเจล 0.8 เปอร์เซ็นต์ ใน 1XTAE buffer เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของดีเอ็นเอมาตรฐาน

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

จากการสำรวจและรวบรวมในปี 2559 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตพบว่า ต้นสัตตฤๅษีเจริญเติบโตในช่วงการเจริญเติบโตทางลำต้นในฤดูฝน มีการพัฒนาดอกแต่ยังไม่พบการติดเมล็ด ต้นสัตตฤๅษีที่ได้

จากการสำรวจในปี 2559-2560 มีการเจริญเติบโตทางลำต้นช่วงฤดูฝนเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน และการเจริญด้านส่วนขยายพันธุ์ (reproductive growth) ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม ไปจนถึงเดือนธันวาคมก่อนจะเข้าสู่ระยะพักตัวในช่วงเดือนมกราคมเป็นต้นไป การเจริญเติบโตทางลำต้นของต้นสัตถุષิจะขึ้นอยู่กับการสะสมอาหารภายในหัว ซึ่งแต่ละหัวจึงเจริญเติบโตไม่พร้อมกันแต่จะอยู่ในช่วงระยะเวลาใกล้เคียงกัน ลักษณะการติดเมล็ดของต้นต้นสูงดอยจะเกาะเป็นกลุ่มกันแน่นภายในฝัก เมื่อสุกแก่เต็มทีฝักที่หุ้มเมล็ดจะแตกออก จะมีเมล็ดเฉลี่ยในฝักประมาณ 20-35 เมล็ด/ฝัก มีลักษณะเมล็ดกลม มีเยื่อหุ้มวบน้ำสีส้มแดงและจะมีภายในหรือเมล็ดจริงค่อนข้างแข็งสีขาวครีมอยู่ภายใน (Figure 1) โดยทั่วไปลักษณะทางพฤกษศาสตร์ และสัณฐานวิทยาของสัตถุષิจากแต่ละแหล่ง มีความหลากหลายทางสัณฐานวิทยามาก จึงไม่สามารถจำแนกความแตกต่างของแต่ละแหล่งที่ได้ทำการสำรวจจากลักษณะภายนอกได้ แต่โดยรวมสามารถสรุปลักษณะทางพฤกษศาสตร์ได้ดังแสดงไว้ใน Table 1

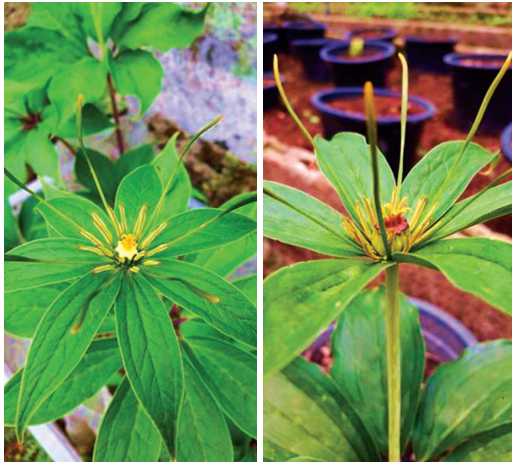
ผลจากการตรวจวิเคราะห์ DNA จากใบสัตถุષิ 7 ตัวอย่างในปี 2560 จากแหล่งดอยสะเก็ด (S1) สะเมิง (S2) แม่แจ่ม (S3) แม่วาง (S4) เวียงป่าเป้า (S5) เชียงดาว (S6) และแม่จริม (S7) ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RAPD จำนวน 5 ตัว และเครื่องหมายโมเลกุลชนิด ISSR จำนวน 5 เครื่องหมาย ได้แถบดีเอ็นเอจำนวน 48 แถบ เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบ Agglomerative hierarchical

clustering (AHC) พบว่าสามารถจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกได้แก่ ดอยสะเก็ด (S1) สะเมิง (S2) เวียงป่าเป้า (S5) และเชียงดาว (S6) กลุ่มที่สองได้แก่ แม่แจ่ม (S3) และ แม่วาง (S4) และกลุ่มที่สามได้แก่ แม่จริม (S7) (Figure 2)

เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญที่มีในแต่ละแหล่งที่พบโดยวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวม (Total phenolic compounds) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent และวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนิน (Total saponin colourimetry assay) จำนวน 7 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณฟีนอลรวม (total phenolic compounds) จากหัวที่พักรั่วของสัตถุષิที่ได้จาก ตำบลขุนแม่ลาว อำเภอดอยสะเก็ด ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มเวียงป่าเป้า (S5) มีปริมาณ total phenolic compounds เฉลี่ยสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ คือเท่ากับ 0.009 mg/gDW (Table 2)

ในขณะที่ปริมาณสารซาโปนินทั้งหมดในหัวที่พักรั่วขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกันพบว่า สัตถุષิที่สำรวจจากเขตบ้านแม่จอนหลวง ตำบลขุนแม่วาง อำเภอแม่แจ่ม ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มแม่แจ่ม (S3) มีปริมาณสารซาโปนินเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ คือ 32.26±0.65 mg/gDW (Table 3)

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เปรียบเทียบจากแต่ละแหล่งในส่วนหัวที่พักรั่วขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกันพบว่าสัตถุષิมาจาก อำเภอสะเมิง หรือกลุ่มสะเมิง (S2) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่ากลุ่มอื่นๆ คือ 23.63±0.03 % (Table 4)



A



B



C



D

Figure 1 Morphology of *Paris polyphylla* Sm. collected in this study: leaves and flower (A), whole plant (B), rhizome (C) and seed and seedling germinated from seed (D)

Table 1 Morphological characteristics of *Paris polyphylla* Sm.

<i>Paris polyphylla</i> Sm.	Detail
Evaluation environment	900-1,900 m.
Type of planting	Rhizome
Vigor of the plant	not good
Environment	Detail
- Topography	Mountainous
- Country of characterization and / or evaluation	Higher-level landform
- Crop agriculture	Perennial field cropping
- Soil moisture	Slightly moist
- Soil fertility	Moderate
- Light	sunny
Leaf	Detail
- Blade shape of mature leaf	oval
- Leaf colour	Dark green
- Leaf colour variegation	Present
- Number of lobes in mature leaf	few
- Foliation density	whorled
- Leaf growth habit (attitude)	Semi-erect
- Leaf type	simple
- leaf margin colour	green
- vein colour	green
- leaf density	intermediate
Stem	Detail
- stem branching	Erect
- Plant growth habit	Erect
- Stem growth habit	Erect
- Plant height	10-100 cm.
- Crown number per plant	No tillering
- stem colour	purplish green
- Type of material received	rhizome

Table 1 Morphological characteristics of *Paris polyphylla* Sm. (Cont.)

<i>Paris polyphylla</i> Sm.	Detail
Flower	Detail
- Flower colour	light green
- Intensity of flower colour	light
- Length of peduncle	11-15 cm.
- Number of inflorescences per plant	≤ 10
- Time of flowering	June-July
- Type of flower	spatulate, 4 linear acute ones
- flowering-flowering	flowering in some years
- days to flowering after emergence	120
- sex	bisexual flower
- calyx	4-10 lanceolate green leaves
- Length of picking season	after flowering

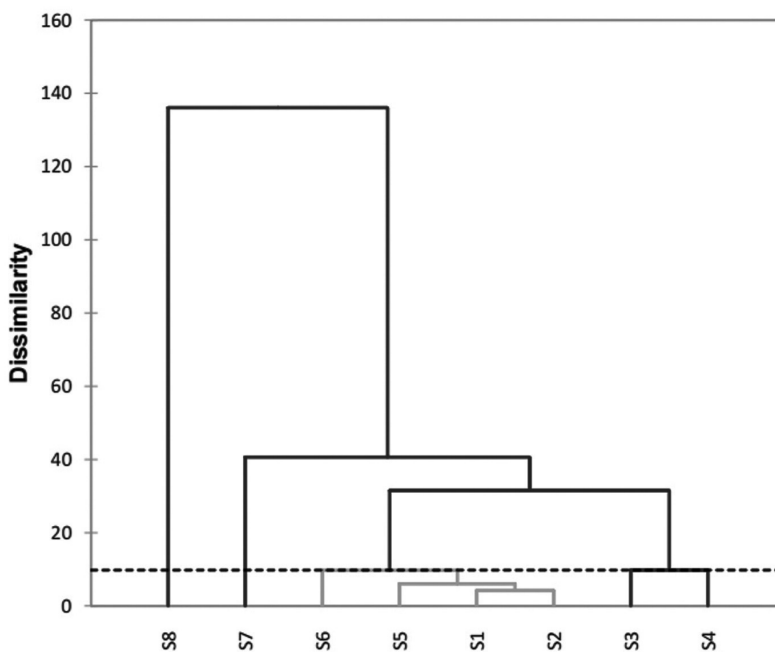


Figure 2 Genetic correlation of 7 sample groups of *Paris polyphylla* Sm. using Agglomerative hierarchical clustering (AHC) analysis

Table 2 Total phenolic compounds of *Paris polyphylla* Sm.

Sample groups	location	Total phenolic compounds (mg galic/gDW)
S1	Doisaket	0.0044
S2	Samoeng	0.0066
S3	Mae Chaem	0.0035
S4	Mae Wang	0.0050
S5	Wiang Pa Pao 1	0.0090
	Wiang Pa Pao 2	0.0042
S6	Chiang Dao	0.0044
S7	Mae Charim	0.0039

Table 3 Total saponins of *Paris polyphylla* Sm.

Sample groups	location	Total saponins (mg/gDW)
S1	Doisaket	28.20±0.20
S2	Samoeng	23.55±0.96
S3	Mae Chaem	32.26±0.65
S4	Mae Wang	22.68±2.18
S5	Wiang Pa Pao 1	17.15±2.14
S6	Chiang Dao	27.36±0.47
S7	Mae Charim	15.47±1.87

Table 4 Antioxidant of *Paris polyphylla* Sm.

Sample groups	location	Antioxidant capacity. (%)
S1	Doisaket	15.33±0.07
S2	Samoeng	23.63±0.03
S3	Mae Chaem	11.67±0.15
S4	Mae Wang	18.97±0.27
S5	Wiang Pa Pao 1	12.43±0.15
	Wiang Pa Pao 2	13.73±0.09
S6	Chiang Dao	13.87±0.28
S7	Mae Charim	8.53±0.20

สรุปผลการวิจัย

สัตถุพืชจากแต่ละแหล่งมีสัณฐานวิทยาที่หลากหลายและแตกต่างกัน การพิจารณาจัดจำแนกความแตกต่างจากลักษณะภายนอกจึงทำได้ยาก สอดคล้องกับ Jin *et al.* 2011 ที่รายงานผลการสำรวจสัตถุพืช 24 ชนิดจากจีนและเวียดนามว่ามีลักษณะถึง 27 ลักษณะจาก 196 จำนวนต้นใน 8 กลุ่มประชากร และจากการสำรวจในปี 2559-2561 สามารถจำแนกกลุ่มของสัตถุพืชโดยใช้วิธีวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบ Agglomerative hierarchical clustering (AHC) สามารถแบ่งสัตถุพืช ออกเป็น 3 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยสัตถุพืชที่มาจาก ดอยสะเก็ด (S1) สะเมิง (S2) เวียงป่าเป้า (S5) เชียงดาว (S6) กลุ่มที่สองมาจากแม่แจ่ม (S3) และแม่วาง (S4) และกลุ่มที่สามจากแม่จริม (S7) เมื่อวิเคราะห์สารสำคัญพบว่าตัวอย่างจากกลุ่มเวียงป่าเป้า (S5) มีปริมาณ total phenolic compounds มากกว่ากลุ่มอื่นๆ ตัวอย่างสัตถุพืชจากกลุ่มแม่แจ่ม (S3) มีค่าเฉลี่ยสาร total saponins มากกว่ากลุ่มอื่นๆ และสัตถุพืชจากกลุ่มสะเมิง (S2) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด อย่างไรก็ตามในการศึกษาปริมาณสารสำคัญในสัตถุพืชครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นที่ยังไม่ได้ดำเนินการวางแผนทดลองเพื่อวิเคราะห์ทางสถิติเต็มรูปแบบ ซึ่งควรที่จะทำการศึกษาเพิ่มเติมในระยะต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- ชัชชัย สันติสุข. ม.ป.ป. พันธุ์พืชหายากและถูกคุกคามของดอยเชียงดาว ภูเขาหินปูนในจังหวัดเชียงใหม่ ภาคเหนือของประเทศไทย ความหลากหลายทางชีวภาพของระบบนิเวศภูเขา. รายงานการประชุม วันสากลแห่งความหลากหลายทางชีวภาพ, กรุงเทพฯ. หน้า 53-64.
- สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช. กรมวิชาการเกษตร. 2542. แบบบันทึกลักษณะพืชภาคสนาม.
- สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. 2544. พืชถิ่นเดียวและพืชหายากของประเทศไทย. แหล่งข้อมูล: http://www.rspg.or.th/plants_data/rare_plants/scien_name_p9.htm (13 สิงหาคม 2556).
- สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช. 2550. สัตถุพืช สารานุกรมพืชในประเทศไทย. แหล่งข้อมูล: [http://web3dnp.go.th/botany/detail.aspx?wordnamesci=Paris0polyphylla0Smith0var.0chinensis0\(Franchet\)0H.0Hara](http://web3dnp.go.th/botany/detail.aspx?wordnamesci=Paris0polyphylla0Smith0var.0chinensis0(Franchet)0H.0Hara) (13 สิงหาคม 2556).
- CNC-DIVERSITAS. 2012. Catalogue of Life China 2012 Annual Checklist. Available: http://data.sp2000.cn/2012_cnode_e/show_species_details.php?name_code=e21cc83d-5c35-4ba5-afe2-69a3830c74c9 (21 August 2013).

- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19: 11-15.
- Madhu, K.C., S. Phoboo and P. K. Jha. 2010. Ecological study of *Daiswa polyphylla* Sm. *ECOS* 17: 87-93.
- Monocot. 2011. *Daiswa polyphylla* Sm. Available: <http://e-monocot.org/taxonkew.org:wcs:taxon:283892> (13 August 2013).
- Qin, X., C. Chen, W. Ni, H. Yan and H. Liu. 2013. C22-steroidal lactone glycosides from stems and leaves of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*. *Fitoterapia* 84: 248-251.
- Shah, S. A., P.B. Mazumder and M. D. Choudhury. 2012. Medicinal properties of *Paris polyphylla* Smith: A review. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology* 6(1):27-33.
- Wen, F., H. Yin, C. Chen, X. Liu, D. Xue, T. Chen, J.He and H. Zhang. 2012. Chemical characteristics of saponins from *Paris fargesii* var. *brevipetala* and cytotoxic activity of its main ingredient, parissaponin H. *Fitoterapia* 83: 627-63.