



การศึกษาเชิงโมเลกุลของว่านเประตัน ชนิดที่พบบริเวณลุ่มแม่น้ำโขงของไทยและลาว

เอกภูมิ ชัยยุตต์*

สุชาดา สุหร่อง†

ชัยนต์ พิเชียรสุนทร*‡

บทคัดย่อ

ว่านเประตัน (*Caulokaempferia*) เป็นพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) สมุนไพรที่ใช้ในตำรับยาพื้นบ้านของพระบ้านภาคตะวันออกเฉียงเหนือของราชอาณาจักรไทยและภาคกลางของประเทศไทยและภาคกลางของประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว. การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อเก็บข้อมูลถัดบันวิคิลือไทยด้วยวิธี PCR ที่ ITS1-ITS2 สำหรับเป็นลักษณะประจำบอนอกเหนือจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อใช้ยืนยันความแตกต่างระหว่างว่านเประตัน & ชนิดที่พบกระจายพันธุ์บิวเวลลุ่มแม่น้ำโขงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของราชอาณาจักรไทยและบริเวณภาคกลางของประเทศไทยและรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว อันได้แก่ ว่านเประตันภูเขากวาง (*C. bracteata* K. Larsen & S.S. Larsen), ว่านเประตันจีรวงศ์ (*C. jirawongsei* Picheans & Mokkamul), ว่านเประตันภูเขากวาง (*C. phulangkaensis* Picheans.), ว่านเประตันภูเขา (*C. phutokensis* Picheans.) และว่านเประตันภูเขากวาง (*C. phuwoaensis* Picheans. & Koonterm). การศึกษาพบว่าข้อมูลถัดบันวิคิลือไทยด้วยวิเคราะห์และสร้างเป็นสายวิวัฒนาการชาติพันธุ์ (phylogenetic tree) แล้ว พืชทั้ง & ชนิดจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน (clade) เดียวกัน และความใกล้ชิดกันในเชิงวิวัฒนาการชาติพันธุ์ และสนับสนุนข้อมูลทางสัณฐานวิทยาว่าว่านเประตันทั้ง & ชนิดนี้ เป็นพืชต่างชนิดกันด้วยความเชื่อมั่นในระดับสูง (ค่า bootstrap อยู่ระหว่างร้อยละ ๕๗-๑๐๐) ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลลักษณะสัณฐานและข้อมูลทางเคมีศาสตร์ของว่านเประตันทั้ง & ชนิด.

คำสำคัญ : การศึกษาเชิงโมเลกุล, ไรโอบิโอมอลดีเอ็นเอ, ส่วน ITS1-ITS2, พืชสมุนไพร, บริเวณลุ่มแม่น้ำโขง ประเทศไทยและลาว

ภูมิหลังและเหตุผล

พืชสมุนไพรว่านเประตัน (*Cauloaempferia* K. Larsen) เป็นพืชในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) สมุนไพร ที่เป็นพืชลุกอายุ

หลายปี ต้นมีกิ่ง ใบเป็นรูปไข่ ลำต้นเห็นเด่นเป็นลำต้นเที่ยมที่เกิดจากกิ่งใบห่อหุ้มกัน, โครงสร้างของดอกมีวิวัฒนาการสูง.

พืชสมุนไพรที่อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง พบในประเทศไทยและประเทศลาว จำนวนมาก ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง พบในประเทศไทยและประเทศลาว จำนวนมาก.

พืชสมุนไพรว่านเประตันนี้พบในประเทศไทย ๑๙ ชนิด^๑ เมืองกลุ่มดอกเหลือง ๑๔ ชนิด ได้แก่ *C. amplexicaulis* Suksathan^๒, *C. appendiculata* K. Larsen & Triboun^๓, *C. jirawongsei* Picheans. & Mokkamul^๔, *C. khao-maenensis* Picheans. & Mokkamul^๕, *C. kuapii* K.

* หน่วยวิจัยเภสัชพัฒนาศาสตร์และเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

† ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

‡ สำนักวิทยาศาสตร์ ราชบัณฑิตยสถาน กรุงเทพมหานคร

Larsen^๕, *C. larsenii* Suksathan & Triboun^๖, *C. limmiana* Mokkamul & Picheans.^๗, *C. pedemontana* Triboun & K. Larsen^๘, *C. phulangkaensis* Picheans.^๙, *C. phuluangensis* Picheans. & Mokkamul^{๑๐}, *C. phutokensis* Picheans.^{๑๑}, *C. phuwoaensis* Picheans. & Koonterm^{๑๒}, *C. saksuwaniae* K. Larsen^{๑๓}, *C. satunensis* Picheans.^{๑๔}, *C. saxicola* K. Larsen^{๑๕}, และ กลุ่มดอกสีม่วง-สีขาว ๓ ชนิด ได้แก่ *Caulokaempferia alba* K. Larsen & R.M. Smith^{๑๖}, *C. thailandica* K. Larsen^{๑๗} และ *C. violacea* K. Larsen & Triboun^{๑๘}.

พืชสกุลนี้พบในประเทศไทย อีก ๔ ชนิด ได้แก่ *C. coenobialis* (Hance) K. Larsen (มณฑลกว่างตุ้ง ประเทศไทย สาธารณรัฐประชาชนจีน)^{๑๙}, *C. secundra* (Wall.) K. Larsen (รัฐลิเกกิมและรัฐอัสสัม ประเทศไทย สาธารณรัฐอินเดีย)^{๒๐}, *C. linearis* (Wall.) K. Larsen (รัฐอัสสัม ประเทศไทย สาธารณรัฐอินเดีย)^{๒๑}, *C. sikkimensis* (King) K. Larsen (รัฐลิเกกิม ประเทศไทย สาธารณรัฐอินเดีย และประเทศไทย)^{๒๒}, *C. petelotii* K. Larsen (ประเทศไทย สาธารณรัฐสิงคโปร์ ชื่อเรียกเดิมวีร์ดนาม)^{๒๓}, *C. bracteata* K. Larsen & S.S. Larsen (แขวงจำปาศักดิ์ ประเทศไทย สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว)^{๒๔}, *C. burttii* K. Larsen & Jenjitt. (แขวงจำปาศักดิ์ ประเทศไทย สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว)^{๒๕}, *C. laotica* Picheans. & Mokkamul (แขวงจำปาศักดิ์ ประเทศไทย สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว)^{๒๖} และ *C. bolavenensis* Picheans. & Koonterm^{๒๗}.

ปัจจุบันพืชสกุลนี้จึงมีรายงานรวมทั้งหมด ๒๗ ชนิด ซึ่ง เมื่อพิจารณาจากการกระจายพันธุ์ของพืชสกุลนี้ จะเห็นว่า คุณยักษากลางการกระจายพันธุ์ของพืชสกุลนี้อยู่ในประเทศไทย.

อย่างไรก็ตาม เมื่อ พ.ศ. ๒๕๕๑ ชัยนรด์ พิเชียรสุนทร และคณะ เสนอให้แยกกลุ่มดอกสีขาวสีม่วง ออกเป็นพืชสกุลใหม่ คือสกุลว่านประภู (Jirawongsea Picheans.)^{๒๘} และคงกลุ่มดอกสีเหลืองทั้งหมดไว้ในสกุลว่านประภาน (Caulokaempferia K. Larsen). ทั้งนี้โดยอาศัยข้อมูลจากการศึกษาทางสัณฐานวิทยาและการศึกษาเชิงโมเลกุล^{๒๙}.

การศึกษาเชิงโมเลกุลเพื่อจำแนกชนิดพืชเป็นการศึกษาอนุกรมวิธานประยุกต์ซึ่งอาจศึกษาได้จากการดีเอ็นเอในนิวเคลียส, คลอโรฟลาสต์ หรือไมโทคอนเดรีย โดยอาจใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้เป็นลักษณะหนึ่งในการจำแนกชนิดพืชได้. การ

ศึกษาเชิงโมเลกุลนี้ใช้ตัวอย่างพืชในปริมาณน้อย อาจใช้เพียงส่วนหนึ่งส่วนใดก็ได้ เช่น ใบ ยอดอ่อน เมล็ด. นอกจากนั้น ตัวอย่างพืชยังเก็บไว้สำหรับตรวจสอบได้เป็นเวลานาน และสามารถนำมาศึกษาเมื่อใดก็ได้.

พืชสกุลว่านประภานที่พบในประเทศไทย มีสัณฐานคล้ายคลึงกันมาก. ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิดได้แก่ รูปและขนาดของลิ้นใบ, จำนวนใบประดับต่อช่อดอก, จำนวนดอกต่อใบประดับ เป็นต้น. โครงสร้างดอก เช่น กลีบข้าง (staminode), กลีบปาก (labellum), รยางค์อับเรณู (anther crest) อาจคล้ายคลึงกันมาก จนอาจยากลำบากใช้จำแนกชนิดในกลุ่มที่คล้ายคลึงกันมาก ซึ่งการศึกษาเชิงโมเลกุลอาจให้ลักษณะที่ชี้ยืนยันการจำแนกชนิดโดยอาศัยข้อมูลเชิงลับ ฐานวิทยา.

รายงานนี้เสนอผลการศึกษาเชิงโมเลกุลของพืชสกุลว่านประภานที่มีรูปสัณฐานใกล้เคียงกัน ๔ ชนิด ซึ่งพบกระจายในบริเวณลุ่มแม่น้ำโขงที่จังหวัดหนองคายและนครพนมของราชอาณาจักรไทย และแขวงบริคำไซ ประเทศไทย สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว ซึ่งอยู่คุณลักษณะของแม่น้ำโขง. ชนิดที่พบได้แก่ ว่านประภานภูเขาครวย (*Caulokaempferia bracteata* K. Larsen & S.S. Larsen), ว่านประภานจีรวงศ์ (*C. jirawongsei* Picheans. & Mokkamul), ว่านประภานภูหลวง (*C. phulangkaensis* Picheans.), ว่านประภานภูทอก (*C. phutokensis* Picheans.) และว่านประภานภูวัว (*C. phuwoaensis* Picheans. & Koonterm) โดยมีรัตถุประสงค์หลักเพื่อยืนยันว่า ว่านประภานทั้ง ๔ ชนิด เป็นพืชต่างชนิดกัน โดยอาศัยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในไรโบโซมอลดีอีนเอ ล้วน internal transcribed spacer (ITS) ช่วง ITS1 และ ITS2.

ระเบียบวิธีศึกษา

พืชตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างว่านประภานทั้ง ๔ ชนิด จากส่วนยอดอ่อน ก่อนใบคลื่นออก, จากตัวอย่างพืชในบริเวณเดียวกับที่เก็บตัวอย่างต้นแบบ หรือบริเวณที่คาดว่าจะเป็นบริเวณที่เก็บตัวอย่างต้นแบบ ดังแสดงในตารางที่ ๑ โดยใช้พืชชนิดที่ ๖ เป็นตัวอย่างเบรียบเทียบ เนื่องจากเป็นตัวอย่างที่มีการศึกษา

ตารางที่ ๑ ตัวอย่างพืชที่ใช้ศึกษาและสถานที่เก็บตัวอย่าง

พืชตัวอย่าง	สถานที่
<i>C. bracteata</i> K. Larsen & S. S. Larsen	ภูมิ อุทยานแห่งชาติภูเขากวาง แขวงบ่ออิคำ แขวงเทศลาว*
<i>C. jirawongsei</i> Picheans. & Mokkamul	ภูวัว เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จังหวัดหนองคาย
<i>C. phulangkaensis</i> Picheans.	น้ำตกตาดขาม อุทยานแห่งชาติภูลังกา จังหวัดนครพนม
<i>C. phutokensis</i> Picheans.	ภูอกน้อย จังหวัดหนองคาย
<i>C. phuwoaensis</i> Picheans. & Koonterm	น้ำตกเจ็ดสี เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จังหวัดหนองคาย
<i>C. saxicola</i> K. Larsen	เขาเขียว อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา

*ตัวอย่างต้นแบบได้จากการเก็บตัวอย่างในกรุงเทพมหานคร สถานที่ที่ระบุเป็นสถานที่จากการสำรวจของคณะผู้วิจัย

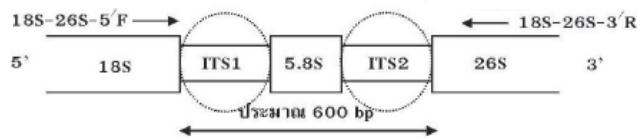
แล้วแล้วมีข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ RNA โอมอลตีเอ็นเอส่วน ITS1-ITS2 ในฐานข้อมูลสากล (GenBank).

การศึกษาลักษณะเชิงโมเลกุล

การศึกษาเชิงโมเลกุลนี้ทำโดยสกัดและวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ใน RNA โอมอลตีเอ็นเอ ในส่วน internal transcribed spacer (ITS) ช่วง ITS1 กับ ITS2 ซึ่งประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ประมาณ ๖๐๐ คู่เบส (รูปที่ ๑).

การสกัดดีเอ็นเอและการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ทำโดยนำตัวอย่างพืชแห้งบดด้วยไนโตรเจนเหลว. จากนั้นจึงไปสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด DNeasy Kit® (Qiagen, Germany), ทำให้บริสุทธิ์มากขึ้นด้วยชุดสกัด GeneClean II Kit® และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกิโซ่พอลิเมอเรส. ไพรเมอร์ที่ใช้คือ 18S-26S-5' F และ 18S-26S-3' R โดยไพรเมอร์ทั้งสองมีลำดับนิวคลีโอไทด์ดังรูปที่ ๒.

ปฏิกิริยาลูกิโซ่พอลิเมอเรสเริ่มจากขั้นตอน pre-denaturation โดยใช้อุณหภูมิ ๙๕ องศาเซลเซียส นาน ๓ นาที. ขั้นตอน denaturation ใช้อุณหภูมิ ๙๕ องศาเซลเซียส นาน ๕๐ วินาที. ขั้นตอน annealing ใช้อุณหภูมิ ๕๑ องศาเซลเซียส นาน ๔๐ วินาที. ขั้นตอน polymerization ใช้อุณหภูมิ ๗๒ องศาเซลเซียส นาน ๑ นาที จำนวนทั้งหมด ๒๗ รอบ และขั้นตอน polymerization สุดท้าย ใช้อุณหภูมิ ๗๒ องศาเซลเซียส นาน ๕ นาที. ตรวจผลผลิตจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีเจลวีเล็คโตรโฟเรซิส ย้อมด้วย etidium bromide. จากนั้นส่งผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกิโซ่พอลิเมอเรสไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายดีเอ็นเอ ด้วยชุด QIAquick PCR Purifi-



รูปที่ ๑ ตำแหน่ง ITS1, 5.8S และ ITS2 บน RNA โอมอลตีเอ็นเอ

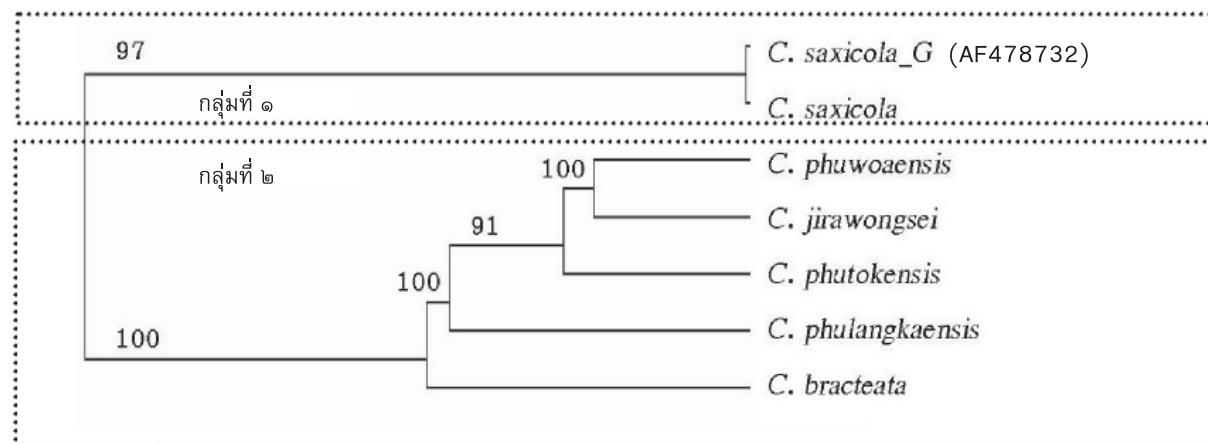
18S-26S-5' F 5' - GTAGGTGAACTGCAAAGGATCA -3'
18S-26S-3' R 5' - CCATGCTAAACTCAGCGGGT -3'

รูปที่ ๒ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษา

cation Kit® โดยบริษัทไซเบลส (ประเทศไทย) [Cybeles (E-mail: sequence@cybeles.de)].

การวิเคราะห์ผล

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาจัดเรียงโดยการเบรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของพืชสกุลว่านเประตันหัง ๕ ชนิด กับเประตัน (C. saxicola K. Larsen) ซึ่งมีรายงานอยู่ใน Genbank (Accession Number AF478732) ด้วยโปรแกรม BioEdit®, คำนวณด้วยโปรแกรม ClustalW Example Application®. นำผลที่ได้มาจัดทำเป็นสไลว์วัฒนาการชาติพันธุ์ และสรุปผลด้วยโปรแกรม PAUP*4.0 beta win โดยตั้งค่า bootstrap เท่ากับ ๑,๐๐๐ ครั้งของการสุ่มช้ำ ซึ่งค่า bootstrap แสดงถึงความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการชาติพันธุ์ ว่า่น่าจะเกิดกิงขึ้นได้จริงบนสายวิวัฒนาการชาติพันธุ์ที่ถูกต้อง



รูปที่ ๓ สายวิวัฒนาการชาติพันธุ์ของว่านประดับน้ำค้าง ๕ ชนิด คือ *C. bracteata* K. Larsen & S.S. Larsen, *C. jirawongsei* Picheans. & Mokkamul, *C. phulangkaensis* Picheans., *C. phutokensis* Picheans. และ *C. phuwoaensis* Picheans. & Koonterm โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ช่วง ITS1, 5.8S และ ITS2 เปรียบเทียบกับเประหิน (*C. saxicola* K. Larsen) [*C. saxicola_G* เป็นข้อมูลที่ได้จาก GenBank (Accession Number AF478732)] [Length = 96 ค่า consistency index (CI) = 0.9479 ค่า retention index (RI) = 0.9123 และค่า rescaled consistency index (RC) = 0.8648] โดยตัวเลขที่แสดงอยู่ด้านบนสายวิวัฒนาการชาติพันธุ์ เป็นตัวเลขแสดงความเชื่อมั่น (bootstrap)].

โดยค่า bootstrap อยู่ระหว่างร้อยละ ๔๐-๗๐ แสดงความเชื่อมั่นในระดับต่ำ, ค่า bootstrap ระหว่างร้อยละ ๗๑-๘๔ แสดงความเชื่อมั่นในระดับปานกลาง, ค่า bootstrap ระหว่างร้อยละ ๘๕-๑๐๐ แสดงความเชื่อมั่นในระดับสูง. ค่าสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ได้แก่ ค่า consistency index (CI) ซึ่งเป็นค่าที่บอกระดับการเข้ากันได้ของข้อมูลสายวิวัฒนาการชาติพันธุ์ ค่า retention index (RI) เป็นอัตราส่วนของลักษณะที่พัฒนาไปที่มีอยู่ร่วมกัน (synapomorphy) ที่พบบันແພนognomiphysis ที่สามารถจะยอมรับได้ว่าเป็น synapomorphy ที่แท้จริง โดยค่า CI และ RI ที่ดีควรมีค่าเท่ากับ ๑ ค่า rescaled consistency index (RC) จะเป็นผลหารระหว่างค่า RI ด้วยค่า CI ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้จะแสดงให้เห็นถึงผลกระทบจากความแตกต่างระหว่างค่า g (จำนวนสูงสุดของลักษณะที่สามารถจะเปลี่ยนแปลงไปได้บนสายวิวัฒนาการชาติพันธุ์ที่กำหนดให้) ของแต่ละลักษณะที่ศึกษา.

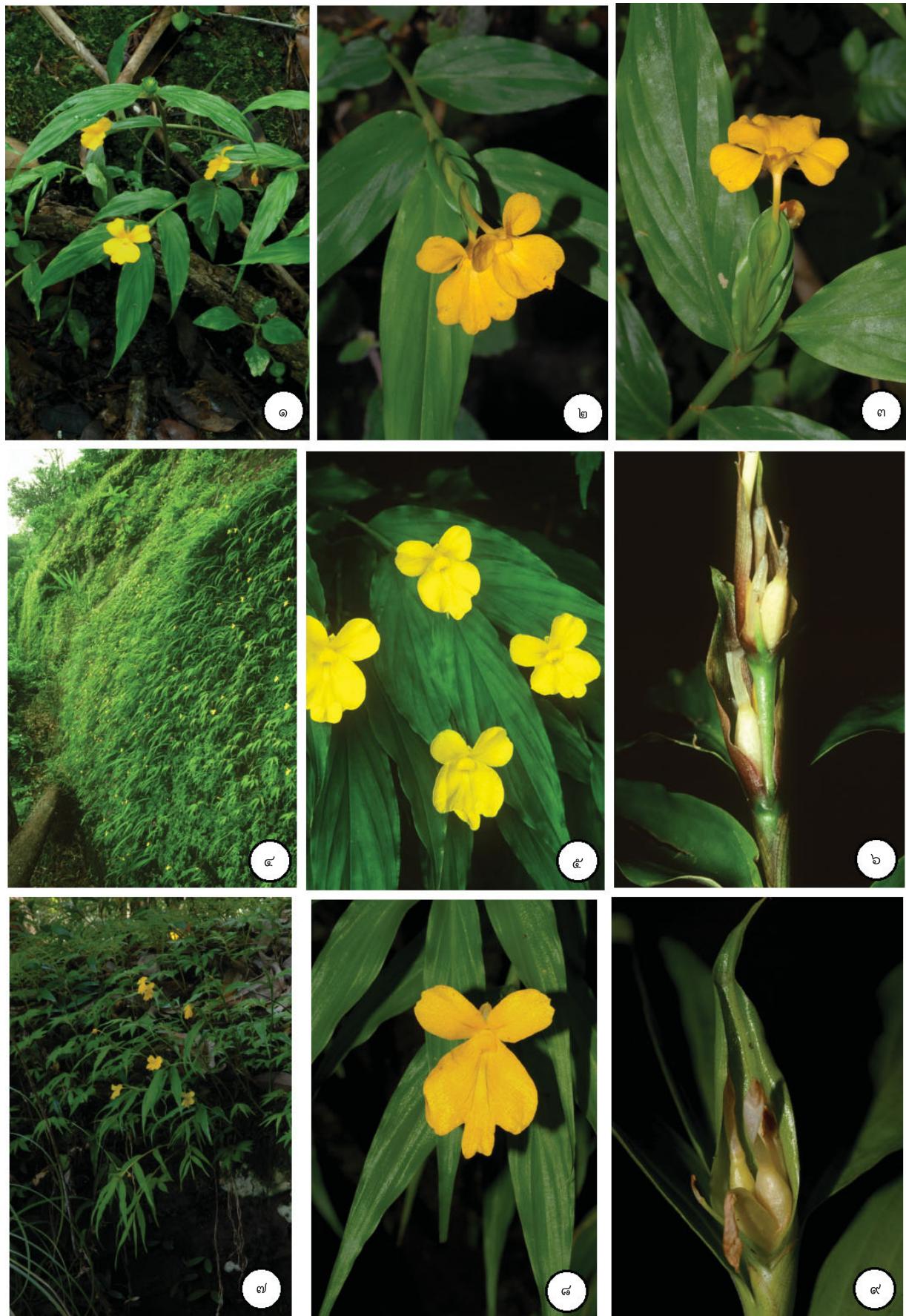
ผลการศึกษา

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ RNA โอมอลดีอีนเอ ส่วน ITS1, 5.8S และ ITS2 ของตัวอย่างทั้ง ๖ ชนิด มีความยาวอยู่ในช่วง ๑-๕๘๕ ค่าร์เรคเตอร์ และนำข้อมูลที่ได้มาจัดทำสายวิวัฒนาการชาติพันธุ์ โดยตั้งค่า bootstrap replicates = ๑๐๐๐

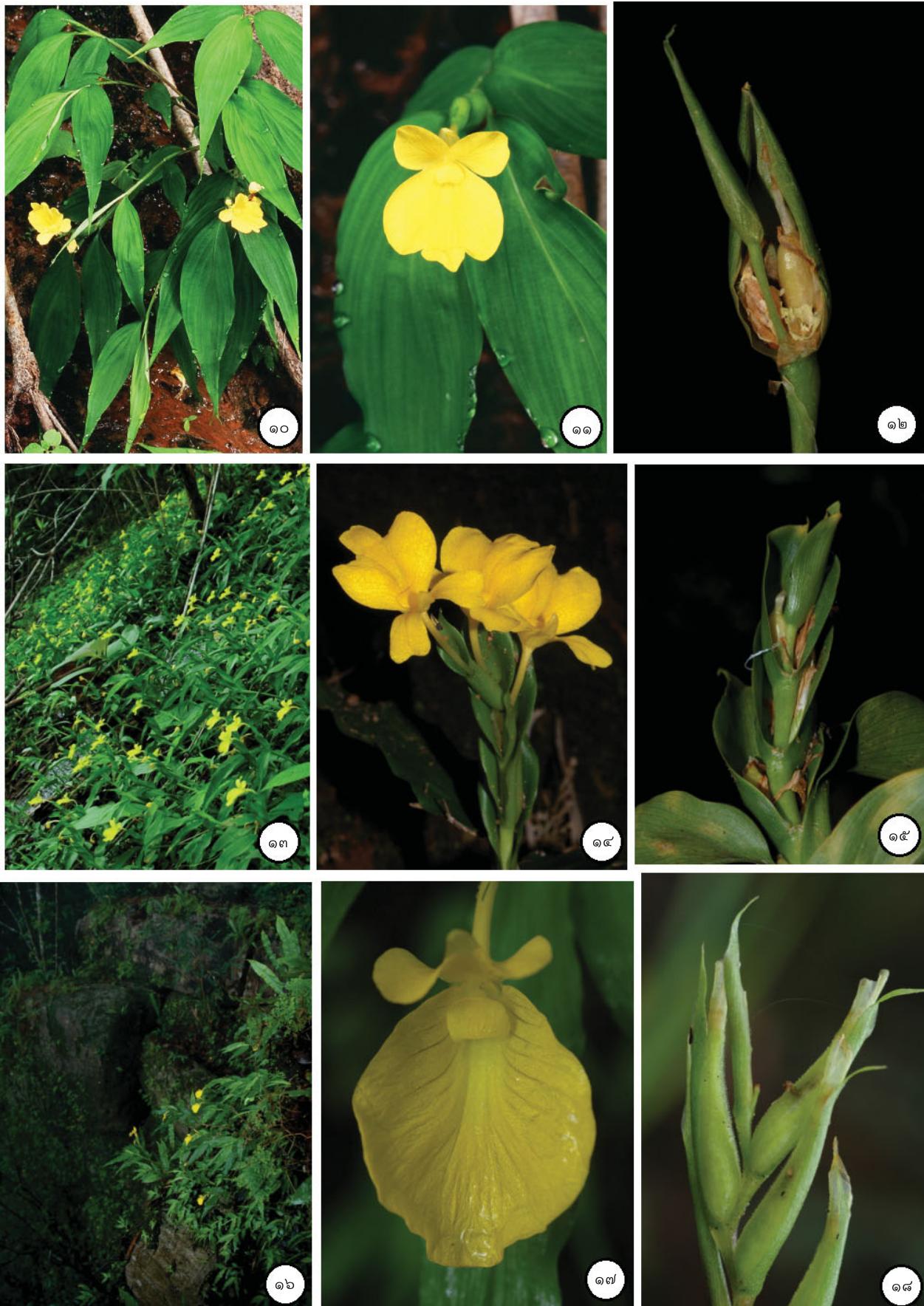
ได้ผลลัพธ์ที่แสดงในรูปที่ ๓.

สายวิวัฒนาการชาติพันธุ์ที่ได้ (รูปที่ ๓) แบ่งว่านประดับน้ำค้าง ๖ ชนิดมีความแตกต่างกันในเชิงวิวัฒนาการชาติพันธุ์ในระดับความเชื่อมั่นสูง และแบ่งว่านประดับน้ำค้าง ๖ ชนิดออกเป็น ๒ กลุ่มได้ชัดเจน โดยกลุ่มที่ ๑ มีเประหิน (*C. saxicola*) ชนิดเดียว ซึ่งข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากตัวอย่างที่เก็บจากบริเวณที่เก็บตัวอย่างต้นแบบ (*C. saxicola* ในรูปที่ ๓) กับที่รายงานไว้ใน GenBank (*C. saxicola_G* ในรูปที่ ๓, Accession Number AF478732) นั้นเหมือนกัน. ส่วนกลุ่มที่ ๒ มีว่านประดับน้ำค้าง ๕ ชนิดที่พบกระจายอยู่ในบริเวณลุ่มแม่น้ำโขงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทยและภาคกลางของลาว ซึ่งได้แก่ ว่านประดับน้ำคูเข้า cavity (*C. bracteata*), ว่านประดับน้ำจีรวงศ์ (*C. jirawongsei*), ว่านประดับน้ำกลังกา (*C. phulangkaensis*), ว่านประดับน้ำทอก (*C. phutokensis*) และว่านประดับน้ำวัว (*C. phuwoaensis*). แต่ละชนิดแยกจากกันอย่างชัดเจนด้วยค่าความเชื่อมั่นในระดับสูง (ค่า bootstrap ร้อยละ ๘๗-๑๐๐) ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลลักษณะสัณฐานและชีวognomiphysis ของว่านประดับน้ำค้าง ๖ ชนิด.

เมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ RNA โอมอลดีอีนเอ ในช่วง ITS1, 5.8S และ ITS2 ของว่านประดับน้ำค้าง ๖ ชนิด



รูปที่ ๔ ๑-๓ ว่านเปราะตันภูเขากวาง (C. bracteata K. Larsen & S.S. Larsen), ๔-๖ ว่านเปราะตันจีรวงศ์ (C. jirawongsei Pichean. & Mokkamul) และ ๗-๙ ว่านเปราะตันภูลังกา (C. phulangkaensis Picheans.)



รูปที่ ๔ (ต่อ) ๑๐-๑๒ ว่านเปราะตันกฎอก (*C. phutokensis* Picheans.), ๑๓-๑๕ ว่านเปราะตันกฎวัง (*C. phuwoensis* Picheans. & Koonterm.), ๑๖-๑๘ เปราะหิน (*C. saxicola* K. Larsen)

ตารางที่ ๒ ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของของโรบิโซมอลดีเอ็นเอ ในช่วง ITS1, 5.8S และ ITS2 ของว่านเประตันที่พับกระจายพันธุ์บริเวณกลุ่มแม่น้ำโขงทั้ง ๕ ชนิด คือ *C. bracteata*, *C. jirawongsei*, *C. phulangkaensis*, *C. phutokensis* และ *C. phuwoaensis* เปรียบเทียบกับว่านเประตัน *C. saxicola*

Position	1	1	2	3	4	4	5	5	5	6	7	7	7	8	8	8	8	0	1	1	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5	6
	0	1	8	9	5	9	2	6	9	5	6	7	9	2	3	5	9	1	4	1	2	2	6	1	4	3	4	5	5	7	0	
<i>C. saxicola</i>	-	-	G	T	C	C	C	C	T	A	C	G	T	A	C	G	C	G	A	T	C	T	C	A	G	G	A	G	-	T		
<i>C. bracteata</i>	G	A	*	*	*	*	*	*	*	G	*	A	A	A	T	A	C	*	C	*	*	*	G	*	G	A	A	C	T	T	A	
<i>C. jirawongsei</i>	G	A	T	*	*	*	*	*	*	C	A	A	G	A	C	A	C	*	*	*	G	*	G	T	*	*	*	C	A			
<i>C. phuwoaensis</i>	G	A	T	C	*	*	*	*	*	*	A	A	A	G	A	C	*	C	*	*	*	G	T	G	T	*	*	*	C	A		
<i>C. phulangkaensis</i>	G	A	*	*	*	T	T	T	*	*	A	A	G	A	C	*	C	G	-	-	G	*	G	A	*	*	*	C	A			
<i>C. phutokensis</i>	G	A	T	*	T	*	*	T	*	A	A	A	G	A	C	*	C	*	*	*	G	*	G	T	*	*	*	C	A			
Position	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	
	6	7	7	7	7	7	7	8	8	0	1	1	1	2	2	4	5	6	6	6	6	7	7	7	8	8	8	0	0	3	3	
	1	3	4	5	6	9	1	3	4	4	8	9	7	8	5	2	1	3	6	7	4	5	8	0	3	4	7	8	0	4		
<i>C. saxicola</i>	A	T	C	C	T	G	A	C	C	G	C	C	C	G	G	G	G	G	C	A	T	G	G	C	G	T	T	C	C	T		
<i>C. bracteata</i>	G	A	T	T	*	*	*	*	T	*	T	*	T	*	T	T	A	T	*	G	*	*	T	G	*	C	C	T	T	C		
<i>C. jirawongsei</i>	G	*	T	*	C	A	*	*	T	A	T	T	T	T	T	*	*	T	*	G	*	T	T	*	T	C	C	T	T	C		
<i>C. phuwoaensis</i>	G	*	T	*	*	A	T	A	T	A	T	*	T	T	T	*	*	T	*	G	*	*	T	*	*	C	C	T	T	C		
<i>C. phulangkaensis</i>	G	*	T	*	*	*	*	*	T	*	T	*	T	*	T	*	*	T	T	G	*	A	T	*	*	C	C	T	T	C		
<i>C. phutokensis</i>	G	*	T	*	*	A	*	*	T	A	T	*	T	T	T	*	*	T	*	G	C	*	T	*	*	C	C	T	T	C		
Position	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	3	3	4	4	4	4	4	4	5	5	6	7	8	8	9	9	0	0	1	2	3	3	3	3	3	4	4	4	4	6		
	5	9	0	2	4	5	6	1	2	1	2	5	6	3	9	0	9	6	1	2	3	8	9	0	3	6	8	1				
<i>C. saxicola</i>	T	G	G	A	G	-	G	G	T	C	C	T	C	C	G	C	T	A	C	T	T	G	T	A	C	G	T					
<i>C. bracteata</i>	A	A	*	*	T	G	T	*	*	G	T	T	*	T	G	A	G	C	C	T	G	*	*	G	C	T	*	C				
<i>C. jirawongsei</i>	A	A	*	*	T	G	T	*	*	G	T	T	*	T	G	*	G	*	C	T	G	*	*	G	C	*	*	C				
<i>C. phuwoaensis</i>	A	A	*	*	T	G	T	*	*	G	T	T	*	T	G	*	G	*	C	T	G	C	*	G	C	*	*	C				
<i>C. phulangkaensis</i>	C	A	*	*	T	G	T	*	*	G	T	A	A	T	G	*	G	*	C	A	G	*	C	G	C	T	*	C				
<i>C. phutokensis</i>	A	A	T	C	*	G	T	A	A	G	T	T	*	T	G	*	G	*	C	T	G	*	*	G	C	*	A	C				

เครื่องหมายยัติภังค์ (-) แสดงตำแหน่งที่เป็นช่องว่างในการจัดเรียงเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ เครื่องหมายดอกจันทน์ (*) เป็นเครื่องหมายที่แสดงถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกับ *C. saxicola* K. Larsen. การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นเริ่มจากด้านปลาย 5' ของบริเวณ ITS1

มาเรียงเปรียบเทียบ จะพบความแตกต่างกันได้ถึง ๘๘ ตำแหน่งเมื่อเปรียบเทียบกับเประตัน *C. saxicola* K. Larsen ดังแสดงในตารางที่ ๒.

เมื่อพิจารณาลักษณะวิทยาของว่านเประตันทั้ง ๒ กลุ่ม (รูปที่ ๔) พบร่วมกับเประตัน ๕ ชนิดในกลุ่มที่ ๒ มีไปประดับขนาดใหญ่, มีกลีบปากที่มีลักษณะเฉพาะ คือปลายมี ๓ พู และพูกางยื่นยาวออก โดยมีปลายที่เวลาตั้งแต่หยกตื้นถึงลึกมาก. ว่านเประตันกลุ่มที่ ๒ นี้ทุกชนิดมีการกระจายอยู่ในบริเวณลุ่มแม่น้ำโขงทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของราชอาณาจักรไทยและภาคกลางของประเทศสาธารณรัฐประชาชนดี-เช-ເຊວງເວີຍຈັນທິ-ເຂດພິເຕເຊີ-ຍສມບູຮົນ) โดยว่านเประตันกลุ่มนี้ทุกชนิดจัดเป็นกลุ่มที่มีการกระจายพันธุ์ใน

พื้นที่ที่อยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ เมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่นในสกุลเดียวกัน.

ตารางที่ ๒ ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของของโรบิโซมอลดีเอ็นเอ ในช่วง ITS1, 5.8S และ ITS2 ของว่านเประตันที่พับกระจายพันธุ์บริเวณลุ่มแม่น้ำโขงทั้ง ๕ ชนิด คือ *C. bracteata*, *C. jirawongsei*, *C. phulangkaensis*, *C. phutokensis* และ *C. phuwoaensis* เปรียบเทียบกับเประตัน *C. saxicola*

สรุป

พืชสกุลว่านเประตัน ๕ ชนิดที่กระจายพันธุ์ในบริเวณลุ่มแม่น้ำโขงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยและภาคกลางของประเทศลาว ได้แก่ ว่านเประตันภูเขียว (*C.*

bracteata K. Larsen & S.S. Larsen), ว่านประทันจีรวงศ์ (*C. jirawongsei* Picheans. & Mokkamul), ว่านประทันภูหลัง (*C. phulangkaensis* Picheans.), ว่านประทันภูทอก (*C. phutokensis* Picheans.) และว่านประทันภูรัว (*C. phuwoensis* Picheans. & Koonterm) เป็นกลุ่มพืชสกุลว่านประทัน (*Caulokaempferia*) ที่มีลักษณะลักษณะที่คล้ายคลึงกันนั้นคือความแตกต่างกันในลักษณะเชิงโมเลกุลในส่วนของดีเอ็นเอที่คึกคักคือไอโซเมอร์ดีเอ็นเอ ในช่วง ITS1, 5.8S และ ITS2 มีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมโยงระหว่างตัวสูง เมื่อเทียบกับประทันหิน (*C. saxicola* K. Larsen) ซึ่งอยู่ในกิ่งของสายวิวัฒนาการชาติพันธุ์ที่แตกต่างกัน, แยกเป็นคุณลักษณะกัน, ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะลักษณะและชีวภูมิศาสตร์ของพืชทั้ง ๒ กลุ่ม.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยเรื่อง “การคึกคักของความรู้พื้นฐานทางพอกษาศาสตร์และลายพิมพ์ดีเอ็นเอของว่านยาไทย” ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนหมุนปั้นญาติ การแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข. คณะผู้ช่วยวิจัย ได้แก่ นายจีรเดช มาเยอ, นายเฉลิมโชค บุญจิตร, นายปิยะพงษ์ย์พราษฎร์, นางสาวพรพิมล วงศ์สุวรรณ, นางสาวกุลมนธนทัศกิตติ, นายวิทยา การดี, นายสุภชัย ดุณเติม และนางสาวอวภา คงชื่อ ซึ่งมีส่วนในการช่วยอำนวยความสะดวก ประสานงาน หรือร่วมในคณะกรรมการสำรวจ จนทำให้งานนี้สำเร็จลุล่วงได้. บันทึกวิทยาลัย และคณะกรรมการสัชนาลัยมหาวิทยาลัยอนงค์ ได้ให้ทุนส่วนหนึ่งในช่วงการคึกคัก ระดับมหาบัณฑิตแก่ผู้วิจัยที่ ๑ ในหลักสูตรเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยบันทึก สาขาวิชาเภสัชภัณฑ์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอนงค์.

เอกสารอ้างอิง

๑. ชัยน์ต์ พิเชียรสุนทร. พืชวงศ์ชื่อในประเทศไทย ตอนที่ ๒ : ศักดิ์ประภากุล. นิตยสารแอดเวนช์ไทยแลนด์จีโอกราฟฟิค ๒๕๔๕;๕๓:๑๕๓-๘๐.
๒. มูลนิธิพุทธรัตน์เพล. ตำราว่านยาไทย. กรุงเทพฯ : บริษัทอมรินทร์พิมพ์ดิจิทัลพับลิชิ่ง (มหาชน); ๒๕๕๑.
๓. Chaiyoot A. Molecular studies of the genus *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) in Thailand and Laos. Master's degree Thesis. The Graduate School, Khon Kaen University, Thailand, 2007.
๔. Larsen K, Suksathan P, Triboun P. Further studies in the genus *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) in Thailand with the description of two new species. Nord J Bot 2005;23:401-6.
๕. Larsen K. Three new species of *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) from Thailand with a discussion of the generic diversity. Nord J Bot 2003;22:409-18.
๖. Picheansoonthorn C, Mokkamul P. Two new *Caulokaempferia* taxa (Zingiberaceae) from northeastern Thailand. Folia malaysiana 2004;5:69-80.
๗. Picheansoonthorn C, Mokkamul P. A new species of *Caulokaempferia* from southern Thailand. Folia malaysiana 2004;5:1-8.
๘. Larsen K. Studies on Zingiberaceae IV: *Caulokaempferia*, a new genus. Botanisk. Tidsskr 1964; 60(3):165-179.
๙. Suksathan P, Triboun P. 2004. A new species of *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) from Thailand. Edinb J Bot 2004;60:513-6.
๑๐. Mokkamul P, Picheansoonthorn C. A new species of *Caulokaempferia* taxa (Zingiberaceae) from northern Thailand. Folia malaysiana 2004; 5:187-194.
๑๑. Picheansoonthorn C, Koonterm S. Three newspecies of the yellow-flowered *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) from northeastern Thailand. Taiwania 2008;53:248-57.
๑๒. Picheansoonthorn C, Mokkamul P. Two new *Caulokaempferia* taxa (Zingiberaceae) from northeastern Thailand. Folia malaysiana 2004;5:69-80.
๑๓. Larsen K. Studies on Zingiberaceae VI. Botanisk Tidsskr 1973;68:157-9.
๑๔. Picheansoonthorn C, LIM CK, Sukrong S, Chaiyoot A. A new species of *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) from southern Thailand. Folia malaysiana. 2007;8(2):53-60.
๑๕. Wu TL, Larsen K. Zingiberaceae. In: Wu ZY, Raven PH, editors. Flora of China. Beijing: Science Press; 2000. p. 24: 377.
๑๖. Larsen K, Jenjittikul T. A new species of *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) from Laos. Edinb J Bot 2004;60:509-12.
๑๗. Picheansoonthorn C, Mokkamul P. A new species of *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) from Southern Laos. Nat Hist Bull Siam Soc 2006;54: 75-80.
๑๘. Picheansoonthorn C, Koonterm S, Chaiyoot A, Sukrong S, Homchuen S. A new species of *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) from Laos, with further information on other species from Laos. Nat Hist Bul Siam Soc (in press).
๑๙. Picheansoonthorn C, Chaiyoot A, Sukrong S. *Jirawongsea*, a new genus of the family Zingiberaceae. Folia malaysiana (in press).
๒๐. Kress WJ, Prince LM, Williams KJ. The phylogeny and a new classification of the Gingers (Zingiberaceae): Evidence from molecular data. Am. J. Bot. 2002;89:1682-96.
๒๑. Ngamriabsakul C, Newman MF, Cronk QCB. 2004. The phylogeny of tribe Zingibereae (Zingiberaceae) based on ITS (nrDNA) and *trnL-F* (cpDNA) sequences. Edinb J Bot 2004;60:483-507.
๒๒. ดวงกมล ทองอร่าม, บุณพงศ์ มหาคำ. การจำแนกพืชสกุล *Caulokaempferia* K. Larsen (วงศ์ชิง) โดยการวิเคราะห์สายพันธุ์ทางวิถีชีวนาการจากข้อมูลทางชีววิทยาระดับโมเลกุล. วารสารวิจัย มข. ๒๕๕๘;๑๐:๑๑-๑๔.

Abstract**Molecular Study of the Genus *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) Distributed along the Mekong River of Northeastern Thailand and Central Laos**Akapoom Chaiyoot*, Suchada Sukrong[†], Chayan Picheansoonthon*,[‡]^{*}Pharmaceutical Botany and Pharmacognosy Research Unit, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand[†]Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Khet Phayathai, Bangkok 10330, Thailand[‡]Academy of Science, The Royal Institute of Thailand, Sanam Suea Pa, Sri Ayuthaya Rd., Khet Dusit 10300, Thailand

Caulokaempferia is a genus of the ginger family (Zingiberaceae). Some taxa of this genus distributed along the Mekong River of northeastern Thailand and central Laos are used medicinally by forest monks. This study was aimed at demonstrating molecular information as a character, apart from morphological characters, to confirm species distinction between the five morphologically closely related *Caulokaempferia* taxa native to the Mekong River basin in northeastern Thailand and Laos: *C. bracteata* K. Larsen & S.S. Larsen, *C. jirawongsei* Picheans & Mokkamul), *C. phulangkaensis* Picheans., *C. phutokensis* Picheans., and *C. phuwoaensis* Picheans. & Koonterm. The phylogenetic tree based on the nucleotide sequences of the ITS1-ITS2 region of the ribosomal DNA from all five species was constructed, with *C. saxicola* K. larsen (AF478732) as an out group, and their corresponding base sequences were compared. The result clearly indicates that these five species are closely related, but distinct. This molecular information complies with the morphological and biogeographical characters of these five species.

Key words: molecular study, ribosomal DNA, ITS1-ITS2 region, genus *Caulokaempferia*, Mekong River in Thailand and Laos