นิพนธ์ต้นฉบับ

ลำดับเบสบางส่วนของยีน *rbc*L ในสมุนไพรกลุ่มจันทน์ในจังหวัดจันทบุรี

ชวัลรัตน์ สมนึก[*,‡], พิสุทธิ์ การบุญ[†]

[*] *คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี 22000*

[†] *คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี 22000*

[‡] ***ผู้รับผิดชอบบทความ**: chawanrat.s@rbru.ac.th*

บทคัดย่อ

การหาลำดับเบสบางส่วนของยีน *rbc*L (ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit) ในสมุนไพรกลุ่มจันทน์ 5 ชนิด ได้แก่ จันทน์ชะมด จันทน์เทศ จันทนา จันทน์แดง และจันทน์ขาว ที่พบในจังหวัดจันทบุรี โดยเก็บตัวอย่างใบอ่อนจากต้นจันทน์ที่มีชื่อเรียกในท้องถิ่นต่าง ๆ มาสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มจำนวนบริเวณยีนด้วยเทคนิคพีซีอาร์ จากนั้นวิเคราะห์หาลำดับเบสและนำข้อมูลลำดับเบสเปรียบเทียบกับข้อมูลทางพันธุกรรมที่ปรากฏในฐานข้อมูล GenBank พบว่า ทุกตัวอย่างที่ศึกษาสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน *rbc*L ได้ โดยลำดับเบสที่วิเคราะห์ได้เมื่อพิจารณาร่วมกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ในตัวอย่างจันทน์ชะมด จันทน์เทศ จันทนา มีความสอดคล้องกับ *Aglaia* sp. (99.08%), *Myristica fragrans* (99.89%) และ *Tarenna buruensis* (98.69%) ตามลำดับ ส่วนจันทน์แดงจำนวน 2 ตัวอย่าง สอดคล้องกับพืชกลุ่มจันทน์ผา (*Dracaena cambodiana*) (99.48%) และ *Knema* sp. (99.43%) ส่วนจันทน์ขาว สอดคล้องกับ *Luehea paniculate* (98.89%)

คำสำคัญ: ลำดับเบส, สมุนไพร, จันทน์ทั้ง 5

Received date 09/09/20; Revised date 01/12/20; Accepted date 25/02/20

Partial Sequence of *rbc*L Genes of Five Medical Plants in Chanthaburi Province

Chawanrat Somnuek[*,‡], **Phisut Kanboon**[†]

[*] *Faculty of Sciences and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi Province 22000, Thailand.*

[†] *Faculty of Humanities and Social Sciences, Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi Province 22000, Thailand*

[‡] ***Corresponding author**: chawanrat.s@rbru.ac.th*

Abstract

Five rare medicinal plants in a group of "Chan Tang Ha" (locally known in Thai as Chan-Chamod, Chan-Thet, Chan-Thana, Chan-Daeng and Chan-Khao) found in Chanthaburi province were collected for this study. DNAs of plant leaves were extracted and *rbc*L (ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit) genes were amplified using the PCR technique. The PCR products were purified and their nucleotide sequences were compared with all other sequences in NCBI BLAST databases (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/). The results found that all samples could have their *rbc*L genes used for DNA amplification. Nucleotide sequences and morphological characteristics of the samples were considered. Chan-Chamod, Chan-Thet and Chan-Thana showed similarity with *Aglaia* sp. (99.08%), *Myristica fragrans* (99.89%) and *Tarenna buruensis* (98.69%) respectively. Two samples of Chan-Daeng were identified as Chanpha or *Dracaena cambodiana* (99.48%) and *Knema* sp. (99.43%). Finally, the morphology of Chan-Khao might be similar to that of *Luehea paniculate* (98.89%).

Key words: sequencing, medical plants, Chan Tang Ha

บทนำและวัตถุประสงค์

จังหวัดจันทบุรี ถือเป็นอีกพื้นที่หนึ่งของประเทศไทยที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง เนื่องจากมีสภาพภูมิอากาศ และภูมิประเทศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะพืชพรรณต่าง ๆ รวมถึงพืชสมุนไพรที่สำคัญจำนวนมาก[1-2] ซึ่งในปัจจุบันคนเริ่มหันมาสนใจการแพทย์ทางเลือกที่มีการใช้พืชสมุนไพรเป็นส่วนที่ช่วยในการดูแลรักษาสุขภาพ ทั้งในลักษณะของยาสมุนไพรและสกัดเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมากขึ้น โดยกระทรวงสาธารณสุขมีนโยบายส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน[3] ส่งผลต่อการขยายตัวด้านอุตสาหกรรมยาเป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตามการขยายตัวดังกล่าวทำให้จำนวนของพืชสมุนไพรถูกนำมาใช้มากขึ้นจนทำให้จำนวนของสมุนไพรในธรรมชาติลดลงและหากไม่มีการปลูกทดแทนให้คงอยู่และเจริญเติบโตให้ทันต่อการใช้งาน อาจทำให้เกิดการขาดแคลนสมุนไพรที่จำเป็นต่อการใช้งานได้และนำไปสู่การนำสมุนไพรชนิดอื่นที่มีฤทธิ์ใกล้เคียงกันมาใช้ทดแทนพืชสมุนไพรที่เป็นส่วนผสมตามตำรับยาดั้งเดิม จึงอาจทำให้สรรพคุณของยาไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร

ต้นจันทน์เป็นพืชที่มีชื่อเรียกพ้องเสียงกับจังหวัดจันทบุรี จึงถูกนำมาใช้เป็นต้นไม้ประจำจังหวัด แต่ต้นจันทน์มีด้วยกันหลายชนิดแตกต่างกันไปตั้งแต่ระดับวงศ์ (Family) โดยต้นไม้ประจำจังหวัดจันทบุรีมีชื่อว่า ต้นจัน (*Diospyros decandra* Lour.) มีชื่ออื่นว่า จันอิน จันโอ จันขาว จันลูกหอม[4] นอกจากต้น

จันที่กล่าวถึงแล้วยังมีต้นจันทน์ชนิดอื่นอีกจำนวนมากในกลุ่มของพืชที่มีชื่อเรียก "จันทน์" เช่น จันทน์กะพ้อ จันทน์แดง จันทน์ผา จันทน์ชะมด เป็นต้น ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในศาสตร์ของการแพทย์แผนไทย นำมาใช้เป็นยาได้ทั้งในส่วนของแก่น ผล และเนื้อไม้ อย่างไรก็ตามการเรียกชื่อของพืชในกลุ่มจันทน์ รวมถึงการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์ยังมีความคลาดเคลื่อน เนื่องจากในปัจจุบันมีการนำพืชกลุ่มจันทน์ชนิดอื่นที่สรรพคุณใกล้เคียงกันมาใช้ทดแทนกันจนอาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์ดังกล่าว ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงใช้ต้นจันทน์ที่ปราชญ์ชาวบ้านและคนในพื้นที่เรียกกันทั่วไปมาศึกษาถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับการศึกษาลักษณะข้อมูลทางพันธุกรรมเพื่อระบุชนิดตามลักษณะของต้นพืชที่พบได้ชัดเจนขึ้นว่าต้นจันทน์ชนิดต่าง ๆ ที่มีการเรียกกันนั้นจะเป็นต้นจันทน์ที่นำมาใช้ตามตำราแพทย์แผนไทยหรือไม่จากการเปรียบเทียบข้อมูลทางพันธุกรรมในฐานข้อมูล GenBank ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจันทน์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันโดยสิ้นเชิง เนื่องจากเป็นพืชคนละวงศ์กัน

จันทน์ชะมด (*Aglaia silvestris* (M. Roem.) Merr.) เป็นสมุนไพรในวงศ์ Meliaceae เป็นไม้ต้นขนาดกลางถึงใหญ่ สูงได้ถึง 30 เมตร เมื่ออ่อนมีลำต้นเดียว เรือนยอดกลมกว้าง เมื่อแก่มีพูพอนรูปตัวแอล (L) เปลือกสีครีมถึงสีน้ำตาลอมเทาแตกตื้น ใบยาว 20-65 เซนติเมตร ใบประกอบแบบขนนกยอดเดี่ยว ใบย่อย 6-9 คู่ รูปขอบขนานถึงรูปใบหอกแกมรี ปลายเรียวแหลม โคนทู่หรือกลม เบี้ยว ใบอ่อนมีเกล็ดแน่นทั้งสองด้าน ใบแก่คล้ายหนังบาง ด้านบนเขียวเข้ม ด้านล่างสีเขียมแกมทองแดง มีเกล็ดรูปโล่สีน้ำตาลกระจายแน่น[5]

จันทน์เทศ (*Myristica fragans* Houtt.) เป็นสมุนไพรในวงศ์ Myristicaceae เป็นไม้พุ่มยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ไม่ผลัดใบ มีความสูงของต้นประมาณ 5-18 เมตร เปลือกลำต้นเรียบเป็นสีเทาอมดำ เนื้อไม้สีนวลหอมเพราะมีน้ำมันหอมระเหย ใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงสลับ ลักษณะของใบเป็นรูปรีหรือรูปไข่กลมรี ปลายใบแหลม โคนใบสอบ ส่วนขอบใบเรียบ ใบมีขนาดกว้างประมาณ 4-5 เซนติเมตร และยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร เนื้อใบแข็ง หลังใบเรียบเป็นมันและเป็นสีเขียวอมสีเหลืองอ่อน ส่วนท้องใบเรียบและเป็นสีเขียวอ่อน ส่วนก้านใบยาวประมาณ 6-12 มิลลิเมตร ดอกจันทน์เทศออกเป็นช่อ ช่อละประมาณ 2-3 ดอก หรือออกเป็นดอกเดี่ยว โดยจะออกตามซอกใบ ดอกเป็นสีเหลืองอ่อน กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นรูปคนโทคว่ำ ปลายกลีบแยกออกเป็น 4 แฉก[6]

จันทนา (*Tarenna hoaensis* Pit.) เป็นสมุนไพรในวงศ์ Rubiaceae เป็นไม้ต้นขนาดเล็ก สูงราว 5-10 เมตร เรือนยอดเป็นพุ่มยาวรี ๆ เปลือกสีเทาอ่อน เรียบหรือแตกเป็นร่องเล็ก ๆ ไปตามความยาวของลำต้น เนื้อไม้มีสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน ใบเป็นใบเดี่ยว ป้อมมน หรือรูปรีแกมขอบขนาน กว้าง 4-9 เซนติเมตร ยาว 12-20 เซนติเมตร[7]

จันทน์แดง (*Pterocarpus santalinus* L.f.) อยู่ในวงศ์ Fabaceae (Leguminosae) เป็นไม้ต้นขนาดใหญ่ สูงได้ถึง 11 เมตร อาจวัดรอบโคนต้นได้ถึง 1.5 เมตร เปลือกต้นมีสีน้ำตาลดำ แตกเป็นแผ่นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า เมื่อมีแผลจะมีน้ำยางสีแดงเข้มไหลออกมา ใบเป็นใบประกอบแบบขนนก ไม่มีหูใบ ก้านใบมีขนนุ่ม ใบย่อยมักมี 3 ใบ คู่ล่างมักออกสลับหรือเกือบตรงข้าม ใบย่อยรูปไข่กว้างหรือเกือบกลม โคนมน ปลายมนหรือหยักลึก ยาว 5-15 เซนติเมตร เนื้อใบคล้ายแผ่นหนัง ท้องใบมีขนนุ่มเล็กน้อย ดอกเป็น

ช่อกระจายหลวม ๆ สีเหลือง[7]

จันทน์ขาว (*Mansonia gagei* J.R. Drumm.) เป็นสมุนไพรในวงศ์ Sterculiaceae เป็นไม้ต้น ผลัดใบ สูงได้ถึง 20 เมตร เปลือกสีออกขาวถึงเทาอ่อนเรียบ หรือแตกเป็นแผ่นตาราง ใบกว้าง 3-6 เซนติเมตร ยาว 8-14 เซนติเมตร ใบเดี่ยว ออกสลับเวียน รูปไข่ถึงขอบขนานแกมรี ปลายแหลม โคนแบนหรือรูปหัวใจตื้น มักเบี้ยวเล็กน้อย ขอบจักห่าง ๆ โดยเฉพาะในครึ่งบน ยอดอ่อนมีขนกระจาย ใบเกลี้ยงทั้งสองด้าน เส้นใบข้าง 5-7 คู่ ทำมุมแหลมชัน ก้านใบยาว 0.5-1 เซนติเมตร พองเล็กน้อยที่ปลายทั้งสองด้าน หูใบรูปใบหอก ร่วงเร็ว ดอกยาว 2-2.5 เซนติเมตร สีขาว[8]

การหาลำดับเบสบริเวณยีน *rbc*L (Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase large subunit) เป็นยีนที่มีความหลากหลายในพืช เป็นยีนที่ไม่มีอินทรอน (intron) สอดแทรกอยู่ภายใน เมื่อถอดรหัสและแปลรหัสจะได้หน่วยย่อยขนาดใหญ่ (large sub-unit) ของเอนไซม์รูบิสโก (rubisco) หรือ ribulose-bisphosphate carboxylase/oxygenase มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide fixation) ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthesis)[9] ซึ่งเป็นตำแหน่งของยีนที่นิยมนำมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชค่อนข้างมาก โดยอาจใช้ตำแหน่งจำเพาะบริเวณเดียวหรือหลายบริเวณร่วมกัน เช่น การใช้ยีน *mat*K ร่วมกับ *rbc*L เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด จะทำให้การจัดกลุ่มและการพิสูจน์เอกลักษณ์ของพืชชัดเจนขึ้น[5] รวมถึง Hollingsworth และคณะยังมีการเสนอบริเวณ *mat*K และ *rbc*L เป็นบริเวณมาตรฐานของ Core barcode regions ด้วย[10] นอกจากนี้ยังมีการนำยีน *mat*K, *rbc*L และ *trn*H-*psb*A intergenic spacer มาใช้ระบุชนิดสมุนไพรสกุลขี้เหล็ก (*Senna*) ที่ถูกแปรรูปเป็นสมุนไพรรูปแบบต่าง ๆ ได้ด้วย[11]

จากการสัมภาษณ์แพทย์แผนไทยและปราชญ์ชาวบ้าน (นายแพทย์บรรยูณ มาศศิริ) ที่ศึกษาและมีความเชี่ยวชาญเกี่ยวกับการใช้สมุนไพรสำหรับรักษาโรคในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี พบว่า สมุนไพรในกลุ่มของจันทน์ทั้ง 5 ชนิด คือ จันทน์ชะมด จันทน์เทศ จันทนา จันทน์แดง และจันทน์ขาว ถือเป็นพืชสมุนไพรกลุ่มจันทน์ที่หาได้ยาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งจันทน์ขาวที่พบได้น้อยมากในปัจจุบัน จึงเป็นเหตุผลให้ผู้วิจัยสนใจในการเก็บอนุรักษ์ ปลูกทดแทน และรวบรวมข้อมูลทางพันธุกรรมของจันทน์ทั้ง 5 ชนิดนี้ไว้ทั้งในรูปแบบของการปลูกเพิ่มเติมและในลักษณะของฐานข้อมูลทางพันธุกรรมโดยการหาลำดับเบสบางส่วนของสมุนไพรหายากในกลุ่มจันทน์ทั้ง 5 (จันทน์ชะมด จันทน์เทศ จันทนา จันทน์แดง และจันทน์ขาว) ในจังหวัดจันทบุรี เพื่อสนองพระราชดำริฯ ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และเป็นข้อมูลในการจำแนกชนิดและต่อยอดในระดับของการตรวจสอบตัวอย่างสมุนไพรจันทน์แปรรูปในยาแผนไทยต่อไป

ระเบียบวิธีศึกษา

1. สถานภาพของสมุนไพรกลุ่มจันทน์

ศึกษาสถานภาพของสมุนไพรกลุ่มจันทน์จากข้อมูลทุติยภูมิและจากการสัมภาษณ์ปราชญ์ชาวบ้านถึงตำแหน่งที่ตั้งที่ยังมีการเจริญเติบโตอยู่ในพื้นที่ต่าง ๆ หรือจากการเพาะขยายพันธุ์จากสวนสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดจันทบุรี โดยศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ประกอบก่อนนำตัวอย่างใบอ่อนของต้นจันทน์แต่ละชนิดมาใช้สำหรับขั้นตอนการ

หาลำดับเบสต่อไป ซึ่งตัวอย่างที่มีมากกว่า 1 ต้น จะนำใบอ่อนมารวมกันเพื่อใช้สำหรับสกัดดีเอ็นเอ

2. การศึกษายีน *rbc*L ในสมุนไพรกลุ่มจันทน์

2.1 การสกัดดีเอ็นเอของพืชและออกแบบไพรเมอร์

เก็บตัวอย่างใบอ่อนของต้นจันทน์ทั้ง 5 ชนิด ตามชื่อเรียกท้องถิ่นจากปราชญ์ชาวบ้านของจังหวัดจันทบุรี (จันทน์ชะมด จันทน์เทศ จันทนา จันทน์แดง และจันทน์ขาว) มาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (GenUP™ Plant DNA Kit) ละลายดีเอ็นเอที่ได้ใน TE buffer แล้วกำจัดอาร์เอ็นเอออกด้วยเอนไซม์ RNase และตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอที่เตรียมได้โดยการทำอิเล็คโตรโฟรีซีสด้วยอะกาโรสเจล จากนั้นทำการออกไพรเมอร์โดยการศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมของพืชจากฐานข้อมูล GenBank ในบริเวณส่วนของยีน *rbc*L ของพืชในวงศ์ หรือสายพันธุ์ใกล้เคียงกันมาออกแบบไพรเมอร์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Primer3[12] ได้คู่ไพรเมอร์ดังนี้

Rb1-L	5'-CCA AAG ATC TCG GTC AGA GC-3'	Amplified products 994 bp
Rb2-R	5'-GAC AAC TGT GTG GAC CGA TG-3'	

2.2 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *rbc*L ด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ในสารละลายมาสเตอร์มิกซ์ (master mix) สำหรับทำพีซีอาร์ที่ประกอบด้วย 1X *Taq* buffer, 100 μM forward primer, 100 μM reverse primer, *Taq* DNA polymerase, 0.2 mM dNTPs, 3 mM $MgCl_2$ และดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สกัดได้ความเข้มข้น 30 ng นำมาผสมให้เข้ากัน จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วย thermal cycler (T100™ Thermal Cycler, Bio-Rad, USA) โดยตั้งค่าอุณหภูมิแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 1 รอบ (2) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 วินาที ตามด้วยอุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 35 รอบ และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจลเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

2.3 การหาลำดับเบสและการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม (GenBank)

นำสารละลายพีซีอาร์มาทำให้บริสุทธิ์ (PCR purification) ด้วยชุดทำความสะอาดดีเอ็นเอ (GenUP™ PCR/Gel Cleanup Kit) แล้วส่งตัวอย่างวิเคราะห์หาลำดับเบสที่บริษัท FirstBase (ประเทศมาเลเซีย) จากนั้นนำข้อมูลลำดับเบสที่ได้มาตรวจสอบความถูกต้องเบื้องต้น โดยทำ Multiple alignment และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยโปรแกรม BioEdit (Version 7.2) พร้อมกับทำการเปรียบเทียบกับข้อมูลทางพันธุกรรมที่ปรากฏในฐานข้อมูลออนไลน์ของ NCBI ด้วยโปรแกรม Nucleotide BLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) เพื่อเปรียบเทียบ (alignment) ลำดับเบสของบริเวณยีนที่ศึกษา

ผลการศึกษา

1. สถานภาพของสมุนไพรกลุ่มจันทน์

จันทน์ชะมด จันทน์เทศ จันทนา จันทน์แดง และ

จันทน์ขาว เป็นกลุ่มไม้จันทน์ที่อยู่ในตำรายาสมุนไพรพิกัดจันทน์ทั้ง 5 ซึ่งในปัจจุบันต้นจันทน์บางชนิดหายาก จึงมีการนำไม้จันทน์ชนิดอื่นที่มีสรรพคุณใกล้เคียงกันมาใช้แทน จนอาจเข้าใจผิดว่าเป็นจันทน์ชนิดเดียวกัน จากการรวบรวมข้อมูลที่ศึกษา พบว่า ชื่อสามัญของต้นจันทน์บางชนิดมีชื่อพ้องที่ไปเหมือนกับจันทน์อื่น เช่น จันทน์ขาว เป็นชื่อพ้องกับต้นจันทนา (*Tarenna hoaensis* Pit. วงศ์ Rubiaceae) หรือต้นจัน (*Diospyros decandra* Lour. วงศ์ Ebenaceae)[13] นอกจากนี้จันทน์ขาวที่ใช้ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mansonia gagei* J.R. Drumm. ยังหมายถึงต้นจันทน์หอม ที่เป็นไม้สำหรับนำมาทำดอกไม้จันทน์และใช้ในงานพระราชพิธีถวายพระเพลิงพระบรมศพ รัชกาลที่ 9 และยังเป็นชื่อที่ใช้เรียกจันทน์ชะมด[14] อีกด้วย จึงทำให้การศึกษาข้อมูลอาจเกิดความสับสนในการนำตัวอย่างไปใช้ได้

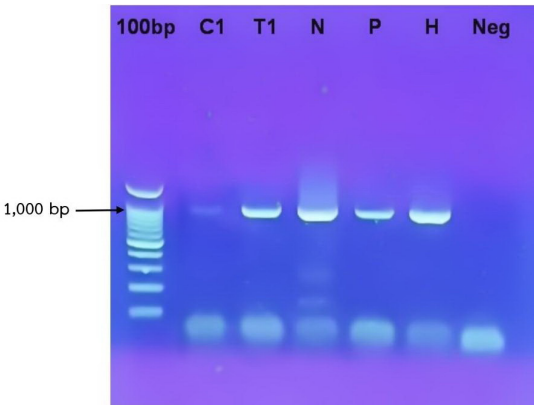
จากการสัมภาษณ์ ครูประถม ทองศรีรักษ์ แพทย์แผนไทยและเจ้าหน้าที่ประจำสวนสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดจันทบุรี ให้ข้อมูลว่า จันทน์แดง คือ จันทน์เทศป่า (*Myristica iners*) ซึ่งอยู่ในวงศ์จันทน์ป่า (Myristicaceae) โดยมีลักษณะคล้ายคลึงกับจันทน์เทศ (*Myristica fragans* Houtt.) แต่ต่างกันที่สีของรกหุ้มเมล็ด ส่วนจันทน์แดงที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pterocarpus santalinus* L.f. คือต้นจันทน์แดงอินเดีย เป็นพืชต่างประเทศ ซึ่งไม่นำมาใช้เป็นสมุนไพรของไทย นอกจากนี้ต้นจันทน์ขาวที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mansonia gagei* J.R. Drumm. คือต้นจันทน์ชะมดหรือต้นจันทน์หอมตามตำรับยาไทย นอกจากนี้จากการสอบถามผู้ช่วยผู้ใหญ่บ้านเขาหินขาว กล่าวว่า มีต้นจันทน์ขาวประมาณ 4-5 ต้น ในพื้นที่ป่าชุมชนเขาหินขาว โดยเป็นต้นที่จะตัดและนำไปใช้ประกอบในพระราชพิธีถวายพระเพลิงพระบรมศพ (รัชกาลที่ 9) จากข้อมูลการสัมภาษณ์แสดงให้เห็นว่าต้นจันทน์ขาวในพื้นนี้อาจจะเป็นต้นจันทน์หอม (*Mansonia gagei* J.R. Drumm.) ได้

นอกจากนี้จากข้อมูลของฐานข้อมูลพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์[15] ระบุว่าจันทน์ผา (*Dracaena loureiroi* Gagnep.) มีชื่อเรียกอื่นว่า จันทน์แดง หรือลักกะจันทน์ ตามตำรับยาไทยใช้แก่นที่มีเชื้อราลงจนทำให้แก่นมีสีแดงและมีกลิ่นหอม รวมถึงยังมีการระบุว่าจันทน์แดงเป็นการเรียกตามส่วนแก่นไม้ด้านในของต้นจันทน์ผาที่เปลี่ยนเป็นสีแดง โดยต้นเมื่อมีอายุมากขึ้นแก่นจะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีแดง จึงเรียกแก่นสีแดงว่า “จันทน์แดง“ เมื่อแก่นเป็นสีแดงเต็มต้น ต้นจะค่อย ๆ โทรมและตายลง[16] ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงนำตัวอย่าง จันทน์ผามาหาข้อมูลลำดับเบสเพิ่มเติมด้วย

2. การศึกษายีน *rbc*L ในสมุนไพรกลุ่มจันทน์

จากการนำไพรเมอร์ที่ออกแบบได้ไปใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณยีนที่ต้องการด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบว่า สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณยีน *rbc*L *ได้* ซึ่งได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,000 คู่เบส (ภาพที่ 1) จากนั้นผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ถูกนำไปทำให้บริสุทธิ์ (PCR Purification) และส่งตัวอย่างวิเคราะห์หาลำดับเบสที่บริษัท FirstBase (ประเทศมาเลเซีย) จากนั้นทำการเปรียบเทียบความสอดคล้องของข้อมูลทางพันธุกรรมกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลออนไลน์ GenBank ได้ผลแสดงดังตารางที่ 1 และมีรายละเอียดดังนี้

ตัวอย่างจันทน์เทศ (T1) มีลำดับเบสที่วิเคราะห์ได้จำนวน 932 คู่เบส เมื่อนำลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลทางพันธุกรรมที่ปรากฏในฐานข้อมูลออนไลน์ของ NCBI ด้วยโปรแกรม Nucleotide



ภาพที่ 1 ผลการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซีสโดยใช้คู่ไพรเมอร์บริเวณยีน *rbc*L ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ (ช่องที่ 1 คือ 100bp DNA Ladder RTU Marker ช่องที่ 2-6 คือ จันทน์ชะมด (C1) จันทน์เทศ (T1) จันทนา (N) จันทน์แดง (P) และจันทน์ขาว (H) ตามลำดับ ช่องที่ 7 คือ negative control)

BLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) พบว่า ลำดับเบสของตัวอย่างจันทน์เทศมีความคล้ายคลึงกับยีน *rbc*L ของพืชใบเลี้ยงคู่ในวงศ์จันทน์เทศ Myristicaceae โดยมีจำนวนของลำดับเบสตรงกับต้นเลือดม้า (*Knema* sp.) (Accession number AB586432.1 และ AB586431.1) (99.89%) และต้นจันทน์เทศ (*Myristica fragrans*) (Accession number AY298839.1) (99.89%) สูงที่สุด

ตัวอย่างจันทนา (N) มีลำดับเบสที่วิเคราะห์ได้จำนวน 919 คู่เบส โดยลำดับเบสของตัวอย่างจันทนามีความคล้ายคลึงกับยีน *rbc*L ของพืชในวงศ์เข็ม Rubiaceae โดยมีจำนวนของลำดับเบสตรงกับ *Tarenna buruensis* (Accession number AJ318457.1) (98.69%) และ *T. neurophylla* (Accession number Z68861.1) (98.69%) สูงที่สุด

ตัวอย่างจันทน์แดง (P) มีลำดับเบสที่วิเคราะห์ได้จำนวน 874 คู่เบส มีลำดับเบสความคล้ายคลึงกับยีน *rbc*L ของพืชในวงศ์จันทน์เทศ Myristicaceae โดยมีจำนวนของลำดับเบสตรงกับต้นเลือดม้า (*Knema* sp.) (Accession number AB586432.1 และ AB586431.1) (99.43%) และต้นจันทน์เทศ (*Myristica fragrans*) (Accession number AY298839.1) (99.43%) สูงที่สุด และจากการศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมยังพบว่าจันทน์แดง คือ ต้นจันทน์ผา (*Dracaena loureiri* Gagnep.) ที่มีเชื้อราลงแก่นทำให้แก่นเปลี่ยนเป็นสีแดง จึงเรียกว่า จันทน์แดง ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงนำตัวอย่างจันทน์ผา (ph2) มาวิเคราะห์หาลำดับเบสเพิ่มเติม โดยพบว่าจันทน์ผา (ph2) มีลำดับเบสที่วิเคราะห์ได้จำนวน 795 คู่เบส และลำดับเบสมีความคล้ายคลึงกับยีน *rbc*L ของพืชในวงศ์หน่อไม้ฝรั่ง (Asparagaceae) โดยมีจำนวนของลำดับเบสตรงกับพืชกลุ่มจันทน์ผา ได้แก่ ต้น *Dracaena cambodiana* (Accession number NC_039776.1 และ MH293451.1) (99.48%) และต้น *Dracaena schizantha* (Accession number HM640469.1) (99.35%) สูงที่สุด

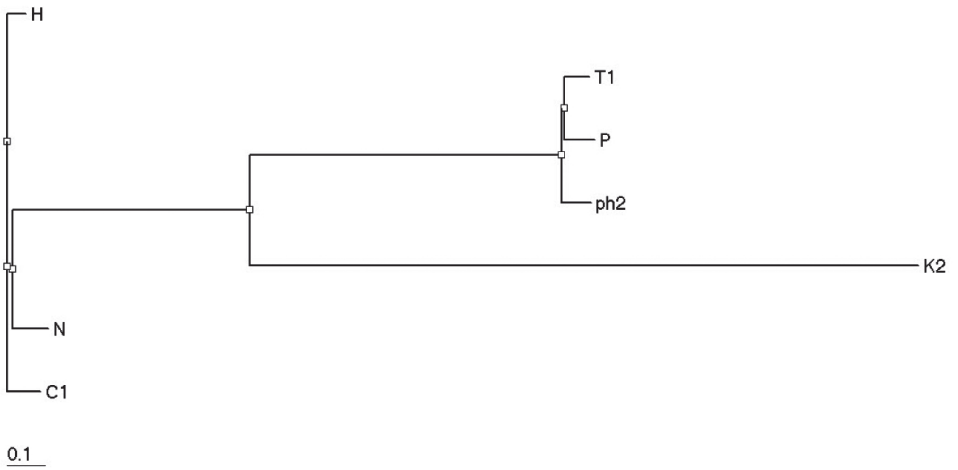
ส่วนตัวอย่างจันทน์ขาวมีจำนวน 2 ตัวอย่าง (จากพื้นที่ต่างกัน) โดยจันทน์ขาวตัวอย่างแรก (H) มีลำดับเบสที่วิเคราะห์ได้จำนวน 902 คู่เบส และมีความคล้ายคลึงกับยีน *rbc*L ของพืชในวงศ์ชบา Malvaceae โดยมีจำนวนของลำดับเบสตรงกับต้น *Luehea paniculata* (Accession number KX640864) (98.89%) และต้น *Helicteres baruensis* (Accession number AJ233127.1) (98.89%) สูงที่สุด ส่วนจันทน์ขาวตัวอย่างที่สอง (K2) มีลำดับเบสที่วิเคราะห์ได้จำนวน 789 คู่เบส และลำดับเบสของตัวอย่างจันทน์ขาวมีความคล้ายคลึงกับยีน *rbc*L ของพืชในวงศ์กระบก (Irvingiaceae) โดยมีจำนวนของลำดับเบส

ตารางที่ 1 ข้อมูลความสอดคล้องของลำดับเบสบริเวณ *rbc*L ของตัวอย่างต้นจันทน์กับฐานข้อมูล GenBank

Sample	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
จันทน์เทศ (T1)	*Knema* sp. SH-2010 chloroplast gene for ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit, partial cds, isolate: T362	1666	1666	99%	0.0	99.89%	AB586432.1
	Knema sp. SH-2010 chloroplast gene for ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit, partial cds, isolate: A327	1666	1666	99%	0.0	99.89%	AB586431.1
	Myristica fragrans ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit (*rbc*L) gene, partial cds; chloroplast	1666	1666	99%	0.0	99.89%	AY298839.1
จันทนา (N)	*Tarenna buruensis* chloroplast partial *rbc*L gene for ribulose 1,5-biphosphate carboxylase	1597	1597	99%	0.0	98.69%	AJ318457.1
	*T. neurophylla rbc*L gene	1597	1597	99%	0.0	98.69%	Z68861.1
	Pavetta hongkongensis ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit (*rbc*L) gene, partial cds; chloroplast	1592	1592	99%	0.0	98.59%	KX910889.1
จันทน์แดง (P)	*Knema* sp. SH-2010 chloroplast gene for ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit, partial cds, isolate: T362	1551	1551	100%	0.0	99.43%	AB586432.1
	Knema sp. SH-2010 chloroplast gene for ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit, partial cds, isolate: A327	1551	1551	100%	0.0	99.43%	AB586431.1
	Myristica fragrans ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit (*rbc*L) gene, partial cds; chloroplast	1551	1551	100%	0.0	99.43%	AY298839.1
จันทน์ผา (ph2)	*Dracaena cambodiana* chloroplast, complete genome	1362	1362	96%	0.0	99.48%	NC_039776.1
	Dracaena cambodiana chloroplast, complete genome	1362	1362	96%	0.0	99.48%	MH293451.1
	Dracaena schizantha voucher Chase 21514(K) ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (*rbc*L) gene, partial cds; chloroplast	1358	1358	96%	0.0	99.35%	HM640469.1
จันทน์ขาว (H)	*Luehea paniculata* voucher BOLLC121 ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (*rbc*L) gene, partial cds; chloroplast	1579	1579	100%	0.0	98.89%	KX640864.1
	Helicteres baruensis chloroplast *rbc*L gene, partial	1579	1579	100%	0.0	98.89%	AJ233127.1
	Reevesia thyrsoidea chloroplast, complete genome	1574	1574	100%	0.0	98.78%	NC_041441.1

ตารางที่ 1 (ต่อ) ข้อมูลความสอดคล้องของลำดับเบสบริเวณ *rbc*L ของตัวอย่างต้นจันทน์กับฐานข้อมูล GenBank

Sample	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
จันทน์ขาว (K2)	*Irvingia malayana* ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit (*rbc*L) gene, partial cds; chloroplast	1362	1362	99%	0.0	98.85%	JX664054.1
	Irvingia malayana chloroplast rbcL gene for ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit, partial cds	1362	1362	99%	0.0	98.85%	AB233892.1
	Desbordesia glaucescens ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase large subunit (*rbc*L) gene, partial cds; chloroplast	1344	1344	99%	0.0	98.34%	AY663631.1
จันทน์ชะมด (C1)	*Aglaia* sp. SH-2010 chloroplast gene for ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit, partial cds, isolate: T242	1340	1340	97%	0.0	99.08%	AB586405.1
	Aglaia sp. SH-2010 chloroplast gene for ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit, partial cds, isolate: A302	1340	1340	97%	0.0	99.08%	AB586404.1
	Aglaia elaeagnoidea ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase (*rbc*L) gene, partial cds; chloroplast gene for chloroplast product	1340	1340	97%	0.0	99.08%	AY128209.1



ภาพที่ 2 สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการภายในกลุ่มของจันทน์ทั้ง 5 ชนิด (7 ตัวอย่าง) (จันทน์ชะมด (C1) จันทน์เทศ (T1) จันทนา (N) จันทน์แดง (P และ ph2) และจันทน์ขาว (H และ K2))

ตรงกับพืชกลุ่มกระบก ได้แก่ ต้นกระบก (*Irvingia malayana)* (Accession number JX664054.1 และ AB233892.1) (98.85%) และต้น *Desbordesia glaucescens* (Accession number AY663631.1) (98.34%) สูงที่สุด

ตัวอย่างต้นจันทน์ชะมด (C1) มีลำดับเบสที่วิเคราะห์ได้จำนวน 778 เบส และเมื่อนำลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลทางพันธุกรรมที่ปรากฏในฐานข้อมูลออนไลน์ พบว่า ลำดับเบสของตัวอย่างจันทน์ชะมดมีความคล้ายคลึงกับยีน *rbc*L ของพืชในวงศ์กระท้อน (Meliaceae) มีจำนวนของลำดับเบสตรงกับต้น *Aglaia* sp. (Accession number AB586405.1 และ AB586404.1) (99.08%) และต้น *Aglaia elaeagnoidea* (Accession number AY128209.1) (99.08%) สูงที่สุด

นอกจากนี้จากการนำข้อมูลลำดับเบสของตัวอย่างต้นจันทน์ทั้ง 5 ชนิด (7 ตัวอย่าง) มาทำการเปรียบเทียบสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการภายในกลุ่ม พบว่าความสัมพันธ์สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มที่มีความใกล้ชิดกัน ได้แก่ กลุ่มที่ 1 คือ จันทน์ชะมด (C1) จันทนา (N) และจันทน์ขาว (H) กลุ่มที่ 2 คือ จันทน์แดง (ph2) จันทน์แดง (P) และจันทน์เทศ (T1) ส่วนกลุ่มที่ 3 คือ จันทน์ขาว (K2) (ภาพที่ 2) ซึ่งจากข้อมูลการเปรียบเทียบลำดับเบสกับฐานข้อมูล GenBank แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างจันทน์ที่มีชื่อเรียกเหมือนกันอาจเป็นคนละชนิดกัน อย่างเช่นกรณีของต้นจันทน์ขาว 2 ตัวอย่าง (H และ K2) ที่มีชื่อเรียกเหมือนกัน แต่เมื่อพิจารณาจากลักษณะทางพฤกษศาสตร์และข้อมูลลำดับเบส พบว่า มีความแตกต่างกันโดยสิ้นเชิง

อภิปรายผล

จากการศึกษาข้อมูลของสมุนไพรพิกัดจันทน์ทั้ง 5 ที่ต้นจันทน์บางชนิดมีชื่อสามัญพ้องกับพืชหลายชนิด ทำให้การเก็บตัวอย่างหรือการนำมาใช้อาจเกิดความผิดพลาดได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจในการนำลักษณะทางพันธุกรรมมาใช้ในการช่วยระบุชนิดของต้นจันทน์ที่อาจมีข้อมูลปรากฏอยู่ในฐานข้อมูล GenBank โดยพิจารณาจากลักษณะทางพฤกษศาสตร์และเก็บตัวอย่างต้นจันทน์ต่าง ๆ ตามชื่อเรียกท้องถิ่นมาหาข้อมูลทางพันธุกรรมโดยใช้ยีนบริเวณ *rbc*L ซึ่งถือว่าเป็นยีนหนึ่งในบริเวณมาตรฐานของ Core barcode regions และมีการนำไปใช้ระบุชนิดของพืชอย่างกว้างขวาง โดยผลการวิจัย พบว่า ต้นจันทน์เทศ และจันทนามีความชัดเจนในการเรียกชื่อและระบุชนิด รวมถึงมีข้อมูลลำดับเบสของยีน *rbc*L ที่มีความสอดคล้องกับพืชในกลุ่มจันทน์เทศและจันทนาในฐานข้อมูล GenBank ทำให้ต้นจันทน์ 2 ชนิดนี้เกิดความชัดเจนในการระบุชื่อและสามารถนำตัวอย่างไปใช้เป็นเครื่องยาได้ถูกต้องมากขึ้น

ส่วนจันทน์ชะมดมีการใช้ชื่อเรียกอื่นและชื่อวิทยาศาสตร์ที่แตกต่างกันอยู่บ้าง เช่น การศึกษาที่ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของเครื่องยาจันทน์ชะมดด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบเยื่อบาง จากการสุ่มตัวอย่างจากร้านขายยาไทยจากทุกภูมิภาคของประเทศไทยจำนวน 17 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงของจันทน์ชะมด (*Mansonia gagei*) และตัวอย่างอ้างอิงของพืชชนิดอื่นที่มีชื่อพ้องกับจันทน์ชะมด (*Santalum album*, *Aglaia pyramidata*, *Tarenna hoaensis* และ *Diospyros decandra*) พบว่า เครื่องยาทุกตัวอย่างมีลายพิมพ์ขององค์ประกอบทางเคมีเหมือนกับพืชที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *M. gagei* และพบสาร mansonone G ที่เป็นองค์ประกอบของพืชชนิดนี้ ซึ่งสาร mansonone G จะไม่พบในพืชอ้างอิงชนิดอื่น แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่จำหน่ายในร้านขายยาไทย

เป็นจันทน์ชะมดที่ได้จากแก่นของ *M. gagei* ไม่ใช่จากแก่นของ *S. album*, *A. pyramidata*, *T. hoaensis* และ *D. decandra*[5] จันทน์ชะมดเป็นเครื่องยาไทยที่มีชื่อเรียกและชื่อพ้องกับพืชสมุนไพรมากกว่าหนึ่งชนิด ทำให้เกิดความสับสนถึงชนิดทางพฤกษศาสตร์ที่ถูกต้องของเครื่องยาชนิดนี้ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลจากครูประถม ทองศรีรักษ์ แพทย์แผนไทยและเจ้าหน้าที่ประจำสวนสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดจันทบุรี ที่กล่าวว่าต้นจันทน์ขาวที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *M. gagei* J.R. Drumm. คือต้นจันทน์ชะมดหรือต้นจันทน์หอมตามตำรับยาไทย แต่จากการพิจารณาลักษณะทางพฤกษศาสตร์และข้อมูลลำดับเบสที่มีการเทียบเคียงในฐานข้อมูล GenBank ของตัวอย่างจันทน์ชะมดในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าจันทน์ชะมดในงานวิจัยนี้เป็นชนิด *A. silvestris* (M. Roem.) Merr. ซึ่งเป็นจันทน์ชะมดคนละชนิดกับ *M. gagei* ที่ใช้ในตำรับยาไทย

ส่วนจันทน์ขาวที่มีการเรียกชื่อพ้องจำนวนมาก เช่น มีการใช้เรียกพืชสกุล *S. album* L. ว่าคือจันทน์ขาว หรือสมุนไพรจันทน์ขาวที่มีขายตามท้องตลาดอาจเป็นแก่นของกระพี้ของต้นจันทนา (*T. hoaensis* Pit. วงศ์ Rubiaceae) หรือต้นจัน (*D. decandra* Lour. วงศ์ Ebenaceae) แต่ยังไม่มีรายงานว่ากระพี้ของต้นจันทนาและเนื้อไม้ของต้นจันมีสรรพคุณเดียวกันกับจันทน์ขาว (*S. album* L.)[13] และจากข้อมูลพรรณไม้ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี[17] ยังระบุว่า *M. gagei* J.R. Drumm. คือ จันทน์หอม แต่มีชื่ออื่นว่า จันทน์ จันทน์ชะมด (ประจวบคีรีขันธ์) จันทน์ขาว จันทน์พม่า จันทน์หอม (ภาคกลาง) อีกด้วย โดยในหนังสือ "ชื่อพรรณไม้ในประเทศไทย ของเต็ม สมิตินันทน์" เป็นเอกสารที่นิยมนำมาใช้ในการอ้างอิงชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชชนิดต่าง ๆ ยังไม่มีการระบุจันทน์ขาวเป็นชื่อหลักของพืชชนิดใด พบแต่เป็นชื่อพ้องของพืช 2 ชนิด ได้แก่ จันทนา (*T. hoaensis* Pit. วงศ์ Rubiaceae) และจัน (*D. decandra* Lour. วงศ์ Ebenaceae)[18] แต่หากยึดตามชื่อวิทยาศาสตร์ของจันทน์ขาวที่ใช้ชื่อว่า *M. gagei* Drumm. จะปรากฏว่าเป็นไม้จันทน์หอม มีชื่อเรียกอื่นว่า จันทน์ จันทน์ชะมด จันทน์ขาว หรือจันทน์พม่า[19] ซึ่งเป็นไม้คนละชนิดกับต้นจัน หรืออินจัน (*D. decandra* Lour.)

จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการใช้สมุนไพรจันทน์ขาวมีความสับสนในการเรียกชื่อและการนำตัวอย่างมาใช้ในตำรับยาไทย ซึ่งในปัจจุบันมีการศึกษาที่พบว่า ตัวอย่างจันทน์ขาวและจันทนาส่วนใหญ่ (ร้อยละ 68) มีโครมาโทกราฟฟี่แบบเยื่อบางเหมือนกับ *T. hoaensis* แต่มีจันทน์ขาว 1 ตัวอย่าง ที่มีโครมาโทกราฟฟี่แบบเยื่อบางเหมือน *S. spicatum* และมีจันทน์ขาวและจันทนาจำนวน 8 ตัวอย่างที่ไม่สามารถพิสูจน์ชนิดทางพฤกษศาสตร์ แต่จำแนกตามรูปแบบของโครมาโทแกรมได้เป็น 3 ชนิด แสดงให้เห็นว่าเครื่องยาจันทน์ขาวและจันทนาที่มีจำหน่ายในปัจจุบันได้จากพืช 5 ชนิด โดยส่วนใหญ่คือแก่นของพืชที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *T. hoaensis*[13] ซึ่งคือแก่นของต้นจันทนา (*T. hoaensis*) แต่หากเป็นจันทน์ขาวที่ใช้ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *M. gagei* Drumm. จะปรากฏว่าเป็นไม้จันทน์หอม ส่วนในงานวิจัยนี้ต้นจันทน์ขาวที่เก็บตัวอย่างมาจำนวน 2 ชนิด โดยต้นจันทน์ขาวตัวอย่างแรก (H) มีข้อมูลทางพันธุกรรมที่สอดคล้องกับพืชในวงศ์ชบา Malvaceae โดยมีจำนวนของลำดับเบสตรงกับต้น *Luehea paniculata* (Accession number KX640864) (98.89%) และต้น *Helicteres baruensis* (Accession number AJ233127.1)

(98.89%) สูงที่สุด ส่วนจันทน์ขาวตัวอย่างที่สอง (K2) มีความคล้ายคลึงกับยีน *rbc*L ของพืชกลุ่มกระบก ได้แก่ ต้นกระบก (*Irvingia malayana)* (Accession number JX664054.1 และ AB233892.1) (98.85%) และต้น *Desbordesia glaucescens* (Accession number AY663631.1) (98.34%) สูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าต้นจันทน์ขาวทั้ง 2 ตัวอย่างที่มีการเรียกกันในท้องถิ่นไม่ใช่จันทน์ขาวที่นำมาใช้ในตำรับยาไทยหรืออาจเป็นเพราะยังไม่มีข้อมูลทางพันธุกรรมของจันทน์ขาวบรรจุอยู่ในฐานข้อมูล GenBank

ส่วนจันทน์แดง (*Pterocarpus santalinus* L.f.) ปัจจุบันหายาก ราคาแพง และต้องนำเข้าจากประเทศอินเดีย แพทย์แผนไทยจึงได้นำจันทน์ผา หรือลักจั่น (*Dracaena loureiroi* Gagnep.) มาใช้แทน จนเป็นที่เข้าใจโดยทั่วไปว่าจันทน์ผา หรือลักจั่น คือ จันทน์แดง (*P. santalinus* L.f.) ในตำราแพทย์และเภสัชกรรมแผนไทยตั้งแต่สมัยรัตนโกสินทร์ตอนต้นจนถึงปัจจุบัน[20] ซึ่งตัวอย่างจันทน์แดงในงานวิจัยนี้จำนวน 2 ชนิด ตัวอย่างแรก (P) มีลำดับเบสความคล้ายคลึงกับยีน *rbc*L ของพืชในวงศ์จันทน์เทศ Myristicaceae ซึ่งสอดคล้องกับบทสัมภาษณ์ของครูประถม ทองศรีรักษ์ แพทย์แผนไทยและเจ้าหน้าที่ประจำสวนสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดจันทบุรี ที่ให้ข้อมูลว่าจันทน์แดง คือ จันทน์เทศป่า (*Myristica iners*) ซึ่งอยู่ในวงศ์จันทน์เทศ (Myristicaceae) โดยมีลักษณะคล้ายคลึงกับจันทน์เทศ (*Myristica fragans* Houtt.) แต่ต่างกันที่สีของรกหุ้มเมล็ด แสดงให้เห็นว่าจันทน์แดงตัวอย่างแรก (P) อาจเป็นจันทน์ป่า แต่เนื่องจากตัวอย่างที่เก็บมายังเป็นต้นกล้าซึ่งยังไม่ปรากฏดอกและผลให้เห็นจึงยังไม่สามารถใช้ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ในการยืนยันชนิดได้ ส่วนจันทน์แดงตัวอย่างที่สอง (ph2) มีจำนวนของลำดับเบสตรงกับพืชกลุ่มจันทน์ผา ได้แก่ ต้น *Dracaena cambodiana* (Accession number NC_039776.1 และ MH293451.1) (99.48%) สูงที่สุด ซึ่งเมื่อพิจารณาจากลักษณะทางพฤกษศาสตร์แล้วมีลักษณะของต้นจันผา จึงมีความเป็นไปได้ว่าจันทน์แดงตัวอย่างที่สอง (ph2) อาจเป็นต้นจันผา

จากการหาลำดับเบสบริเวณยีน *rbc*L เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของสิ่งมีชีวิตใน GenBank สามารถแสดงความสอดคล้องของข้อมูลกับพืชที่อาจอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับตัวอย่างจันทน์ที่ศึกษา ซึ่งช่วยในการยืนยันชื่อวิทยาศาสตร์และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของตัวอย่างที่ได้จากการสัมภาษณ์ปราชญ์ชาวบ้านและแพทย์แผนไทยได้ แสดงให้เห็นว่าการใช้ยีน *rbc*L สามารถนำมาช่วยในการระบุชนิดสำหรับพืชกลุ่มจันทน์ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรณีที่พืชมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่ใกล้เคียงกัน อย่างเช่น กรณีของต้นจันทน์เทศ (T) และต้นจันทน์แดง (P) ที่อาจอยู่ในกลุ่มเดียวกันแต่มีความแตกต่างกันที่ลักษณะสีของรกในผล นอกจากนี้การใช้ยีน *rbc*L วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวมีสี 10 สายพันธุ์ พบว่ามีประสิทธิภาพดีกว่ายีน *rpo*C1[21] แต่อย่างไรก็ตามยังมีข้อมูลการใช้ยีนชนิดอื่นในการระบุชนิดของสมุนไพรที่อาจมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ยีน *rbc*L ด้วย เช่น ยีนบริเวณ *trn*H-*psb*A intergenic spacer สามารถระบุชนิดของพืชสกุลขี้เหล็ก (*Senna*) ได้เช่นเดียวกับยีน *rbc*L แต่บริเวณ *trn*H-*psb*A intergenic spacer ใช้ระบุชนิดของสมุนไพรแปรรูปได้ดีที่สุด[11] แสดงให้เห็นว่าการใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมของดีเอ็นเอบาร์โค้ดสามารถช่วยในการระบุชนิดได้ แต่ควรใช้ข้อมูลอื่นประกอบด้วย เช่น ข้อมูลระดับโมเลกุลอื่น ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พฤติกรรมสิ่งแวดล้อม และภูมิศาสตร์ เป็นต้น[22]

ข้อสรุป

จากการศึกษาการหาลำดับเบสบางส่วนของสมุนไพรหายากพิกัดจันทน์ทั้ง 5 โดยใช้บริเวณยีน *rbc*L สามารถนำมาใช้ออกแบบไพรเมอร์เพื่อเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของจันทน์ทั้ง 5 ชนิดได้ และเมื่อทำการวิเคราะห์ลำดับเบสเปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูล GenBank สามารถแสดงความสอดคล้องกับพืชที่มีบรรจุในฐานข้อมูลดังกล่าว ทำให้ช่วยในการระบุชนิดสำหรับพืชกลุ่มจันทน์ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรณีที่พืชมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่ใกล้เคียงกันและอยู่ในระยะการเจริญเติบโตที่ยังไม่สามารถผลิดอกออกผลสำหรับใช้ในการจำแนกทางพฤกษศาสตร์ได้ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ยีนเพียงบริเวณเดียว อาจยังไม่เพียงพอต่อการระบุชนิดของพืชต่าง ๆ ได้ชัดเจนนักหรือยีนบริเวณดังกล่าวมีการวิจัยจำนวนน้อยจึงอาจทำให้ผลการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบสไม่สอดคล้องกับกลุ่มพืชที่สนใจ ดังนั้นจึงควรใช้ยีนบริเวณอื่นเพิ่มเติมหรือมีข้อมูลอื่นประกอบด้วยเพื่อให้สามารถระบุชนิดของพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

References

1. Sapakhun S, Chaleanlap K, Boonreung S, Panbamrung P, Kiedkangvanklai A, Ananwarapong P, Chamniensri C, Klinthong N. The study of biodiversity of mangrove forests in the Pak Nam Welu area, Khlung District, Chanthaburi Province. In research report of Rajamangala University of Technology Krungthep. Bangkok: 2007. (in Thai)
2. National Parks Research Center. Biodiversity of forests and wildlife in the ecological corridor between Khao Khitchakut national park and Khao Soi Dao wildlife sanctuary, Chanthaburi province. In national park research report 13(4). National Park Innovation and Research Center, Phetchaburi Province, Phetchaburi: 2016. p. 20-30. (in Thai)
3. Notification of the Ministry of Public Health. Management plan for protecting herbs in Phu Pha Kood conservation area, Mukdahan province: According to the protection and promotion of Thai traditional medicine knowledge protection and promotion act traditional Thai medicine wisdom 1999. Ministry of Public Health, Bangkok: 2008. (in Thai)
4. Database of Plants in the Project due to the Initiative of the Chaipattana Foundation. Gold apple. [Internet]. n.d. [cited 2020 July 1]; Available from: http://punmai.chaipat.or.th/view-detail.php?region=2&pid=21&id=89. (in Thai)
5. Srisopon S, Burana-osot J, Sotanaphun U. Identification of Chan-Chamot by Thin Layer Chromatography. Thai Bulletin of Pharmaceutical Sciences. 2016;11(1):47-57. (in Thai)
6. Medthai. Chan Thet: 54 properties and benefits of Chan Thet and Look Chan. [Internet]. 2017 [cited 2021 March 4]: Available from: https://medthai.com/จันทน์เทศ (in Thai)
7. Picheansoonthon C, Manmas C, Jeerawong V. Description of the Phra Narai Vishnu in honor of the 72nd Anniversary of the Maharaja, December 5, 1999. Bangkok: Amarin Printing and Publishing; 2015. (in Thai).
8. Gardner S, Sitthisoontorn P, Chayamarit K. Forest trees of Southern Thailand. Bangkok: Kobfire printing project; 2016. (in Thai).
9. Plunkett GM, Soltis DE, Soltis PS. Clarification of the relationship between Apiaceae and Araliaceae based on *mat*K and *rbc*L sequence data. American Journal of Botany. 1997;84:565-80.
10. Hollingsworth PM, Forrest LL, Spouge JL, Hajibabaei M, Ratnasingham S, van der Bank M, Chase MW, Cowan RS, Erickson DL, Fazekas AJ, Graham SW, James KE, Kim KJ, Kress WJ, Schneider H, van Alphen Stahl J, Barrett SC, van den Berg C, Bogarin D, Burgess KS, Cameron KM, Carine M, Chacôn J, Clark A, Clarkson JJ, Conrad F, Devey DS, Ford CS, Hedderson TA, Hollingsworth ML, Husband BC, Kelly LJ, Kesanakurti PR, Kim JS, Kim

YD, Lahaye R, Lee HL, Long DG, Madriòân S, Maurin O, Meusnier I, Newmaster SG, Park CW, Percy DM, Petersen G, Richardson JE, Salazar GA, Savolainen V, Seberg O, Wilkinson MJ, Yi DK, Little DP. A DNA barcode for land plants. 2009;PNAS106(31):12794-7.

11. Monkhrang P, Chaveerach A, Tanee T, Sudmoon R. DNA Barcode for Identification of Processes Medicinal *Senna* species. KKU Research Journal. 2013;13(2):18-30. (in Thai)
12. Rozen S, Skaletsky H. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers, In: Krawetz S, Misener S, editors. Bioinformatics methods and protocols: methods in molecular biology. Totowa, New Jersey: Humana Press; 2000.
13. Committee for Thai Herbs Textbook. Chan Thang Song. Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine. 2017;15(1):104-16.
14. Forest Herbarium. Concise encyclopedia of plants in Thailand. [Internet]. 2016. [cited 2019 May 30]; Available from: https://www.dnp.go.th/botany/detail.aspx?words=จันทน์ชะมด&typeword=group (in Thai)
15. BGO Plant Database, The Botanical Garden Organization. Medicinal plants database. [Internet]. 2011 [cited 2020 January 12]; Available from: http://www.qsbg.org/Database/plantdb/mdp/medicinal-specimen.asp?id=729 (in Thai)
16. Medthai. Chan Pha: 26 Properties and benefits of Chan Pha. [Internet]. 2017 [cited 2020 April 7]: Available from: https://medthai.com/จันทน์ผา/ (in Thai)
17. Plant Genetic Conservation Project Under The Royal initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn. Plant data. [Internet]. n.d. [cited 2020 May 10]: Available from: http://www.rspg.or.th/plants_data/palace/chitralada/cld6-2_092.htm (in Thai)
18. Srisopon S, Burana-osot J, Sotanaphun U. Botanical identification of Chan-Khao and Chan-Thana by Thin-Layer Chromatography. Thai Pharmaceutical and Health Science Journal. 2015;10(1):19-24. (in Thai)
19. Smitinand T. Thai plant names (botanical names-vernacular names). Forest Herbarium, Royal Forest Department, Bangkok: 1980. (in Thai)
20. Picheansoonthon C, Wichai N. The botanical source of Chan-Deang. The Journal of the Royal Society of Thailand. 2004;29(1):25-35. (in Thai)
21. Thanananta N, Sumrith J, Thanananta T. Analysis of genetic relationship of colored rice cultivars using DNA sequences of *rbc*L and *rpo*C1 genes. Thai Science and Technology Journal. 2014;22(5)(Special Issue):674-82. (in Thai)
22. Krishnamurthy K, Francis RA. A critical review on the utility of DNA barcoding in biodiversity conservation. Biodiversity and Conservation. 2012;21(8):1901-19.