การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) ในประเทศไทย

โดย
นางสาวปิยาภรณ์ วงศ์อักษร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) ในประเทศไทย

โดย
นางสาวปิยาภรณ์ วงศ์อักษร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

APPLYING DNA BARCODES FOR IDENTIFICATION OF PLANT SPECIES IN THE FAMILY ACANTHACEAE IN THAILAND

By

Miss Piyaporn Wongakson

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

Master of Science Program in Pharmaceutical Sciences

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2015

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) ในประเทศไทย ” เสนอโดย นางสาวปิยาภรณ์ วงศ์อักษร เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศนวงศ์)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

1. เภสัชกรหญิง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุษบา เผ่าทองจีน
2. เภสัชกร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรวง รุ่งประกายพรรณ

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ทองภักดี)
...../...../.....

..... กรรมการ
(เภสัชกรหญิง รองศาสตราจารย์ ดร. ร้อยตำรวจเอกหญิง สุชาดา สุขหร่อง)
...../...../.....

..... กรรมการ
(เภสัชกร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พีรยศ ภมรศิลปธรรม)
...../...../.....

..... กรรมการ
(เภสัชกรหญิง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุษบา เผ่าทองจีน)
...../...../.....

..... กรรมการ
(เภสัชกร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรวง รุ่งประกายพรรณ)
...../...../.....

55361203 : สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์
คำสำคัญ : Acanthaceae/DNA barcode/ITS2/*psb*A-*trn*H/*trn*L-*trn*F

ปิยาภรณ์ วงศ์อักษร : การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) ในประเทศไทย. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ภญ.ผศ.ดร.บุษบา เผ่าทองจีน และ ภก.ผศ.ดร.สรวง รุ่งประกายพรรณ. 178 หน้า.

การระบุชนิดพืชสมุนไพรให้ถูกต้องมีความสำคัญมากในการควบคุมและตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพร ในการศึกษานี้ได้นำเอาหลักการของดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาใช้ในการระบุชนิดพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยและประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบผลิตภัณฑ์สมุนไพรจากพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในท้องตลาด โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาและรวบรวมพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในประเทศไทยได้ทั้งหมด 24 สกุล 58 ชนิด ทำการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอโดยสามารถสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอได้จากพืชทุกตัวอย่าง แล้วทำการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด 3 ตำแหน่ง ได้แก่ internal transcribed spacer 2 (ITS2), *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F intergenic spacers พบว่า การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 ได้ชิ้นดีเอ็นเอขนาดประมาณ 500 คู่เบส มีค่าความสำเร็จร้อยละ 93.1 ส่วนดีเอ็นเอบริเวณ *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F มีขนาดประมาณ 450-500 คู่เบส และ 450 คู่เบส ตามลำดับ โดยมีความสำเร็จร้อยละ 89.7 ทั้งสองบริเวณ นำเอาข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่อ่านได้และตรวจสอบความถูกต้องด้วยโปรแกรม Bioedit เวอร์ชั่น 7.0.8.0 บันทึกไว้ในฐานข้อมูล Genbank โดยร้อยละความสำเร็จในการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 มีค่า 83.0 ส่วนบริเวณ *psb*A-*trn*H และ *trn*L- *trn*F มีค่า 86.5 ทั้งสองบริเวณ เมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วพบว่าตำแหน่ง ITS2 มีความยาวเฉลี่ย 225±17.4 คู่เบส และมีปริมาณ GC เฉลี่ยร้อยละ 63.1±3.8 ตำแหน่ง *psb*A-*trn*H มีความยาวเฉลี่ย 362±85.8 คู่เบส และมีปริมาณ GC เฉลี่ยร้อยละ 31.5±1.9 และตำแหน่ง *trn*L-*trn*F มีความยาวเฉลี่ย 335±22.8 คู่เบส และมีปริมาณ GC เฉลี่ยร้อยละ 40.2±1.1 เมื่อทำการเปรียบเทียบ ค่า K2P distance ด้วยโปรแกรม MEGA เวอร์ชั่น 6.06 ระหว่างชนิดพืชในตัวอย่างพืช 3 สกุล ได้แก่ *Barleria, Justicia* และ *Thunbergia* พบว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 มีความแตกต่างมากที่สุดโดยมีค่า K2P distance เฉลี่ย 0.427 ส่วนตำแหน่ง *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F มีค่า 0.098 และ 0.053 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 มีความเหมาะสมที่สุดในการใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ และเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการระบุชนิดพืชวงศ์นี้ให้มากขึ้นจึงเสนอให้ใช้ดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 และ *psb*A-*trn*H ร่วมกัน นอกจากนั้นเมื่อนำเอาฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดทั้ง 3 ตำแหน่งมาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบผลิต ภัณฑ์สมุนไพรรางจืดที่พบในท้องตลาด พบว่าฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่จัดทำขึ้นสามารถใช้ในการระบุชนิดผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้

สาขาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศิลปากร
ลายมือชื่อนักศึกษา..... ปีการศึกษา 2558
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. ..... 2. .....

55361203 : MAJOR : PHARMACEUTICAL SCIENCES
KEY WORD : ACANTHACEAE/DNA BARCODE/ITS2/PSBA-TRNH/TRNL-TRNH
PIYAPORN WONGAKSON : APPLYING DNA BARCODES FOR IDENTIFICATION OF PLANT SPECIES IN THE FAMILY ACANTHACEAE IN THAILAND. THESIS ADVISORS : ASSIST. PROF. DR. BUSABA POWTHONGCHIN AND ASSIST. PROF. DR. SUANG RUNGPRAGAYPHAN. 178 pp.

Accurate identification of plants is essential for quality control of herbal medicines. In this study, DNA barcoding was used to identify plants in the family Acanthaceae and some of their herbal products. Fifty-eight species from 24 genera belonging to this family found in Thailand were collected. Genomic DNA was successfully extracted from every specimen. Three DNA regions, internal transcribed spacer 2 (ITS2), *psb*A-*trn*H and *trn*L-*trn*F intergenic spacers were evaluated as DNA barcode candidates. Upon PCR amplification, fragments of ITS2, *psb*A-*trn*H and *trn*L-*trn*F were 500, 450-500, and 450 base pairs, respectively. Success rate of PCR amplification of ITS2, *psb*A-*trn*H and *trn*L-*trn*F were 93.1%, 89.7% and 89.7%, respectively, whereas sequencing efficiency were 83.0%, 86.5%, and 86.5%, respectively. Sequences were verified *via* Bioedit version 7.0.8.0 and deposited in GenBank. It was found that average sizes of ITS2, *psb*A-*trn*H, and *trn*L-*trn*F were 225±17.4, 362±85.8, and 335±22.8 base pairs, respectively, while average GC contents were 63.1±3.8, 31.5± 1.9, and 40.2± 1.1 %, respectively. Kimura-2 parameter distances between pairs of species of *Barleria, Justicia,* and *Thunbergia*, which represent interspecific divergence, were calculated using MEGA version 6.06. The average K-2P of ITS2, *psb*A-*trn*H, and *trn*L-*trn*F were 0.427, 0.098, and 0.053, respectively. The results showed that ITS2 was the most variable and the best DNA barcode candidate amongst the 3 studied regions. Combination use of ITS2 and *psb*A-*trn*H will improve discrimination power and could be potential barcodes for identification of Acanthaceae. Those 3 studied sequences were successfully applied to identify unknown *Thunbergia laurifolia* Lindl. crude drugs purchased from markets.

Program of pharmaceutical sciences Graduate School, Silpakorn University
Student's signature ..... Academic Year 2015
Thesis Advisors' signature 1. ..... 2. .....

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ให้การสนับสนุนและให้การช่วยเหลือทุกท่าน ในการทำวิทยานิพนธ์เรื่อง การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) ในประเทศไทย ในครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี โดยเฉพาะ ผศ.ดร. บุษบา เผ่าทองจีน และ ผศ.ดร. สรวง รุ่งประกายพรรณ ในฐานะอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาคอยให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน ตลอดจนแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ในการทำวิจัย รวมทั้งแก้ไขข้อบกพร้องต่าง ๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ประสบความสำเร็จและมีความสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อารีย์ ทองภักดี ที่กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือในด้านอนุกรมวิธานพืชตลอดจนให้คำปรึกษาในทุก ๆ เรื่อง

ขอขอบพระคุณ ภญ.รศ.ดร. ร.ต.อ. หญิง สุชาดา สุขหร่อง ที่กรุณาให้คำแนะนำในเรื่องการศึกษาดีเอ็นบาร์โค้ดในพืชสมุนไพรทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในเรื่องอุปกรณ์และเครื่องมือ รวมทั้งคำแนะนำในการใช้เครื่องมือเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพรรณพืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช ที่ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการจัดทำพรรณไม้อ้างอิง

ขอขอบคุณ คุณธิติสรรค์ นาควิโรจน์ คุณพศิน อิ่นแก้ว คุณจุฑาภรณ์ ผลไพบูลย์ คุณณรงค์ รามัญจิต คุณวิกานดา พรหมมณี ที่คอยช่วยเหลือและสนับสนุนการเก็บตัวอย่างพืช รวมถึงให้คำปรึกษาและกำลังใจตลอดการทำงานวิจัยจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วง

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณครอบครัวที่รักและเพื่อน ๆ สโลว์ลี่ที่คอยอยู่เคียงข้างเสมอไม่ว่ายามทุกข์หรือสุขจนกระทั่งข้าพเจ้าประสบความสำเร็จอีกหนึ่งขั้น

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ญ
สารบัญภาพ ..... ฏ
คำย่อ ..... ฑ
บทที่
1 บทนำ 1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย 1
ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา 3
ขอบเขตการศึกษา 3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 4
การตรวจเอกลักษณ์พืชสมุนไพร 4
การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแบบมหทรรศน์ 4
การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยตรวจเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 4
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี 5
การใช้ข้อมูลสารพันธุกรรม 5
วิธีการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 5
Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) 5
Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) 6
Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 7
วิธีการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด 7
การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดในพืช 10
ดีเอ็นเอในนิวเคลียส 10
ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ 10
ดีเอ็นเอบริเวณไอทีเอส 11
ดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ 12
ยีน *mat*K 12
ยีน rbc*L* 13
ยีน *atp*B 13
ยีน *ndh*F 14

บทที่ หน้า
*trn*L-*trn*F intergenic spacer 14
*trn*H-*psb*A intergenic spacer 15
พืชวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) 17
ลักษณะของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ 17
การใช้พืชสมุนไพรวงศ์เหงือกปลาหมอในบัญชียาหลักแห่งชาติ 22
การวิเคราะห์ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด 23
3 วิธีดำเนินการวิจัย 24
สารเคมี วัสดุและอุปกรณ์ 24
สารเคมีและสารที่ใช้เป็นตัวทำปฏิกิริยา 24
เอนไซม์และบัฟเฟอร์ 24
ไพรเมอร์ 24
การเตรียมน้ำยาอาบพรรณไม้ 25
วัสดุและอุปกรณ์ 25
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย 26
การตรวจสอบความถูกต้องของชนิดพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย 26
การสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย 26
การจัดทำพรรณไม้อ้างอิง 26
การสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ 27
การตรวจสอบดีเอ็นเอโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีสโดยใช้เจลอะกาโรส 28
การวัดความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ 29
การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส 29
การทำให้ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มจำนวนบริสุทธิ์ 30
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ 30
การตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์ 30
การเปรียบเทียบและวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณต่าง ๆ 31
การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการพิสูจน์เอกลักษณ์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในท้องตลาด 31
4 ผลการศึกษา 33
พืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่มีรายงานการพบในประเทศไทย 33
การสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย 33
ตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิง 34
ผลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ 40

บทที่ หน้า
การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสและการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ 42
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ 50
ขนาดและปริมาณ GC ของดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F 50
การวิเคราะห์ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด 56
พืชสกุล *Barleria* 56
พืชสกุล *Justicia* 57
พืชสกุล *Thunbergia* 58
การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการพิสูจน์เอกลักษณ์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืดในท้องตลาด 62
จีโนมิกดีเอ็นเอจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืด 62
การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส การอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืด 63
5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 68
การสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย 68
การสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอและการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอตำแหน่งต่างๆ 71
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ 72
การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการพิสูจน์เอกลักษณ์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืดในท้องตลาด 75
สรุปผลที่ได้จากการวิจัย 75
ข้อเสนอแนะ 76
รายการอ้างอิง 77
ภาคผนวก 84
ภาคผนวก ก สัณฐานวิทยาของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ 85
ภาคผนวก ข ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอบาร์โค้ดตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F integenic spacers 143
ประวัติผู้วิจัย 178

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สรรพคุณทางยาของพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย	18
2	คู่ไพรเมอร์จำเพาะสำหรับใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F	25
3	สภาวะที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F intergenic spacers	29
4	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืดที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยดีเอ็นเอบาร์โค้ด	32
5	รายชื่อพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) ที่ใช้ศึกษาในงานวิจัย	36
6	ผลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ผลการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในงานวิจัยนี้รวมถึงร้อยละความสำเร็จ	46
7	ขนาดของดีเอ็นเอ และร้อยละปริมาณนิวคลีโอไทด์ G และ C ในดีเอ็นเอบริเวณ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F intergenic spacers	54
8	ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด (Kimura 2-Parameter distance) ระหว่างพืชในสกุล *Barleria*	56
9	ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด (Kimura 2-Parameter distance) ระหว่างพืชในสกุล *Justicia*	57
10	ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด (Kimura 2-Parameter distance) ระหว่างพืชสกุล *Thunbergia*	59
11	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 ของต้นรางจืด	60
12	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส การอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืด	62
13	แสดง GenBank accession numbers ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในฐานข้อมูล GenBank	175

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ตำแหน่งที่ไพรเมอร์มาตรฐานเข้าจับกับบริเวณอนุรักษ์	8
2	ขั้นตอนการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด	9
3	โครงสร้างของไรโบโซมอลดีเอ็นเอในพืช	10
4	แผนภาพแสดงยีน *mat*K	12
5	แผนภาพแสดงตำแหน่งยีน *rbc*L และยีน *atp*B	13
6	แผนภาพแสดงบริเวณ *trn*L-*trn*F intergenic spacer	14
7	แผนภาพแสดงบริเวณ *trn*H-*psb*A intergenic spacer	15
8	ตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงของต้นดีปลากั้ง (*Phlogacanthus pulcherrimus* T. Anderson) สกุล *Phlogacanthus*	35
9	จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ	41
10	ผลผลิตพีซีอาร์ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ	43
11	ผลผลิตพีซีอาร์ของดีเอ็นเอบริเวณ *psb*A-*trn*H ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ	44
12	ผลผลิตพีซีอาร์ของดีเอ็นเอบริเวณ *trn*L- *trn*F ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ	45
13	ตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่อ่านได้ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 ของต้นรางจืด	51
14	ตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่อ่านได้ของดีเอ็นเอบริเวณ *psb*A-*trn*H ของต้นรางจืด	52
15	ตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่อ่านได้ของดีเอ็นเอบริเวณ *trn*L-*trn*F ของต้นรางจืด	53
16	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2	61
17	จีโนมิกดีเอ็นเอของตัวอย่างผลิตภัณฑ์รางจืด	62
18	ผลผลิตพีซีอาร์ของผลิตภัณฑ์รางจืด	64
19	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 ของผลิตภัณฑ์รางจืดเทียบกับฐานข้อมูล	65
20	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง *psb*A-*trn*H ของผลิตภัณฑ์รางจืดเทียบกับฐานข้อมูล	66
21	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง *trn*L-*trn*F ของผลิตภัณฑ์รางจืดเทียบกับฐานข้อมูล	67
22	การเปรียบเทียบพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่มีลักษณะทางสัญฐานวิทยาใกล้เคียงกันมาก	70
23	การเปรียบเทียบสัณฐานวิทยาของพืชสกุล *Thunbergia* ที่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน	74
24	ต้นเหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus* Vahl)	85
25	ต้นเหงือกปลาหมอเทศ (*Acanthus mollis* L.)	86
26	ต้นฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees)	87
27	ต้นบาหยา (*Asystasia gangetica* (L.) T. Anderson)	88

ภาพที่		หน้า
28	ต้นเพ็ญทิวา (*Asystasia newmorum* Nees)	89
29	ต้นแสมขาว (*Avicennia marina* (Forssk.) Vierh.)	90
30	ต้นแสมดำ (*Avicennia officinalis* L.)	91
31	ต้นอังกาบ (*Barleria cristata* L.)	92
32	ต้นเสลดพังพอน (*Barleria lupulina* Lindl.)	93
33	ต้นอังกาบหนู (*Barleria prionitis* L.)	94
34	ต้นอังกาบแดง (*Barleria repens* Nees)	95
35	ต้นสังกรณี (*Barleria strigosa* Willd.)	96
36	ต้นพญาปล้องทอง (*Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau)	97
37	ต้นลิ้นงูเห่า (*Clinacanthus siamensis* Bremek.)	98
38	ต้นอังกาบสีปูน (*Crossandra infundibuliformis* Nees)	99
39	ต้นผักโหมลาย (*Dicliptera chinensis* (L.) Juss.)	100
40	ต้นจ้าห้อม (*Eranthemum tetragonum* Wall. ex Nees)	101
41	ต้นใบเงิน (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.)	102
42	ต้นริบบิ้นดำ (*Hemigraphis repanda* Hallier f.)	103
43	ต้นหญ้าต้นติด (*Hemigraphis reptans* T.Anderson ex Hemsl.)	104
44	ต้นตรีชวา (*Justicia betonica* L.)	105
45	ต้นราตรีสีชมพู (*Justicia candicans* (Nees) L.D.Benson)	106
46	ต้นเขียงพร้า (*Justicia diffusa* Wild.)	107
47	ต้นสันพร้ามอญ (*Justicia gendarussa* Burm.f.)	108
48	ต้นกระดูกไก่ดำ (*Justicia valida* Ridl. var. *glandulosa* Fisch.)	109
49	ต้น *Justicia striata* (Klotzsch) Bullock	110
50	ต้นหญ้าขนไก่ (*Lepidagathis incurva* Buch.-Ham. ex D.Don)	111
51	ต้นแดงพันธุ์ทิพย์ (*Megaskepasma erythrochlamys* Lindau)	112
52	ต้นเหลืองคีรีบูน (*Pachystachys lutea* Nees)	113
53	ต้นกำลังช้างสาร (*Peristrophe hyssopifolia* Merr.)	114
54	ต้นหว้าชะอำ (*Peristrophe lanceolaria* (Roxb.) Nees)	115
55	ต้นห้อมช้าง (*Phlogacanthus curviflorus* Nees)	116
56	ต้นดีปลากั้ง (*Phlogacanthus pulcherrimus* T. Anderson)	117
57	ต้นใบเงิน (*Pseuderanthemum atropurpureum* Radlk.)	118
58	ต้นเฒ่าหลังลาย (*Pseuderanthemum graciliflorum* (Nees) Ridl.)	119
59	พญาวานร (*Pseuderanthemum palatiferum* Radlk	120
60	ต้นรัศมีจันทร์ (*Pseuderanthemum reticulatum* (Hook. f.) Radlk.)	121
61	ต้นทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz)	122

ภาพที่ หน้า
62 ต้นแดงซีลอน (*Ruellia amoena* L.) 123
63 ต้นจ๊าหอม (*Ruellia repens* L.) 124
64 ต้นต้อยติ่งเทศ (*Ruellia simplex* C. Wright) 125
65 ต้นต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* L.)..... 126
66 ต้นสันพร้า (*Rungia pectinata* Nees)..... 127
67 ต้นเข็มชมพูนงนุช (× *Ruttyruspolia* A. Meeuse & de Wet)..... 128
68 ต้นจ๊าฮ่อม (*Strobilanthes auriculata* Bremek.)..... 129
69 ต้นช่อม่วงเชียงดาว (*Strobilanthes chiangdaoensis* H. Terao)..... 130
70 ต้นฮ่อม (*Strobilanthes cusia* (Nees) Kuntze) 131
71 ต้นทวีทรัพย์ (*Strobilanthes hamiltoniana* (Steud.) Bosser & Heine) 132
72 ต้น *Strobilanthes oresbia* W. W. Sm 133
73 ต้นฮ่อม *Strobilanthes persicifolia* (Lindl.) J. R. I. Wood..... 134
74 ต้นแววตา (*Thunbergia alata* Boj. ex Sims.) 135
75 ต้นหนามแน่แดง (*Thunbergia coccinea* Wall. ex D. Don)..... 136
76 ต้นรางจืดต้นภูคา (*Thunbergia colpifera* B. Hansen)..... 137
77 ต้นช้องนาง (*Thunbergia erecta* (Benth.) T. Anderson)..... 138
78 ต้นหนามแน่ขาว (*Thunbergia fragrans* Roxb.) 139
79 ต้นสร้อยอินทนิล (*Thunbergia grandiflora* (Roxb. ex Rottler) Roxb.) 140
80 ต้นน้ำแน่ดง (*Thunbergia hossei* C. B. Clarke) 141
81 ต้นรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Lindl.)..... 142

คำย่อ

×g	Times gravity
ATP	Adenosine triphosphate
bp	Base pair
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DNA	Deoxyribonucleic acid
dNTPs	Deoxyribonucleotide triphosphate
ITS	Internal transcribed spacer
Kb	Kilobase
ºC	Degree Celsius
OD	Optical density
rDNA	Ribosomal DNA
RNA	Ribonucleic acid
TAE	Tris-acetate-Ethylenediaminetetraacetic acid

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในปัจจุบันกระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดยุทธศาสตร์ในการพัฒนาการวิจัยการแพทย์และสมุนไพร รวมทั้งส่งเสริมให้มีการใช้สมุนไพรทดแทนหรือการใช้สมุนไพรในยาสำเร็จรูปทั้งยาแผนปัจจุบัน และแผนโบราณมากขึ้น โดยมีการใช้ในรูปแบบของพืชสมุนไพรสดหรือสมุนไพรแปรรูปทั้งในรูปชิ้นส่วนตากแห้งหรือผงยา และนำมาใช้เป็นส่วนผสมของตำรับยาต่าง ๆ เพื่อให้ง่ายต่อการบริโภค นอกจากนั้นยังมีการใช้สมุนไพรในรูปแบบอื่น ๆ เช่น เครื่องดื่มสมุนไพร เป็นต้น โดยพบว่าแนวโน้มการใช้ยาสมุนไพรในประเทศไทยมีมากขึ้น มีการผลิตและจำหน่ายผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรแปรรูปเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากโดยมีมูลค่าการใช้สมุนไพรสูงถึงปีละ 14,000 ล้านบาท (ภัสรา, 2558) ทั้งนี้กระทรวงสาธารณสุขได้จัดทำตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia) เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการควบคุมคุณภาพของยาสมุนไพรและใช้ในการอ้างอิงสำหรับการขึ้นทะเบียนตำรับยาสมุนไพร เพื่อให้ผู้บริโภคมีความมั่นใจในคุณภาพประสิทธิภาพและความปลอดภัยของพืชสมุนไพรที่มีจำหน่ายในท้องตลาด โดยในเบื้องต้นพืชสมุนไพรที่จะนำมาใช้เป็นยาต้องได้รับการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์และมีการระบุชนิดให้ถูกต้อง โดยการพิสูจน์เอกลักษณ์และการระบุชนิดพืชสมุนไพรนั้นทำได้หลายวิธี ได้แก่ การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแบบมหทรรศน์ (macroscopic characteristics) และการตรวจสอบเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (microscopic characteristics) การตรวจสอบทางเภสัชเวทและการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี แต่วิธีการดังกล่าวยังมีข้อจำกัดในเรื่องความถูกต้องและความรวดเร็ว จึงอาจต้องใช้หลายวิธีร่วมกันในการระบุชนิดพืชที่ถูกต้อง (World Health Organization, 1998) เพื่อหลีกเลี่ยงข้อจำกัดเหล่านี้ในปัจจุบันได้มีการนำเอาข้อมูลรหัสพันธุกรรมที่เรียกว่า ดีเอ็นเอบาร์โค้ด ซึ่งเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ช่วงสั้น ๆ ที่มีความแปรผันสูงและสามารถใช้จำแนกสิ่งมีชีวิตได้ มาใช้ในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ รวมทั้งพืชได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ (Hebert, et al., 2003; Hebert, et al., 2004; CBOL Plant Working Group, 2009; Hollingsworth, et al., 2011) โดยหลักการนี้หากนำมาประยุกต์ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อระบุชนิดของพืชสมุนไพรได้อย่างถูกต้องจะมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อวงการสมุนไพรไทยที่จะสามารถทำได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ นอกจากนั้นยังสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพยาสมุนไพรได้ในอนาคต งานวิจัยนี้ได้นำเอาหลักการของดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาใช้ในการระบุชนิดของพืชสมุนไพรไทยโดยใช้พืชวงศ์เหงือกปลาหมอเป็นสมุนไพรต้นแบบเนื่องจากพืชวงศ์นี้มีจำนวนชนิดของ

พืชสมุนไพรเป็นจำนวนมากและพืชสมุนไพรสำคัญส่วนหนึ่งถูกบรรจุไว้ในบัญชียาหลักแห่งชาติทั้งในตำรับยาเดี่ยวและยาผสม เช่น เหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus)* ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata)* พญายอ (*Clinacanthus nutans)* ทองพันชั่ง *(Rhinacanthus nasutus*) และรางจืด (*Thunbergia laurifolia)* เป็นต้น (คณะกรรมการระบบยาแห่งชาติ, 2556) นอกจากนั้นยังมีพืชอีกหลายชนิดที่ถูกใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้าน แต่ยังไม่ถูกบรรจุไว้ในบัญชียาหลักแห่งชาติ เช่น สังกรณี (*Barleria strigosa)* และ เสนียด (*Justicia adhatoda)* เป็นต้น (โชติอนันต์, 2550) นอกจากนี้ยังพบว่ามีผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรแปรรูปของพืชวงศ์นี้จำหน่ายในท้องตลาดจำนวนมาก โดยส่วนใหญ่เป็นส่วนของใบและลำต้น ซึ่งลักษณะของใบและลำต้นของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่อยู่ในสกุลเดียวกันนั้นจะมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมากทำให้ยากต่อการระบุชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมื่อตัวอย่างอยู่ในรูปของใบแห้งและชิ้นส่วนลำต้นแห้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออยู่ในรูปของผงยา งานวิจัยนี้จะทำการศึกษาตำแหน่งดีเอ็นเอของพืชสมุนไพรวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยจำนวน 3 ตำแหน่ง ได้แก่ ดีเอ็นเอในนิวเคลียส 1 ตำแหน่ง คือ internal transcribed spacer 2 (ITS2) และดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ 2 ตำแหน่ง คือ *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F intergenic spacers โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสามารถในการเป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 3 ตำแหน่งดังกล่าวและนำเอาตำแหน่งดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่ดีที่สุดไปประยุกต์ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ผลิตภัณฑ์สมุนไพรจากพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในท้องตลาด

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อสำรวจ รวบรวมและระบุชนิดพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย
2. เพื่อประเมินความสามารถในการใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดของลำดับนิวคลีโอไทด์ 3 ตำแหน่ง ได้แก่ internal transcribed spacer 2 (ITS2), *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F intergenic spacers ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย
3. เพื่อประยุกต์ใช้ฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สร้างขึ้นในการพิสูจน์เอกลักษณ์ผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในท้องตลาด

ขอบเขตการศึกษา

ทำการรวบรวมและระบุชนิดพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยที่สามารถเก็บตัวอย่างพืชได้ แล้วศึกษาดีเอ็นเอของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอเหล่านั้น จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ ดีเอ็นเอในนิวเคลียส 1 ตำแหน่ง ได้แก่ internal transcribed spacer 2 (ITS2) และดีเอ็นเอในคลอโร-พลาสต์ 2 ตำแหน่ง ได้แก่ *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F intergenic spacers จากนั้นจึงเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในท้องตลาด จำนวนอย่างน้อย 3 ตัวอย่าง มาตรวจสอบเอกลักษณ์โดยใช้ฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่ได้จากการศึกษานี้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถรวบรวมและระบุชนิดพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย
2. มีฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย
3. มีดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่เหมาะสมในการระบุชนิดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย
4. สามารถใช้ฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สร้างขึ้นในการพิสูจน์เอกลักษณ์ผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในท้องตลาดได้

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

I. การตรวจเอกลักษณ์พืชสมุนไพร

การยืนยันความถูกต้องของพืชสมุนไพรโดยการพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อระบุชนิดพืชสมุนไพรจัดเป็นกระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญมากในการควบคุมคุณภาพยาสมุนไพร ซึ่งการพิสูจน์เอกลักษณ์พืชสมุนไพรสามารถทำได้โดยใช้วิธีการต่างๆ ดังนี้

1. การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแบบมหทรรศน์ (macroscopic characteristics)

วิธีการนี้เป็นวิธีพื้นฐานที่ใช้ในการระบุชนิดพืช โดยจะใช้ลักษณะความแตกต่างหรือความคล้ายคลึงของลักษณะรูปร่างภายนอก และโครงสร้างภายในของพืช เช่น ลักษณะวิสัย รูปร่าง ขนาด สี ของใบ ดอก และผล ที่มีลักษณะที่โดดเด่นมากพอที่จะใช้ในการจำแนก และระบุชนิดพืชแต่หากตัวอย่างพืชสมุนไพรมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันมาก และผู้จัดจำแนกไม่มีความเชี่ยวชาญอาจทำให้การระบุชนิดพืชผิดพลาดได้ นอกจากนั้นหากตัวอย่างพืชสมุนไพรมีลักษณะสัณฐานวิทยาไม่ครบถ้วนหรือไม่ชัดเจน เช่น พืชสมุนไพรที่อยู่ในรูปชิ้นส่วนขนาดเล็ก แห้ง หรือผงยาจะไม่สามารถระบุชนิดด้วยวิธีการนี้ได้ (ก่องกานดา, 2541)

2. การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยตรวจเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (microscopic characteristics)

วิธีการนี้มักใช้กับสมุนไพรที่ถูกบดในรูปผงยา โดยดูลักษณะของปากใบซึ่งสมุนไพรต่างชนิดกันจะแสดงลักษณะหรือมีจำนวนของปากใบไม่เท่ากัน รวมถึงมีรูปแบบของปากใบที่แตกต่างกัน นอกจากนั้นสมุนไพรส่วนที่เป็นแก่นก็ไม่ควรพบปากใบปนอยู่ หรือสมุนไพรบางชนิดพบผลึกสารที่เป็นลักษณะเฉพาะตัวซึ่งนำไปใช้ในการระบุชนิดได้ แต่วิธีการนี้จำเป็นต้องตรวจสอบโดยผู้เชี่ยวชาญในการจัดจำแนกลักษณะปากใบ และองค์ประกอบต่างๆ ทำให้วิธีนี้ไม่แพร่หลายมาก และมีข้อจำกัดในส่วนของฐานข้อมูลลักษณะองค์ประกอบต่างๆของพืชที่จะใช้ในการเปรียบเพื่อใช้ในการระบุชนิดพืชสมุนไพร (สมพร, 2536; Zhao, 2010)

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (phytochemistry)

วิธีการนี้เป็นการวิเคราะห์หาพฤกษเคมี (องค์ประกอบของสารเคมีสำคัญที่พบในพืชชนิดนั้น ๆ) โดยเป็นวิธีการหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในการตรวจหรือทำมาตรฐานของสมุนไพร เนื่องจากสมุนไพรแต่ละชนิดมีสารสำคัญแตกต่างกัน และยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น ในสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศที่แตกต่างกันเช่น ดิน แสงแดด หรือ ปริมาณฝน อาจมีอิทธิพลต่อการสร้างปริมาณสารสำคัญให้มากขึ้น น้อยลง หรืออาจตรวจสอบไม่พบเนื่องจากไม่มีการสร้างสารสำคัญ ซึ่งเป็นข้อจำกัดของวิธีการนี้ (นพมาศและคณะ, 2551)

4. การใช้ข้อมูลสารพันธุกรรม

วิธีการนี้จะใช้ข้อมูลสารพันธุกรรม อันหมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอซึ่งเป็นข้อมูลที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ทำให้สามารถนำมาใช้ในการจำแนกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆรวมถึงพืชสมุนไพรได้ การตรวจสอบพืชสมุนไพรโดยใช้ดีเอ็นเอสามารถตรวจสอบได้ทั้งสมุนไพรสด แห้ง และแปรรูป ที่ไม่จำเป็นต้องมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาครบถ้วน และใช้ปริมาณตัวอย่างพืชสมุนไพรเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยข้อมูลที่ได้จะถูกจัดเก็บในรูปของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) หรือดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA barcode) เพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงต่อไป ปัจจุบันวิธีการนี้ได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้น และมีการจัดทำฐานข้อมูลออนไลน์เพื่อใช้ในการสืบค้นได้ นอกจากนั้นยังเป็นวิธีที่ทำได้รวดเร็ว และมีความถูกต้องสูง จึงมีความเหมาะสมที่จะใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์พืชสมุนไพรที่อยู่ในรูปยาสมุนไพรแปรรูป เช่น ยาผง แคปซูล และเครื่องดื่มสมุนไพรต่างๆ

วิธีการศึกษาโดยใช้ข้อมูลสารพันธุกรรมทำได้หลายวิธี ดังนี้

4.1 วิธีการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint)

4.1.1 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

เป็นวิธีการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ โดยที่ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอเป้าหมายก่อน วิธีการนี้จะใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้น ๆ เพียง 10-20 นิวคลีโอไทด์ และไม่มีความจำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใด ทำให้การเข้าจับของไพรเมอร์เป็นแบบสุ่ม (random primer) และใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ค่อนข้างต่ำ เพื่อให้ไพรเมอร์สามารถเข้าจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายได้ง่ายและไม่จำเพาะเจาะจง หากไพรเมอร์เข้าจับในบริเวณที่ไม่ไกลกันมากนัก และจับในทิศทางตรงกันข้ามกันก็จะสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากไพรเมอร์คู่นั้นได้ ด้วยเหตุนี้ทำให้ผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้เป็นแบบสุ่มและมีลักษณะที่แตกต่างกัน (polymorphism) ในแต่ละจีโนมิกของพืชแต่ละชนิดที่มีลักษณะฟีโนไทป์แตกต่างกัน (Hadrys, et al., 1992)

ข้อดีของวิธี RAPD

1. เป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ง่ายที่สุด เนื่องจากไม่จำเป็นต้องทราบลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อใช้ในการออกแบบไพรเมอร์ จึงสามารถใช้ได้กับสิ่งมีชีวิตทุกชนิด

2. สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้ครั้งละหลายตำแหน่ง โดยการใช้ไพรเมอร์มากกว่า 1 คู่ ทำให้ได้ผลผลิตที่แตกต่างกันมากขึ้น

ข้อจำกัดของวิธี RAPD

1. ผลการทดลองมีความแปรปรวน เมื่อมีการทำซ้ำอาจได้ผลผลิตที่ไม่เหมือนเดิมเนื่องจากการจับแบบไม่จำเพาะของไพรเมอร์

2. ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกต (homozygote) กับเฮทเทอโรไซโกต (heterozygote) ได้

4.1.2 Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

เป็นวิธีการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ โดยการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอที่มาจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ ทำได้โดยการเชื่อมต่อนิวคลีโอไทด์ต่อเชื่อม (adapter) เข้าที่ปลายของชิ้นดีเอ็นเอต่อจากตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ โดยนิวคลีโอไทด์ต่อเชื่อมเป็นดีเอ็นเอสายคู่ชิ้นสั้น ๆ ที่มีปลายด้านหนึ่งเป็นปลายเหนียว (sticky end) เหมือนกับปลายโมเลกุลของดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะที่เลือกใช้ ดังนั้น จึงสามารถเชื่อมต่อกับชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดไว้โดยใช้ปลายเหนียว (sticky end ligation) และจะทำหน้าที่เป็นตำแหน่งที่จับของไพรเมอร์ในการทำพีซีอาร์ต่อไป ด้วยวิธีการดังกล่าวนี้ ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะก็จะสามารถเพิ่มปริมาณได้โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสตรงกับส่วนของนิวคลีโอไทด์ต่อเชื่อม รวมกับส่วนของเบสที่ตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ (Savelkoul, et al., 1999)

ข้อดีของวิธี AFLP

1. เป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ไม่จำเป็นต้องทราบลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตนั้นมาก่อน จึงสามารถใช้ไพรเมอร์สากล (universal primer) ได้

2. สามารถตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้หลายตำแหน่งพร้อมกัน

3. ผลผลิตที่ได้มีความจำเพาะมากกว่าวิธี RAPD และคงที่ สามารถทำซ้ำได้โดยที่ผลไม่เปลี่ยนแปลง

ข้อจำกัดของวิธี AFLP

1. ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกต (homozygote) กับเฮทเทอโรไซโกต (heterozygote) ได้

2. มีความยุ่งยากและหลายขั้นตอน

4.1.3 Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)

เป็นวิธีการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ โดยมีการใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะร่วมด้วย โดยอาศัยความจำเพาะของเอนไซม์ที่มีต่อลำดับนิวคลีโอไทด์ในดีเอ็นเอที่ได้รับการเพิ่มจำนวนด้วยวิธีพีซีอาร์ โดยความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียวจะส่งผลต่อการตัดของเอนไซม์ ทำให้ได้ผลผลิตของ PCR-RFLP ที่มีความยาวของชิ้นดีเอ็นเอแตกต่างกัน และสามารถวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ (Meyer, et al., 1995)

ข้อดีของ PCR-RFLP

1. ใช้ดีเอ็นเอปริมาณเริ่มต้นเพียงเล็กน้อยก็สามารถศึกษาได้
2. มีความสะดวก รวดเร็ว และปลอดภัย
3. สามารถบอกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกตและเฮทเทอโรไซโกตได้

ข้อเสียของ PCR-RFLP

จำเป็นต้องทราบลำดับนิวคีโอไทด์ของพืชที่จะศึกษา เพื่อค้นหาตำแหน่งที่เอนไซม์สามารถตัดได้อย่างจำเพาะ และออกแบบไพรเมอร์ให้คลอบคลุมตำแหน่งตัดนั้น ๆ เพื่อให้เอนไซม์สามารถตัดได้และไม่ได้ในพืชแต่ละชนิด

4.2 วิธีการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA Barcode)

การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดเป็นวิธีการที่ใช้ความรู้ทางด้านชีววิทยาโมเลกุลเพื่อประยุกต์ใช้ในการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตเพื่อใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ โดยมีแนวคิดมาจากแท่งรหัสบาร์โค้ดสินค้า ที่สามารถช่วยในการจำแนกข้อมูลสินค้าและราคาได้อย่างถูกต้องและมีความรวดเร็วในการจัดเก็บข้อมูล จากแนวคิดนี้ทำให้มีการพัฒนาแท่งรหัสบาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิตเพื่อใช้ในการจำแนกสิ่งมีชีวิตให้ถูกต้องและรวดเร็วขึ้น โดยไม่จำเป็นต้องเก็บตัวอย่างที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ครบสมบูรณ์ วิธีการจำแนกสิ่งมีชีวิตโดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดนี้ได้ถูกริเริ่มศึกษาและพัฒนาโดย พอล เฮเบิร์ท นักวิจัยด้านวิวัฒนาการ มหาวิทยาลัยกัลฟ์ ประเทศแคนาดา ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2003 (Hebert, et al., 2003) และในปัจจุบันได้มีนักวิจัยทั่วโลกได้ร่วมกันจัดตั้งโครงการ Consortium for the Barcode of Life หรือ CBOL โดยมีสถาบันสมิธโซเนียน ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นหน่วยงานหลักที่สนับสนุนโครงการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิต

หลักการของดีเอ็นเอบาร์โค้ดมีแนวคิดจากรูปแบบการเรียงตัวที่แตกต่างกันของนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิด คือ อะดีนีน (adenine, A) ไทมีน (thymine, T) ไซโทซีน (cytosine, C) และกัวนีน (guanine, G) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอบริเวณใดบริเวณหนึ่งจะมีการจัดเรียงตัวที่แตกต่างกันออกไปในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ซึ่งจัดเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ โดย

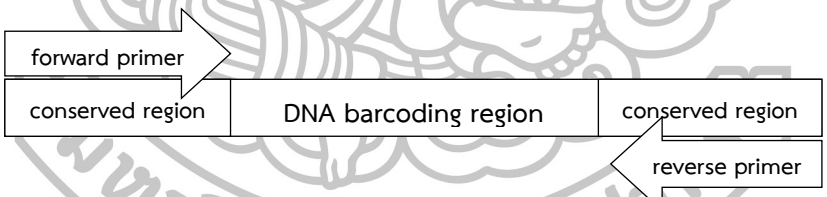
ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณนั้นอาจเกิดมาจากการแทนที่ของเบส (substitution) การขาดหายของเบส (deletion) และการเพิ่มของเบส (insertion) ซึ่งเป็นผลให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic variation) ขึ้น ในการเปรียบเทียบสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์นี้จึงจำเป็นต้องเลือกดีเอ็นเอมาตรฐาน หรือ ยีนมาตรฐาน ที่เป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตขนาดสั้น ๆ ที่มีความผันแปรสูง และมีความแตกต่างกันมากพอที่จะใช้ในการจำแนกชนิดได้ที่เรียกว่า “ดีเอ็นเอบาร์โค้ด” เพื่อทำหน้าที่ในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตได้อย่างถูกต้องและรวดเร็ว

โดยคุณสมบัติของส่วนดีเอ็นเอที่จะถูกนำมาใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด ควรมีลักษณะดังนี้

1. บริเวณดีเอ็นเอที่เลือกนั้นต้องมีความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic variability) ที่มากพอจนสามารถใช้จำแนกสิ่งมีชีวิตในระดับชนิด (species) ได้ และต้องมีความแตกต่างภายในชนิดเดียวกันน้อยมากหรือไม่มีเลย

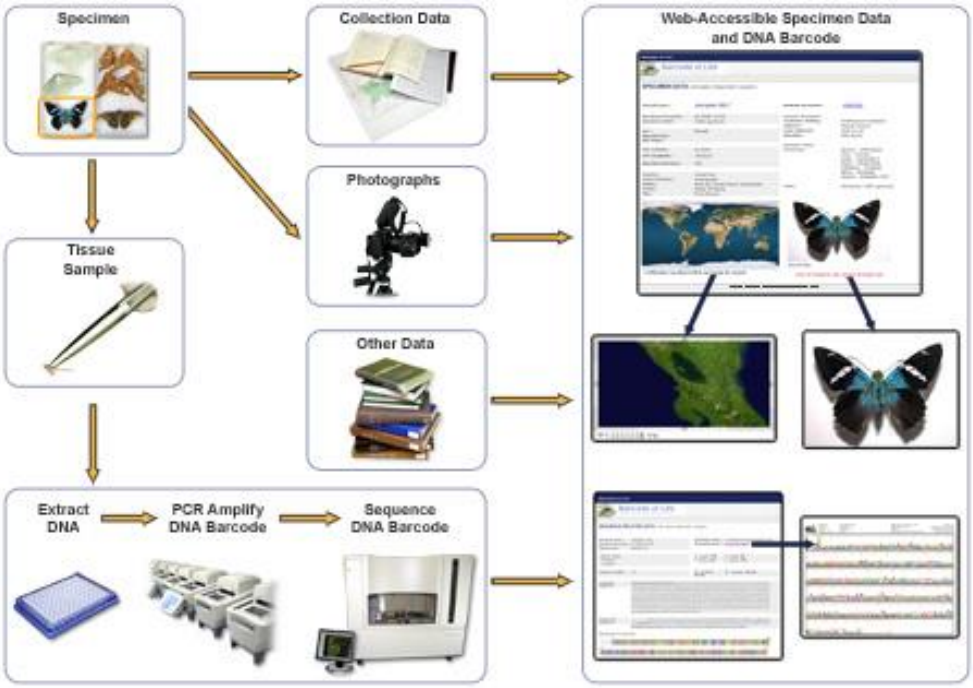
2. ต้องเป็นดีเอ็นเอช่วงสั้น ๆ ขนาดประมาณ 500-800 คู่เบส เพื่อให้ง่ายต่อการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction)

3. ช่วงหัวและท้ายของดีเอ็นเอนั้นต้องเป็นบริเวณอนุรักษ์ (conserved region) ที่พบในสิ่งมีชีวิตทั่วไปเพื่อใช้เป็นตำแหน่งในการเข้าจับของไพรเมอร์มาตรฐาน (universal primer) ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 ตำแหน่งที่ไพรเมอร์มาตรฐานเข้าจับกับบริเวณอนุรักษ์

ขั้นตอนในการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดแสดงดังรูปที่ 2 โดยเริ่มจากการเก็บตัวอย่าง ถ่ายภาพ และบันทึกข้อมูลต่าง ๆ ให้สมบูรณ์ จากนั้นจึงนำเอาตัวอย่างมาทำการสกัดดีเอ็นเอ เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ต้องการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด วิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอที่ได้พร้อมทั้งตรวจสอบความถูกต้อง แล้วจึงจัดเก็บดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่ได้ในฐานข้อมูลเพื่อใช้การระบุชนิดสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ โดยหากต้องการพิสูจน์ตัวอย่างชิ้นส่วนของสิ่งมีชีวิตไม่ทราบชนิดก็สามารถทำได้โดยการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างนั้น ๆ เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณที่ต้องการ อ่านลำดับนิวคลีโอไทด์แล้ว นำไปเทียบกับฐานข้อมูลก็จะสามารถระบุชนิดและข้อมูลเบื้องต้นของตัวอย่างนั้นได้อย่างรวดเร็ว



รูปที่ 2 ขั้นตอนการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด
ที่มา : iBOL, **What is DNA Barcoding**, เข้าถึงเมื่อ 21 กรกฎาคม 2558, เข้าถึงได้จาก http://ibol.org/about-us/what-is-dna-barcoding/

นักวิทยาศาสตร์หลายกลุ่มได้ทำการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดในสัตว์และพบว่ายีน Cytochrome c oxidase subunit 1 (Cox1 หรือ CO1) ที่พบในไมโทคอนเดรียของสัตว์ทุกชนิด โดยในสัตว์ชนิดเดียวกันจะมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความคล้ายคลึงกันมาก แต่ในสัตว์ต่างชนิดกันจะมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงทำให้มีการนำเอาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน CO1 ดังกล่าวมาใช้ในการระบุชนิดของสัตว์หลายกลุ่มได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น การระบุชนิดนก ผีเสื้อ (Hebert, 2004) แมงมุม (Barrett & Hebert, 2005) และสัตว์เลื้อยคลาน (Nagy, et al., 2012) เป็นต้น ส่วนในพืชการค้นหาบริเวณดีเอ็นเอที่เหมาะสมเพียงตำแหน่งเดียวเพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดของพืชทุกชนิดยังไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากยีนในตำแหน่ง CO1 จากไมโทคอนเดรียของพืชมีวิวัฒนาการช้ากว่าในสัตว์ ทำให้มีความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์น้อย จึงไม่เพียงพอและไม่สามารถใช้ในการระบุชนิดในพืชได้ ดังนั้นในพืชจึงยังต้องมีการศึกษาหาบริเวณดีเอ็นเอที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการเป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดต่อไป

การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดในพืช

การใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อการระบุชนิดของพืช เริ่มจากการจัดตั้งโครงการ Consortium for the Barcode of Life (CBOL) ในปี พ.ศ. 2547 เพื่อจัดทำฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของพืช การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ ด้านนิเวศวิทยา และประโยชน์ด้านนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งบริเวณดีเอ็นเอที่นิยมใช้ในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืช ได้แก่ ดีเอ็นเอในนิวเคลียส และดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์

1. ดีเอ็นเอในนิวเคลียส

1.1 ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (Ribosomal DNA)

เป็นบริเวณดีเอ็นเอที่มีการถอดรหัส (coding region) เป็นไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ ซึ่งไรโบโซมอลดีเอ็นเอจะมีการจัดเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ซ้ำ ๆ กัน (repeat unit) เป็นพัน ๆ ซ้ำในจีโนมพืช ซึ่งแต่ละหน่วยซ้ำจะมีส่วนของ intergenic spacer (IGS) คั่นกลางอยู่ และแต่ละหน่วยซ้ำจะถูกถอดรหัสโดยเริ่มจากส่วน external transcribed spacer (ETS), ยีน 18s small rDNA, internal transcribed spacer1 (ITS1), ยีน 5.8s, internal transcribed spacer2 (ITS2) และ ยีน 26s หรือ 28s large rDNA ตามลำดับ (รูปที่ 3)

5′ **3′**

ETS	18s rDNA	ITS1	5.8s	ITS2	26s rDNA	ETS

รูปที่ 3 โครงสร้างของไรโบโซมอลดีเอ็นเอในพืช ประกอบด้วย external transcribed spacer (ETS), ยีน 18s small rDNA (18s), internal transcribed spacer1 (ITS1), ยีน 5.8s (5.8s), internal transcribed spacer2 (ITS2) และ ยีน 26s large rDNA (26s)

1.2 ดีเอ็นเอบริเวณไอทีเอส (Internal transcribed spacer หรือ ITS)

ดีเอ็นเอบริเวณไอทีเอสแบ่งได้เป็น 2 บริเวณ ได้แก่ ITS1 ซึ่งอยู่ระหว่างยีน 18s กับ 5.8s และ ITS2 ซึ่งอยู่ระหว่างยีน 5.8s กับ 26s (รูปที่ 3) โดยดีเอ็นเอในส่วน ITS1 และ ITS2 เป็นส่วนหนึ่งที่ถูกถอดรหัสไปพร้อมกับไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ แต่ดีเอ็นเอในส่วน ITS1 และ ITS2 ไม่ได้ถูกนำไปสังเคราะห์เป็นไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ แต่จะเป็นตัวช่วยให้เกิดการรวมตัวเป็นไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอที่สมบูรณ์ทำให้สามารถสร้างโปรตีนได้ พบว่าดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 ได้รับความนิยมในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดในพืชอย่างมาก เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันมาก สามารถในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของพืชได้ และมีคุณสมบัติเป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชที่ดี โดย Chen และคณะ ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบดีเอ็นเอ 7 บริเวณ ได้แก่ *psb*A-*trn*H, *mat*K, *rbc*L, *rpo*C1, *ycf*5, ITS2, และ ITS ในพืชสมุนไพร 6,600 ตัวอย่าง จากพืช 753 สกุล 4,800 ชนิด พบว่าดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 มีความสามารถในการแยกความแตกต่างของพืชระดับชนิดได้ถึง 92.7% ซึ่งแสดงความสามารถในการจำแนกชนิดของพืชสมุนไพรได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับบริเวณดีเอ็นเออื่น จากการศึกษานี้ผู้วิจัยได้เสนอว่าตำแหน่ง ITS2 มีความเหมาะสมในการใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับพืช (Chen, et al., 2010) และต่อมายังพบว่าดีเอ็นบริเวณ ITS2 สามารถใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชสมุนไพรวงศ์ Verbenaceae ร่วมกับบริเวณ *psb*A-*trn*H ได้ดีกว่า บริเวณ *rbc*L, *mat*K และ ITS (Chen, et al., 2012)

2. ดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์

ดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์เป็นโฮโมไซกัสที่ได้รับมาจากแม่เพียงฝ่ายเดียว ทำให้ง่ายต่อการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ และจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์พืชมีสูงมาก ตัวอย่างดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ ได้แก่

2.1 ยีน *mat*K

เป็นยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ maturase ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกรดอะมิโนไลซีน (lysine, K) มีขนาด 1,500 คู่เบส โดยแทรกตัวอยู่ในยีน *trn*K (ยีน tRNA ของกรดอะมิโนไลซีน) (รูปที่ 4) พบว่ายีน *mat*K ได้รับความนิยมในการใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดเนื่องจากมีอัตราวิวัฒนาการของลำดับเบสสูงกว่ายีนอื่น และมีอัตราการแทนที่เบสสูงเมื่อเทียบกับยีนอื่นในคลอโรพลาสต์ จึงทำให้สามารถใช้ประโยชน์ในการระบุชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทางกลุ่มงานวิจัย CBOL Plant Working Group ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบดีเอ็นเอ 7 บริเวณใน พลาสติด จากพืชดอก พืชเมล็ดเปลือย 970 ตัวอย่าง ในพืช 550 ชนิด เพื่อประเมินความสามารถในการใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดของยีนต่างๆ ได้แก่ *mat*K, *rbc*L, *rpo*B และ *rpo*C1 และส่วนที่ไม่ใช่ยีน ได้แก่ *atp*F-*atp*H, *psb*K-*psb*L และ *trn*H-*psb*A โดยประเมินผลจากความสามารถในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ และความสามารถในการจำแนกชนิด พบว่าการใช้ ยีน *mat*K และ *rbc*L สองตำแหน่งร่วมกันมีความเหมาะสมในการใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืช (CBOL Plant Working Group, 2009) แต่อย่างไรก็ตามพบว่า *mat*K และ *rbc*L ยังมีข้อจำกัดในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ในพืชบางกลุ่ม (CBOL, 2009)

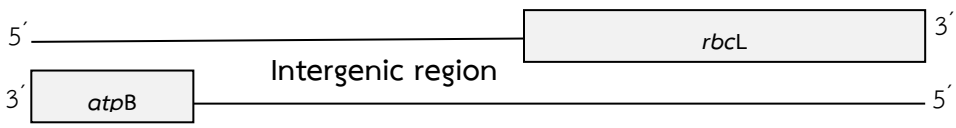
รูปที่ 4 แผนภาพแสดงยีน *mat*K

2.2 ยีน *rbc*L

เป็นยีนที่ไม่มีอินทรอน (Intron) แทรกอยู่ภายใน มีขนาด 1,428-1,434 คู่เบส (รูปที่ 5) ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างหน่วยย่อยขนาดใหญ่ (large subunit) ของเอนไซม์ ribulose biphosphate carboxylase หรือเอนไซม์รูบิสโก (rubisco) ซึ่งทำหน้าที่ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide fixation) ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เป็นยีนที่ได้รับความนิยมในการใช้ศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพืชเนื่องจากเป็นบริเวณที่สามารถเพิ่มจำนวนได้ง่ายและสามารถบอกความแตกต่างในระดับวงศ์และสกุลได้ดี (Chase, et al., 1993) ยกตัวอย่างเช่น พืชสกุลแสม (*Avicennia*) จากการจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาถูกจัดอยู่ในวงศ์ผกากรอง (Verbenaceae) แต่เมื่อทำการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดในตำแหน่ง *rbc*L พบว่าพืชสกุลแสมมีความใกล้ชิดกับพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) มากกว่า จึงทำให้เกิดการย้ายวงศ์ขึ้น (The Angiosperm Phylogeny Group, 2009) แต่อย่างไรก็ตาม ยีน *rbc*L ในกลุ่มพืชดอกบางกลุ่มยังมีวิวัฒนาการช้าและมีความแตกต่างระหว่างชนิดน้อยมากจนไม่สามารถใช้ยีนนี้ในการระบุชนิดได้ (CBOL, 2009)

2.3 ยีน *atp*B

เป็นยีนขนาด 1,497 คู่เบส ที่ควบคุมการสร้างหน่วยย่อยเบต้า (β-subunit) ของเอนไซม์ ATP synthase ซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการสร้าง ATP (รูปที่ 5) โดยยีนตำแหน่งนี้ถูกนำมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพืชร่วมกับยีน *rbc*L ทำให้สามารถแสดงความสัมพันธ์ในระดับขั้น (Taxa) ของพืชมีเมล็ดระหว่างกลุ่มพืชใบเลี้ยงคู่แท้ (eudicots) และกลุ่มพืชไม่มีใบเลี้ยงแท้ (noneudicots) ได้อย่างชัดเจน (Savolainen, et al., 2000; Soltis, et al., 2000) รวมถึงสามารถแสดงความสัมพันธ์ของอันดับ Caryophyllales ที่ประกอบด้วย 127 taxa ได้ (Cuénoud, et al., 2001) และพืชวงศ์ Solanaceae สกุล *Capsicum* ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น (Walsh & Hoot, 2001)



รูปที่ 5 แผนภาพแสดงตำแหน่งยีน *rbc*L และยีน *atp*B

2.4 ยีน *ndh*F

เป็นยีนขนาดประมาณ 1,900 คู่เบส ควบคุมการสร้างโปรตีน NADH dehydrogenase subunit F โดยยีนนี้มักใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพืชในระดับวงศ์และระดับสกุลได้ อาทิเช่น วงศ์ Poaceae (Clark, et al., 1995) วงศ์ Asteroideae (Kim & Jansen, 1995) วงศ์ Bombacaceae, Malvaceae, Sterculiaceae, และ Tiliaceae (Alverson, et al., 1999) และในประเทศไทยได้มีรายงานการใช้ยีน *ndh*F ในการศึกษาความหลากหลายในระดับสกุลพืชวงศ์ Amaryllidaceae ได้ (Changcharoen, et al., 2014)

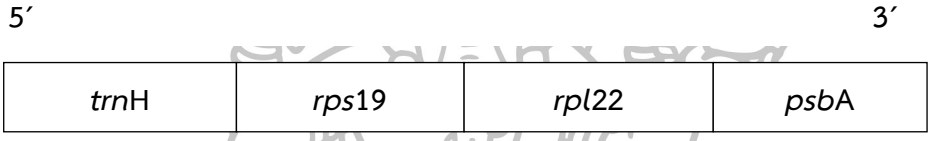
2.5 *trn*L-*trn*F intergenic spacer

เป็นดีเอ็นเอส่วนที่ไม่มีการควบคุมการสร้างโปรตีน (non-coding region) ที่อยู่ระหว่างยีน *trn*L และยีน *trn*F ซึ่งเป็นยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างกรดอะมิโนลูซีน (leucine, L) และฟีนิลอะลานีน (phenylalanine, F) ตามลำดับ (รูปที่ 6) ซึ่งดีเอ็นเอบริเวณนี้จะมีอัตราการแทนที่ของเบสสูงจึงสามารถใช้ในการระบุชนิดพืชได้ และนิยมใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการในระดับวงศ์และระดับสกุล เพื่อแก้ปัญหาเกี่ยวกับการจัดจำแนกกลุ่มพืชโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ไม่ชัดเจน (Bayer & Starr, 1998; Bortiria, et al., 2001; Nyffeler, 2001) นอกจากนั้นยังมีการใช้ดีเอ็นเอบริเวณ *trn*L-*trn*F นี้ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอ (McDade & Moody, 1999; McDade, et al., 2005) และมีการใช้ในการระบุชนิดพืชสมุนไพรในสกุล *Cinnamomum* อีกด้วย (Kojoma, et al., 2002)

รูปที่ 6 แผนภาพแสดงบริเวณ *trn*L-*trn*F intergenic spacer

2.6 *trn*H-*psb*A intergenic spacer

เป็นดีเอ็นเอส่วนที่ไม่มีการควบคุมการสร้างโปรตีน ที่อยู่ระหว่างยีน *trn*H และยีน *psb*A โดยยีน *trn*H ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างกรดอะมิโนฮีสทิดีน (histidine, H) ส่วนยีน *psb*A ควบคุมการสร้างโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของ photosystem II ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช และดีเอ็นเอบริเวณนี้จะมียีนขนาดเล็กแทรกอยู่ คือ ยีน *rps*19 และยีน *rpl*22 (รูปที่ 7) โดยดีเอ็นเอบริเวณ *trn*H-*psb*A นี้ได้ถูกนำมาใช้ในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับพืชดอก เนื่องจากสามารถเพิ่มจำนวนด้วยวิธีพีซีอาร์ได้ถึงร้อยละ 100 และเป็นบริเวณที่มีความแตกต่างในระดับชนิดสูง (Kress, et al., 2005; Sudmoon, et al., 2012) และยังพบว่ามีความสามารถในการใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดมากขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับตำแหน่ง ITS2 ซึ่งให้ผลดีกว่าการใช้ตำแหน่ง *mat*K และ *rbc*L ร่วมกัน (Pang, et al., 2012; Tontiworachai & Tanpanich, 2014)



รูปที่ 7 แผนภาพแสดงบริเวณ *trn*H-*psb*A intergenic spacer

Selvaraj และคณะ (China Plant BOL Group, 2011; Selvaraj, et al., 2012) ได้ทำการศึกษาดีเอ็นเอตำแหน่ง *rbc*L, *mat*K, *psbA* และ ITS ในพืชมีเมล็ด 1,757 ชนิด จาก 75 วงศ์ พบว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS สามารถเพิ่มจำนวนด้วยวิธีพีซีอาร์ได้ 87.1-92.7% ในพืชมีเมล็ดและยังช่วยเพิ่มความสามารถในการจำแนกชนิดเมื่อวิเคราะห์ร่วมกับดีเอ็นเอตำแหน่ง *rbc*L, *mat*Kหรือ *trn*H –*psb*A อีกหนึ่งตำแหน่ง ซึ่งดีกว่าการใช้ตำแหน่ง *rbc*L และ *mat*K วิเคราะห์ร่วมกัน นอกจากนั้นดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 ที่เป็นส่วนหนึ่งของ ITS ยังมีความสามารถในการจำแนกชนิดได้ดีเช่นกัน เนื่องจากความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบอยู่ในบริเวณ ITS2 ซึ่งคณะวิจัยได้เสนอให้ดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS และ ITS2 เหมาะสำหรับเป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชมีเมล็ด และเนื่องจากขนาดของ ITS2 มีความยาวไม่มากนักแต่มีความสามารถในการจำแนกชนิดพืชสมุนไพรได้หลายชนิด (Han, et al., 2013) ทั้งพืชวงศ์ถั่ว Fabaceae (Gao, et al., 2010[b]) สมุนไพรฉ่งยัง Cistanches (Sun, et al., 2011) ต้น *Taraxacum formosanum* (Chiang, et al., 2011) จึงทำให้นักวิจัยสนับสนุนให้ใช้ ITS2 เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดขนาดเล็กสำหรับพืชสมุนไพร แต่สำหรับพืชบางชนิดดีเอ็นเอในตำแหน่ง *psb*A-*trn*H ก็พบว่าเหมาะสมสำหรับการจำแนกชนิดมากกว่าดีเอ็นเอตำแหน่งอื่น เช่น ต้นสายน้ำผึ้ง *Lonicera japonica* (Sun, et al., 2011) พืชกลุ่มเฟิร์น pteridophyte (Ma, et al., 2010) สมุนไพรเน็กฉ่งย้ง *Cistanche วงศ์* Orobanchaceae (Han, et al., 2010) หรือดีเอ็นเอตำแหน่ง *mat*K

ที่มีการศึกษากล้วยไม้สกุลหวาย *Dendrobium* (Asahina, et al., 2010) ต้น *Sideritis trojana* (Tezcan, et al., 2010) โกฐน้ำเต้า (Xu, et al., 2013) กวาวเครือ (Wiriyakarun, et al., 2013)

แม้ว่าจะมีหลายงานวิจัยเสนอให้ใช้ดีเอ็นเอเพียงตำแหน่งเดียวเป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชได้ แต่ก็พบข้อจำกัดที่ยังไม่สามารถใช้กับพืชได้ทุกชนิด จึงทำให้มีหลายงานวิจัยแนะนำให้ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับพืชมากกว่า 1 ตำแหน่งร่วมกัน โดยกลุ่ม CBOL plant working group ได้เสนอให้ดีเอ็นเอตำแหน่ง *mat*K และ *rbc*L ร่วมกันเพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืช (CBOL, 2009) แต่มีการศึกษาในโสม พบว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง *psb*A-*trn*H กับ ITS มีความสามารถจำแนกชนิดของโสม 95 ตัวอย่างได้ดีที่สุดจากดีเอ็นเอ 12 ตำแหน่ง (Zuo, et al., 2011) หรือดีเอ็นเอตำแหน่ง *psb*A-*trn*H กับ ITS2 ก็ถูกนำมาใช้ร่วมกันในการจำแนกพืชวงศ์ผกากรอง Verbenaceae (Chen, et al., 2012) แต่สำหรับพืชวงศ์กะเพรา (Lamiaceae) พบว่าการใช้ดีเอ็นเอตำแหน่ง *mat*K ร่วมกับ *trn*H-*psb*A สามารถจำแนกชนิดได้ดีที่สุด (Theodoridis, et al., 2012) จะเห็นได้ว่าตราบจนปัจจุบันยังไม่มียีนใดหรือตำแหน่งของดีเอ็นเอเพียงตำแหน่งเดียวของพืชที่สามารถนำมาใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาตรฐานสำหรับพืชทุกชนิดได้ จึงมีการแนะนำให้ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดหลายตำแหน่งร่วมกัน ซึ่งการนำดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาประยุกต์ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์เพื่อระบุชนิดของพืชสมุนไพรนั้นเป็นวิธีที่สามารถทำได้อย่างรวดเร็วและมีความแม่นยำสูง ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อวงการสมุนไพรและสามารถขยายผลในการนำไปใช้เป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพยาสมุนไพรต่อไป ในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาแนวทางการพิสูจน์เอกลักษณ์พืชโดยใช้หลักการดีเอ็นเอบาร์โค้ด โดยเลือกใช้พืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยเป็นพืชสมุนไพรต้นแบบ

มหาวิทยาลัยศิลปากร

II. พืชวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae)

พืชวงศ์เหงือกปลาหมอพบทั่วโลกกว่า 246 สกุล 4,000 ชนิด และในประเทศไทยพบ 36 สกุล 187 ชนิด (สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2557)

ลักษณะของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ

เป็นไม้ต้นขนาดเล็ก ไม้พุ่ม ไม้ล้มลุก หรือไม้เลื้อย ไม่มีหูใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ขอบใบเรียบ เส้นใบแยกออกจากสองข้างของเส้นกลางใบแบบขนนก ดอกออกตามง่ามใบหรือปลายยอด เป็นช่อหรือดอกเดี่ยว มักมีใบประดับคล้ายใบหุ้มหลอดกลีบดอก ดอกสมมาตรด้านข้าง สมบูรณ์เพศ กลีบเลี้ยงโคนเชื่อมติดกันปลายแยกเป็น 4 แฉก กลีบดอกโคนเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 2 ซีก มี 5 แฉก โดยมักเป็น 2 ปาก เกสรเพศผู้มี 4 เกสร สั้นสอง ยาวสอง หรือมีเพียง 2 เกสร ติดบนหลอดกลีบดอก รังไข่มี 2 ช่อง แต่ละช่องมีออวุล 2-10 เม็ด ผลเป็นแบบผลแห้งแตก เมล็ดมี 2 ถึงหลายเมล็ดติดบนก้านคล้ายตะขอ (ก่องกานดา, 2550)

พืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย มีหลายชนิดเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยาที่ได้รับความนิยมและมีการใช้อย่างแพร่หลาย อาทิเช่น เหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus)* ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata)* ทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus)* เสลดพังพอน *(Barleria lupulina)* และรางจืด (*Thunbergia laurifolia)* เป็นต้น พืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่มีสรรพคุณเป็นพืชสมุนไพรแสดงดังตารางที่ 1

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 1 สรรพคุณทางยาของพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย

สกุล	ชื่อไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้และสรรพคุณ
Acanthus	เหงือกปลาหมอ	*Acanthus ebracteatus* Vahl	*ทั้งต้น* ใช้รักษาโรคนิ่วในไต รักษาโรคผิวหนัง *ใบใช้* แก้โรคไขข้ออักเสบ รักษาโรคผิวหนัง และขับน้ำเหลืองเสีย *ราก* ขับเสมหะ บำรุงประสาท แก้ไอ แก้หืด *เมล็ด* ขับพยาธิ และขับน้ำเหลืองเสีย[1,3,5,9]
Andrographis	ฟ้าทะลายโจร	*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees	*ทั้งต้น* แก้ไข้ทั่ว ๆ ไป เช่น ไข้หวัด ไข้หวัดใหญ่ ระงับอาการอักเสบ พวกไอ เจ็บคอ คออักเสบ ต่อมทอนซิล หลอดลมอักเสบ ขับเสมหะ รักษาโรคผิวหนังฝี แก้ติดเชื้อ พวกทำให้ปวดท้อง ท้องเสีย บิด และแก้กระเพาะลำไส้อักเสบ เป็นยาขมเจริญอาหาร[1,2,9]
Asystasia	บาหยา	*Asystasia gangetica* (L.) T. Anderson	*ใบ* คั้นกับน้ำทาแก้ปวดบวม และแก้โรคตามข้อ *ใบและดอก* ต้มกินใช้เป็นยาสมานลำไส้[1]
Barleria	อังกาบ	*Barleria cristata* L.	*ราก* ปรุงเป็นยาขับปัสสาวะ และฟอกโลหิตประจำเดือนแก้ประจำเดือนคั่งค้างเป็นลิ่มเป็นก้อน และเจ็บปวดเมื่อยบั้นเอว[1]
	อังกาบหนู	*B. prionitis* L.	*ใบ* ใช้แก้งูกัด เคี้ยวแก้ปวดฟัน[1]
	เสลดพังพอน	*B. lupulina* Lindl.	*ราก* แก้ตาเหลือง หน้าเหลือง เมื่อยตัว กินข้าวไม่ได้ แก้เจ็บท้อง แก้ผิดอาหาร ถอนพิษงู พิษแมลงสัตว์กัดต่อย แก้ปวดฟัน *ใบ* ถอนพิษแมลงสัตว์กัดต่อย แก้ลมพิษ รัก-ษาเม็ดผื่นคันตามผิวหนัง แก้โรค เบาหวาน แก้โรคฝีต่าง ๆ รักษาโรคคางทูม แก้โรคไฟลามทุ่ง แก้ขยุ้มตีนหมา แก้โรคงูสวัด รักษาโรคเริม[1,2,9]

ตารางที่ 1 สรรพคุณทางยาของพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย (ต่อ)

สกุล	ชื่อไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้และสรรพคุณ
Barleria	สังกรณี	*B. strigosa* Willd.	***ทั้งต้น*** ต้มน้ำดื่ม แก้อาการไอเป็นเลือด บำรุงกำลัง ต้มน้ำดื่มเป็นยาบำรุงกำลัง ดองเหล้าบำรุงกำหนัด ***ราก*** รสขม ใช้ปรุงเป็นยาแก้ร้อนในกระหายน้ำ ดับพิษไข้ทั้งปวง ถอนพิษไข้กาฬ ลดความร้อนในร่างกาย แก้ไอ แก้โลหิตกำเดา[1]
Clinacanthus	พญายอ	*Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau	*ทั้งต้น* ใช้ถอนพิษ โดยเฉพาะพิษแมลงสัตว์กัดต่อย ตะขาบ แมลงป่อง รักษาอาการอักเสบ งูสวัด ลมพิษ แผลน้ำร้อนลวก *ใบ* นำมาสกัดทำทิงเจอร์และกลีเซอรีน ใช้รักษาแผลผิวหนังชนิดเริม Herpes และรักษาแผลร้อนในในปาก Apthous ตับพิษร้อน แก้แผลน้ำร้อนลวก *ราก* ปรุงเป็นยาขับปัสสาวะ ขับประจำเดือน แก้ปวดเมื่อยบั้นเอว[9]
Crossandra	อังกาบสีปูน	*Crossandra infundibuliformis* (L.) Nees	*ต้น* ใช้ต้มน้ำดื่มบำรุงกำลัง *ราก* ใช้ปรุงเป็นยารับประทานถอนพิษไข้ แก้ร้อนในกระหายน้ำ[1]
Grapthophyllum	ใบเงิน	*Grapthophyllum pictum* (L.) Griff.	*ราก* ถอนพิษ แก้โรคตับ แก้เสมหะ รักษาโรค ผิวหนัง ปอดบวม[9]
Justicia	เสนียด	*Justicia adhatoda* L.	*ใบ* ลดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินอาหาร[1]
	หางแมว	*J. betonica* L.	*ใบ* ดับพิษโลหิต สมานแผล แก้ริดสีดวงทวาร ขับปัสสาวะ[1]
	สันพร้ามอญ ขาไก่ดำ	*J. gendarussa* Burm. f.	*ใบ* นำใบสดมาตำและเอาน้ำมาดื่ม แก้ปวดศีรษะโรคหืด ไอ อัมพาต นำมาตำคั้นน้ำมาผสมกับเหล้ากิน แก้ไอ อาเจียน[9]

ตารางที่ 1 สรรพคุณทางยาของพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย (ต่อ)

สกุล	ชื่อไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้และสรรพคุณ
Justicia	ปีกไก่ดำ	*J. fragilis* Dennst.	*ทั้งต้น* แก้งูสวัด ผื่นคัน[1]
	กระดูกไก่ดำ	*J. valida* var. *glandulosa* Fisch.	***ใบ*** รสเย็น แก้เลือดคั่งค้างเป็นลิ่ม แก้ปวดศีรษะ แก้ไอ แก้อาเจียนเป็นเลือด แก้ช้ำใน แก้ปวดข้อ แก้พิษสัตว์กัดต่อย[1]
Peristrophe	หว้าชะอำ	*Peristrophe lanceolaria* (Roxb.) Nees	*ราก* ฝนกับเหล้า แก้ซางเด็ก *ใบ* ตำแล้วคั้นน้ำใช้ทาหรือพอกแก้การอักเสบ บวมหรือติดเชื้อ[3,8]
Phlogacanthus	ดีปลากั้ง	*Phlogacanthus pulcherrimus* T. Anderson	*ลำต้น* ต้มน้ำดื่ม ช่วยขับปัสสาวะ แก้ปัสสาวะขัด *ยอดอ่อน* มีรสขมอ่อน ๆ กินเป็นอาหาร ช่วยเจริญอาหาร[1]
Pseuderanthemum	เฒ่าหลังลาย	*Pseuderanthemum graciliflorum* (Nees) Ridl.	*ทั้งต้น* แก้อ่อนเพลีย ปวดเมื่อย *ใบ* แก้โรคผิวหนังและผื่นคัน[1]
	พญาวานร	*P. palatiferum* (Nees) Radlk. ex Lindau	*ใบ* รักษาโรคกระเพาะ เบาหวาน ลดความดันโลหิต[1]
Rhinacanthus	ทองพันชั่ง	*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz	*ใบ ราก* แก้โรคผิวหนังและผื่นคัน โรคกลากเกลื้อน ขับปัสสาวะ[1]
Ruellia	ต้อยติ่ง	*Ruellia tuberosa* L.	*ราก* ใช้ผสมยาแก้พิษ ดับพิษ ยาเบื่อ[7]
Strobilanthes	ฮ่อม	*Strobilanthes cusia* (Nees) Kuntze	*รากและใบ* ต้มน้ำดื่มแก้ไข้ เจ็บคอ หลอดลมอักเสบ ต่อมท่อมซิล *ทั้งต้น* ย้อมผ้า ให้สีน้ำเงินเข้มเกือบดำ[8]
Thunbergia	หนามแน่แดง	*Thunbergia coccinea* Wall. ex D. Don	*ใบและเครือ* แก้อาการเคืองตา ตาแดง เจ็บตา *ดอกและผล* นำมาตำพอกแผลที่โดนงูกัด ช่วยดูดพิษ *เครือ* ต้มน้ำกินเวลาที่โดนพิษจากสัตว์มีพิษ เช่น งู ตะขาบ แมงป่อง แมงมุมพิษ *เถาอ่อนและใบ* ต้มน้ำอาบเป็นยาแก้ แก้อาการเด็กนอนไม่หลับ[4]

ตารางที่ 1 สรรพคุณทางยาของพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย (ต่อ)

สกุล	ชื่อไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้และสรรพคุณ
Thunbergia	สร้อยอินทนิล	*T. grandiflora* (Roxb. ex Rottler) Roxb.	*รากและเถา* ใช้พอกแก้ฟกช้ำ ตำพอกแผลแก้อักเสบ *ใบ* ชงดื่มแก้ปวดท้อง[4]
	รางจืด	*T. laurifolia* Lindl.	*รากและเถา* รับประทานแก้ร้อนใน กระหายน้ำ *ใบและราก* ใช้ปรุงเป็นยาถอนพิษไข้ เป็นยาพอกบาดแผล น้ำร้อนลวก ไฟไหม้ ทำลายพิษยาฆ่าแมลง พิษจากสตริกนินให้เป็นกลาง พิษจากดื่มเหล้ามากเกินไป หรือยาเบื่อชนิดต่าง ๆ[4]

([1]บุศบรรณ, 2525; [2]สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน สำนักงานปลัดกระทรวง, 2540; [3]ประชีพ, 2541; [4]สง่า, 2541; [5]ลิขิต, 2544[a]; [6]สง่า, 2544; [7]ลิขิต, 2544[b]; [8]มนตรี และธวัชชัย, 2546; [9] โชติอนันต์, 2550)

การใช้พืชสมุนไพรวงศ์เหงือกปลาหมอในบัญชียาหลักแห่งชาติ

ปัจจุบันรัฐบาลและสำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ (สปสช.) ได้เห็นความสำคัญและผลักดันให้มีการใช้พืชสมุนไพรร่วมกับยาแผนปัจจุบันมากขึ้น จากรายงานของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ (สสส.) ในปี พ.ศ. 2549-2550 พบว่ามูลค่ายาสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติเท่ากับ 39,427,632 บาท ส่วนมูลค่ายาจากสมุนไพรนอกบัญชียาหลักแห่งชาติเท่ากับ 44,117,746 บาท รวมทั้งสิ้น 83,545,378 บาท (ณัฏฐิญา และคณะ, 2554) ซึ่งถือว่ามีมูลค่าสูงมาก และจากรายงานผลการดำเนินงานของกองทุนแพทย์แผนไทย กองทุนหลักประกันสุขภาพแห่งชาติในปี พ.ศ. 2557 พบว่าการใช้ยาสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ 90 รายการ มีสัดส่วนเพิ่มมากขึ้น โดยปี พ.ศ. 2557 ช่วง 3 ไตรมาสแรก มีการสั่งจ่ายทั้งหมด 2,921,427 ครั้ง และคาดว่าจะมีแนวโน้มในการใช้ยาสมุนไพรมากขึ้น (Hfocus เจาะลึกระบบสุขภาพ, 2557) ทั้งนี้ยาสมุนไพรในพืชวงศ์เหงือกปลาหมอมีการสั่งใช้มากที่สุดในบัญชียาหลักทั้งในรูปแบบยาตำรับ และสมุนไพรเดี่ยว (ณัฏฐิญา และคณะ, 2554) ดังนี้

1. เหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus)* เป็นส่วนประกอบหนึ่งในยาปราบชมพูทวีป เพื่อบรรเทาอาการหวัด
2. ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata)* เพื่อบรรเทาอาการท้องเสียที่ไม่ติดเชื้อ บรรเทาอาการเจ็บคอ โดยมีการสั่งจ่ายในสถานบริการสาธารณสุขภาครัฐในส่วนภูมิภาค 192 แห่ง จากทั้งหมด 318 แห่ง ในรูปของยาเม็ด ยาแคปซูล และยาลูกกลอน
3. พญายอ *(Clinacanthus nutans)* เพื่อบรรเทาอาการของเริมและงูสวัด โดยมีการสั่งจ่ายในสถานบริการสาธารณสุขภาครัฐในส่วนภูมิภาค 179 แห่ง จากทั้งหมด 318 แห่ง ในรูปแบบยาครีม ยาโลชั่น สารละลาย (สำหรับป้ายปาก)
4. ทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus)* เพื่อบรรเทาอาการโรคผิวหนังกลากเกลื้อน ซึ่งพบในรูปแบบทิงเจอร์
5. รางจืด (*Thunbergia laurifolia)* เพื่อบรรเทาอาการไข้ ร้อนใน โดยมีการสั่งจ่ายในสถานบริการสาธารณสุขภาครัฐในส่วนภูมิภาค 41 แห่ง จากทั้งหมด 318 แห่ง ในรูปแบบยาชงและยาแคปซูล

จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอ ได้มีการนำมาใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ จำนวนมาก และมีแนวโน้มในการใช้เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจัดเป็นพืชสมุนไพรที่สำคัญทางเศรษฐกิจวงศ์หนึ่ง ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้พืชวงศ์เหงือกปลาหมอเป็นตัวแทนในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด เพื่อใช้เป็นแนวทางในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชสมุนไพรอื่นที่สำคัญของประเทศต่อไป

III. การวิเคราะห์ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด

ดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตจะประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิด คือ อะดีนีน (adenine, A) ไทมีน (thymine, T) ไซโทซีน (cytosine, C) และกัวนีน (guanine, G) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอบริเวณใดบริเวณหนึ่งจะมีการจัดเรียงตัวที่แตกต่างกันออกไปในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ซึ่งจัดเป็นเอก-ลักษณ์เฉพาะตัวของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ หากนำสายนิวคลีโอไทด์มาเปรียบเทียบกันจะพบความแตกต่างในแต่ละคู่เบสที่เกิดจากการแทนที่คู่เบส 1 ใน 2 ลักษณะ อันได้แก่ 1) ทรานสิชัน(transition) คือ การแทนที่ด้วยเบสชนิดเดียวกัน (แทนเบสพิวรีนด้วยเบสพิวรีน หรือ แทนที่เบสไพริมิดีนด้วยเบสไพริมิดีน) และ 2) ทรานสเวอร์ชัน (transversion) คือการแทนที่เบสพิวรีนด้วยไพริมีดีน หรือเบสไพริมิดีนด้วยพิวรีน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้เกิดความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตขึ้นทั้งในพืชและสัตว์ ดังนั้นการจัดเรียงของลำดับนิวคลีโอไทด์จึงถูกนำมาใช้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต โดยคำนวณจากระยะห่างทางวิวัฒนาการระหว่างสายนิวคลีโอไทด์ ซึ่งสามารถคำนวณได้หลายวิธี ยกตัวอย่างเช่น

1. Jukes-cantor เป็นวิธีการคำนวณระยะห่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ จากสมมุติฐานที่ว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 ชนิด ถูกแทนที่อย่างอิสระ ทั้งแบบtransversionsและ transition ในอัตราส่วนที่เท่ากัน ดังสมการ แต่ถ้าคู่ของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่นำมาวิเคราะห์มีความแตกต่างกันเกินกว่า 0.75 จะไม่สามารถวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ได้ (Jukes & Cantor, 1969)

$$d_{AB} = -\frac{3}{4} ln\left(1 - \frac{4}{3} f_{AB}\right)$$

เมื่อ f_{AB} คือ ความแตกต่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ A และ B

D_{AB} คือ ระยะห่างทางวิวัฒนาการระหว่างสายนิวคลีโอไทด์ A และ B

2. Kimura 2 parameter (K2P distance) เป็นวิธีการคำนวณระยะห่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ จากสมมุติฐานที่ว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 ชนิด มีอัตราการแทนที่แบบtransversionsและ transition ในสัดส่วนที่ไม่เท่ากัน ซึ่งวิธีนี้นิยมใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตและวิเคราะห์ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดด้วย (Kimura, 1980)

$$d_{AB} = -\frac{1}{2} ln\left[(1 - 2P - Q)\sqrt{1 - 2Q}\right]$$

เมื่อ P คือ จำนวนเบสที่เกิดการแทนที่เบสแบบทรานสิชัน

Q คือ จำนวนเบสที่เกิดการแทนที่เบสแบบทรานสเวอร์ชัน

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมี วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมีและสารที่ใช้เป็นตัวทำปฏิกิริยา (Chemicals & Reagents)

ฟีนอล (Phenol)	Gammaco
เมอร์คิวริกคลอไรด์ (Mercury(II) chloride, HgCl)	Merck
อะกาโรส (Agarose)	Vivantis
*สีย้อม*เอธิเดียมโบรไมด์ *(Ethidium Bromide, EtBr)*	Life technologies
Dimethyl sulfoxide (*DMSO*)	Thermo scientific
Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)	Merck
Tris base	Vivantis
ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ไตรฟอสเฟต (Deoxyribonucleotide triphosphates, dNTPs)	Vivantis
ดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp, 1 Kb และ 2-log DNA Ladder)	Biolabs

สารอื่นที่ไม่ได้ระบุไว้เป็นสารที่มีคุณภาพในระดับที่ใช้ในการวิเคราะห์ (analytical grade)

3.1.2 เอนไซม์และบัฟเฟอร์

Taq DNA Polymerase	Biolabs
10x *Taq* buffer	Biolabs

3.1.3 พีซีอาร์ไพรเมอร์

พีซีอาร์ไพรเมอร์ทั้งหมดสั่งซื้อจากบริษัท Biolegio, Sigma โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ของคู่ไพร-เมอร์จำเพาะสำหรับใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 คู่ไพรเมอร์จำเพาะสำหรับใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F

บริเวณดีเอ็นเอ		**คู่ไพรเมอร์จำเพาะ (5′-3′)**
ITS2	S2F	ATGCGATACTTGGTGTGAAT
	S3R	GACGCTTCTCCAGACTACAAT
*psb*A-*trn*H	psbA′3f	GTTATGCATGAACGTAATGCTC
	trnH′r	CGCGCATGGTGGATTCACAATCC
*trn*L-*trn*F	UniE	GGTTCAAGTCCCTCTATCCC
	UniF	ATTTGAACTGGTGACACGAG

3.1.4 การเตรียมน้ำยาอาบพรรณไม้

ฟีนอล 20 มิลลิลิตร

เมอร์คิวริกคลอไรด์ 28 กรัม

เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 1 ลิตร

ชั่งเมอร์คิวริกคลอไรด์ 28 กรัม ใส่ในขวดเตรียมสาร เติมฟีนอล 20 มิลลิลิตร และเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 1 ลิตร ผสมให้สารละลายเข้ากัน

3.1.5 วัสดุและอุปกรณ์

ชุดทำชิ้นดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์ PureLink™ Quick Gel Extraction Kit Invitrogen

ชุดสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอพืช Nucleospin® Plant II Macherey-Nagel

เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (Thermal cycler) Gene amp

เครื่องแยกสารพันธุกรรมแบบแนวนอน (Gel Electrophoresis) Mupid-exU

เครื่องวัดปริมาณสารพันธุกรรมปริมาณน้อย (Microvolume nucleic acid spectrophotometer) Actgene, Nas-99 nudrop

เครื่องถ่ายภาพเจลพร้อมโปรแกรมวิเคราะห์ (Gel Document and Analysis system) Syngene

เครื่องปั่นผสม (Vortex mixture) Labnet

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การตรวจสอบความถูกต้องของชนิดพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย

ตรวจสอบรายชื่อและจำนวนชนิดพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยจากฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2557) และตรวจสอบความถูกต้องของรายชื่อพืชวงศ์เหงือกปลาหมอจากฐานข้อมูล IPNI (International Plant Names Index, 2005) และ The Plant List (The Plant List, 2010)

3.2.2 สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย

เก็บตัวอย่างพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย อย่างน้อยสกุลละ 1 ชนิด (ในกรณีที่ไม่สามารถหาตัวอย่างเพิ่มได้) และทำการระบุชนิดพืชตามคู่มือจำแนกพรรณไม้ ได้แก่ Flora of china (eFloras, 2014) และฐานข้อมูลสารานุกรมพืชในประเทศไทย (สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2557) โดยดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชเทียบกับคู่มือจำแนกพรรณไม้ หากข้อมูลถูกต้องจึงทำการเก็บตัวอย่างโดยแบ่งตัวอย่างพืชที่เก็บได้เป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 เพื่อจัดทำพรรณไม้อ้างอิง และส่วนที่ 2 เพื่อนำไปสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ (genomic DNA)

3.2.3 การจัดทำพรรณไม้อ้างอิง โดยทำการอัดแห้งพรรณไม้เพื่อเก็บเป็นตัวอย่างอ้างอิง (Voucher specimen) ตามวิธีของก่องกานดา (ก่องกานดา, 2541)

โดยตัวอย่างพืชที่จะทำการจัดเก็บต้องมีความสมบูรณ์โดยมีส่วนประกอบของใบ ดอก และ/หรือผลครบ บันทึกภาพทุกส่วนของพืชและจัดเก็บรวบรวมเป็นฐานข้อมูลภาพ

นำตัวอย่างมาล้างทำความสะอาด แล้วจัดเรียงลงในกระดาษหนังสือพิมพ์ให้มองเห็นรายละเอียดในส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ชัดเจนที่สุด พร้อมติดป้ายรหัสพรรณไม้ที่จัดเก็บ พร้อมป้ายข้อมูลพรรณไม้ ซึ่งประกอบด้วย

ชื่อวงศ์ (Family)
ชื่อพฤกษศาสตร์ (Botanical name)
ชื่อท้องถิ่น (Local name)
ความสูงจากระดับน้ำทะเล (Altitude)
สถานที่เก็บ (Locality)
ลักษณะวิสัย (Habitat)
ชื่อผู้เก็บ (Collector name)
วันที่เก็บ (Date)
หมายเลขตัวอย่างที่เก็บ (Number)
รวมถึงข้อมูลพรรณไม้อื่นๆ (Note) เช่น ความสูง สีดอก

จากนั้นนำตัวอย่างใส่ในแผงไม้สำหรับอัดพรรณไม้ที่รองด้วยกระดาษแข็งลูกฟูก นำไปตากแดด หรืออบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (°C) จนกระทั่งพรรณไม้แห้งสนิท แล้วทำการอาบพรรณไม้ด้วยน้ำยาสำหรับอาบพรรณไม้ รอให้แห้งสนิทจึงทำการเย็บตัวอย่างติดกับกระดาษแข็งเพื่อความคงทนของตัวอย่างพรรณไม้ นำพรรณไม้อ้างอิงที่ได้เก็บรักษาไว้กับสำนักงานหอพรรณไม้ กรมป่าไม้ (BKF Forest Herbarium) โดยจะได้รับเลขพรรณไม้เพื่อใช้ในการอ้างอิงต่อไป

ข้อควรระวัง

1. ตัวอย่างพืชที่มีลักษณะกลีบดอกบาง ควรจะมีการรองดอกด้วยกระดาษทิชชูก่อนเพื่อป้องกันการฉีกขาดของกลีบดอกขณะอบแห้ง
2. ตัวอย่างผลที่มีลักษณะอวบน้ำ ควรมีการผ่าหรือกรีดผล เพื่อให้ง่ายต่อการอบแห้ง
3. ตัวอย่างพืชที่มีความชื้นมาก ควรหมั่นเปลี่ยนกระดาษหนังสือพิมพ์เพื่อป้องกันการเจริญของรา
4. ในกรณีที่ตัวอย่างพืชไม่สามารถอัดพรรณไม้ได้ทันที ควรแช่ตัวอย่างพืชในเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 เพื่อลดการร่วงของใบและดอกที่จะเกิดขึ้น

3.2.4 การสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ

การสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอในการศึกษานี้ใช้ตัวอย่างพืชในส่วนของใบสดที่ไม่อ่อนหรือแก่จนเกินไป นำตัวอย่างใบสด 100 มิลลิกรัม มาเช็ดทำความสะอาดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 ทิ้งไว้สักพักจนใบแห้ง นำไปใส่ลงในโกร่งที่เย็น แล้วเติมไนโตรเจนเหลวลงไปเพื่อให้ตัวอย่างใบแข็งตัว บดตัวอย่างให้ละเอียดอย่างรวดเร็ว

ทำการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอตามวิธีการของชุดสกัด Nucleospin® Plant II (Macherey Nagel, 2014) โดยมีขั้นตอนดังนี้คือ นำตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วใส่ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายที่ช่วยทำให้เซลล์แตก PL1 ที่มี Cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) เป็นองค์ประกอบ ลงไปจำนวน 450 ไมโครลิตร ปั่นผสมให้ทั่วถึง และเติม RNase A 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที (อาจเพิ่มเวลาการบ่มได้ถึง 60 นาที ขึ้นกับชนิดของพืช) หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปกรองผ่าน Nucelospin® Filter ที่ประกอบอยู่กับ collection tube ทำการปั่นเหวี่ยง ที่ 11,000 x g เป็นเวลา 2 นาที เก็บสารละลายใสที่ผ่านการกรอง (flow-through) ในส่วนของ collection tube นำมาเติมสาร Binding Buffer PC จำนวน 450 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำเอาตัวอย่างดังกล่าวไปผ่าน Nucleospin® Plant II column ที่ประกอบอยู่กับ collection tube หลอดใหม่ (ปริมาณสูงสุดได้ครั้งละ 700 ไมโครลิตร) เพื่อให้จีโนมิกดีเอ็นเอจับกับแผ่นซิลิกาในคอลัมน์ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 x g เป็นเวลา 1 นาที เทสารละลาย flow-through ด้านล่างทิ้ง จากนั้นจึงล้างดีเอ็นเอที่จับอยู่บนแผ่นซิลิกาครั้งที่ 1 ด้วย

Washing Buffer-PW1 จำนวน 400 ไมโครลิตร แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 x g เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งสารละลาย flow-through ด้านล่าง จากนั้นล้างครั้งที่ 2 ด้วย Washing Buffer PW2 จำนวน 700 ไมโครลิตร แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 x g เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งสารละลาย flow-through ด้านล่าง แล้วจึงล้างครั้งที่ 3 ด้วยWashing Buffer PW2 จำนวน 200 ไมโครลิตร แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 x g เป็นเวลา 2 นาที

ทำการชะ (elute) เอาจีโนมิกดีเอ็นเอออกโดยนำ Nucleospin® Plant II column นั้นมาวางบนหลอดไมโครเซนติฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วจึงเติม Eluting Buffer PE (65°C) จำนวน 50 ไมโครลิตร บ่มที่ 65°C นาน 5 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 x g นาน 1 นาที เก็บสารละลายจีโนมิกดีเอ็นเอในหลอดด้านล่าง

ตรวจสอบผลจีโนมิกดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัด ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีสโดยใช้เจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 0.8 เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน และวัดความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของสารละลายจีโนมิกดีเอ็นเอด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงปริมาณน้อย (Micro-volume Nucleic Acid spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร

3.2.5 การตรวจสอบดีเอ็นเอโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีสโดยใช้เจลอะกาโรส

3.2.5.1 เตรียมเจลอะกาโรส โดยมีขั้นตอนดังนี้ เตรียมถาดใส่เจล และหวีเจล (Comb) ให้มีขนาดตามที่ต้องการ ชั่งอะกาโรส 0.8 มิลลิกรัม และ 2 มิลลิกรัม สำหรับเตรียมเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 0.8 และ 2 ตามลำดับ เติมสารละลาย 1x TAE buffer 100 มิลลิลิตร ลงในขวดอะกาโรสที่ชั่งไว้และเขย่าให้มีการละลายเล็กน้อย และให้ความร้อนด้วยเตาไมโครเวฟ สลับกับการเขย่าเพื่อให้มีการละลายทั่วถึงจนอะกาโรสละลายหมด

รอจนสารละลายอะกาโรสมีอุณหภูมิประมาณ 60 ºC จึงเทลงในถาดเจลที่เตรียมไว้ให้มีความหนา 3-5 มิลลิลิตร แล้วรอให้เจลแข็งตัว

3.2.5.2 เตรียมชุดวิเคราะห์อิเล็กโตโฟรีซีสแบบแนวนอน โดยประกอบกล่องเจล (Gel box) กับอิเลคโทรด (electrode) วางถาดเจลอะกาโรสลงในกล่องเจล และเทสารสารละลายบัฟเฟอร์ 1x TAE ให้ท่วมเหนือเจลอะกาโรส 1-2 มิลลิลิตร นำสารละลายดีเอ็นเอตัวอย่าง ที่ประกอบด้วย ดีเอ็นเอตัวอย่าง 2 ไมโครลิตร กับ สารละลาย Loading buffer 2 ไมโครลิตร และ 1x TAE buffer 2 ไมโครลิตร หยอดใส่ในช่องเจล (Well) จนครบ จึงเริ่มการวิเคราะห์อิเล็กโตรโฟรีซีส โดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 70 โวลต์ นาน 30-45 นาที

3.2.5.3 ทำการย้อมเจลอะกาโรสที่ได้จากข้อ 3.2.5.2 โดยใช้สีย้อมเอทิเดียมโบรไมด์ความเข้มข้น 0.5-1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 10 นาที หลังจากนั้นนำไปล้างเอาเอทิเดียมโบรไมด์

ส่วนเกินออกโดยการแช่ในน้ำกลั่นนาน 10-30 นาที แล้วจึงนำไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต พร้อมทั้งบันทึกภาพ

3.2.6 การวัดความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างดีเอ็นเอปริมาณ 1.5-2 ไมโครลิตร หยดลงบนแท่นวัดค่าของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงปริมาณน้อย (Micro-volume Nucleic Acid spectrophotometer) โดยเลือกวัดดีเอ็นเอสายคู่ (dsDNA) ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร โดยเครื่องจะทำการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นดีเอ็นเอในหน่วยนาโนกรัมต่อไมโครลิตรและความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเออัตโนมัติ โดยดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์ควรมีค่า OD ratio (260/280) อยู่ในช่วง 1.7-1.9

3.2.7 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR amplification)

นำจีโนมิกดีเอ็นเอของพืชชนิดต่างๆที่ได้จากข้อ 3.2.4 มาใช้เป็นดีเอ็นเอแม่แบบ (template) ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ 3 บริเวณ ได้แก่ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F intergenic spacers ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสโดยใช้คู่ไพรเมอร์จำเพาะ ดังตารางที่ 2 โดยทำปฏิกิริยาในหลอดพีซีอาร์ขนาด 0.5 มิลลิลิตร ทั้งนี้องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสประกอบด้วย 10X *Taq* Buffer, dNTPs 2.5 มิลลิโมลาร์, DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 2, forward primer 10 ไมโครโมลาร์, reverse primer 10 ไมโครโมลาร์, 5 unit *Taq* DNA polymerase และจีโนมิกดีเอ็นเอแม่แบบ 100 นาโนกรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ให้ครบ 50 ไมโครลิตร แล้วนำเข้าเครื่องพีซีอาร์ โดยตั้งรอบการทำงานและอุณหภูมิตามตารางที่ 3

ตรวจสอบผลิตผลที่ได้จากการทำพีซีอาร์ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีสในเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 2 เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานตามวิธีการในข้อ 3.2.5

ตารางที่ 3 สภาวะที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F intergenic spacers

	ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
Preheat	95 °C 5 นาที	95 °C 5 นาที	95 °C 5 นาที
Denaturation	94 °C 30 วินาที	94 °C 30 วินาที	94 °C 30 วินาที
Annealing	56 °C 40 วินาที	53 °C 40 วินาที	50 °C 40 วินาที
Extension	72 °C 40 วินาที	72 °C 40 วินาที	72 °C 40 วินาที
Final elongation	72 °C 10 นาที	72 °C 10 นาที	72 °C 10 นาที
Hold	3 °C ∞	4 °C ∞	4 °C ∞

3.2.8 การทำให้ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มจำนวนบริสุทธิ์

นำดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มจำนวนในข้อ 3.2.7 มาทำให้บริสุทธิ์ตามวิธีการของ PureLink™ Quick Gel Extraction Kit (Invitrogen, 2011)

ตัดเจลที่มีชิ้นดีเอ็นเอที่ต้องการโดยให้มีขนาดเล็กที่สุด ใส่ลงในหลอดไมโครเซนติฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมบัฟเฟอร์ NT ปริมาตร 3 เท่าของน้ำหนักเจล บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนเจลละลายหมด จึงนำสารละลายที่ได้ใส่ลงใน quick gel extraction column ที่ประกอบอยู่กับ wash tube (ปริมาณสูงสุดได้ครั้งละ 700 มิลลิลิตร) เพื่อให้จีโนมิกดีเอ็นเอจับกับแผ่นซิลิกาในคอลัมน์ ปั่นเหวี่ยงที่ 13,500 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เทสารละลาย flow-through ด้านล่างทิ้ง จากนั้นจึงล้างดีเอ็นเอที่จับอยู่บนแผ่นซิลิกาด้วย Wash Buffer W1 จำนวน 500 ไมโครลิตร แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 13,500 รอบต่อนาที ครั้งที่ 1 นาน 1 นาที และครั้งที่ 2 นาน 3 นาที เพื่อทำให้คอลัมน์แห้ง

ทำการชะเอาจีโนมิกดีเอ็นเอออกโดยนำ quick gel extraction column นั้นมาวางบนหลอดไมโครเซนติฟิวขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วจึงเติม Elution buffer (E5) จำนวน 25 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ 13,500 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เก็บสารละลายจีโนมิกดีเอ็นเอในหลอดด้านล่าง

ตรวจสอบผลิตผลที่ได้ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีสในเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 2 เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ตามวิธีการในข้อ 3.2.5 และวัดความเข้มข้นและความสมบูรณ์ของสารละลายดีเอ็นเอบริสุทธิ์ ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงปริมาตรน้อย (Micro-volume Nucleic Acid spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร ตามวิธีการในข้อ 3.2.6

3.2.9 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

นำเอาดีเอ็นเอบริสุทธิ์ที่ได้จากข้อ 3.2.8 ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่องหาลำดับนิวคลีโอไทด์อัตโนมัติ (DNA sequencer) (Solgent, Korea)

3.2.10 การตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์

นำผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากข้อ 3.2.9 มาตรวจสอบความถูกต้องโดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการอ่านจาก forward และ reverse primers มาทำการเปรียบเทียบกันโดยใช้โปรแกรม Bioedit เวอร์ชั่น 7.0.8.0 (Hall, 2013)

บันทึกลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ถูกต้องลงในฐานข้อมูล GenBank เพื่อใช้ในการอ้างอิง

3.2.11 การเปรียบเทียบและวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณต่าง ๆ

นำเอาลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอทั้ง 3 บริเวณ ได้แก่ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F ภายในระดับสกุลของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอมาทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบความเหมือนหรือความแตกต่างกัน โดยใช้โปรแกรม Clustal W (Larkin, et al., 2007)

วิเคราะห์ค่าความแตกต่างของดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่ได้ด้วยฟังชันก์ Kimura2-Parameter (K2P) model (Kimura M, 1980) โดยใช้โปรแกรม MEGA เวอร์ชั่น 6.06

3.2.12 การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการพิสูจน์เอกลักษณ์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรในวงศ์เหงือกปลาหมอ ที่พบในท้องตลาด

3.2.12.1 เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในท้องตลาด อย่างน้อย 5 ชนิด ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ “รางจืด” (*Thunbergia laurifolia*) เนื่องจากฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่จัดทำขึ้นในพืชสกุล *Thunbergia* มีความสมบูรณ์มากที่สุด โดยตัวอย่างดังกล่าวแสดงดังตารางที่ 4

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 4 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืดที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยดีเอ็นเอบาร์โค้ด

หมายเลขตัวอย่าง	ลักษณะตัวอย่าง	สถานที่เก็บ
1	ใบสด มีทั้งใบอ่อนและใบแก่ผสมกัน	ต. สระพัฒนา อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม
2	ใบแก่สด	ต.สระสี่มุม อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม
3	ใบแห้งทั้งใบ	ตลาดกำแพงแสน
4	ใบแห้งทั้งใบ	ตลาดนครปฐม
5	ใบแก่สด	ตลาดนครปฐม

3.2.12.2 นำตัวอย่างจากข้อ 3.2.12.1 มาทำการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ ดังวิธีการในข้อ 3.2.4 และตรวจสอบผลการสกัดและตรวจวัดความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ด้วยวิธีการในข้อ 3.2.5 และ 3.2.6 ตามลำดับ

3.2.12.3 ทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ 3 บริเวณ ได้แก่ ITS2, *psb*A- *trn*H และ*trn*L-*trn*F ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสด้วยคู่ไพรเมอร์จำเพาะ ดังวิธีการในข้อ 3.2.7 แล้วทำชิ้นดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์ ดังวิธีการในข้อ 3.2.8

3.2.12.4 วิเคราะห์หาและตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์ของผลิตภัณฑ์รางจืดด้วยวิธีการในข้อ 3.2.9 และ 3.2.10 ตามลำดับ

3.2.12.5 นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืดในท้องตลาดแต่ละชนิด มาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จัดทำขึ้น เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืดด้วยโปรแกรม Bioedit เวอร์ชั่น 7.0.8.0

บทที่ 4
ผลการศึกษา

1. พืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่มีรายงานการพบในประเทศไทย

เมื่อทำการตรวจสอบรายชื่อและจำนวนชนิดพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยจากฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย มีรายงานทั้งหมด 35 สกุล 94 ชนิด (สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2544) และทำการตรวจสอบความถูกต้องจากฐานข้อมูล IPNI (International Plant Names Index, 2005) และ The Plant List (The Plant List, 2010) แต่หลังจากดำเนินการวิจัยแล้วในปีพ.ศ. 2557 มีรายงานการพบเพิ่มเติมเป็นทั้งหมด 36 สกุล 187 ชนิด (สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2557)

2. การสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย

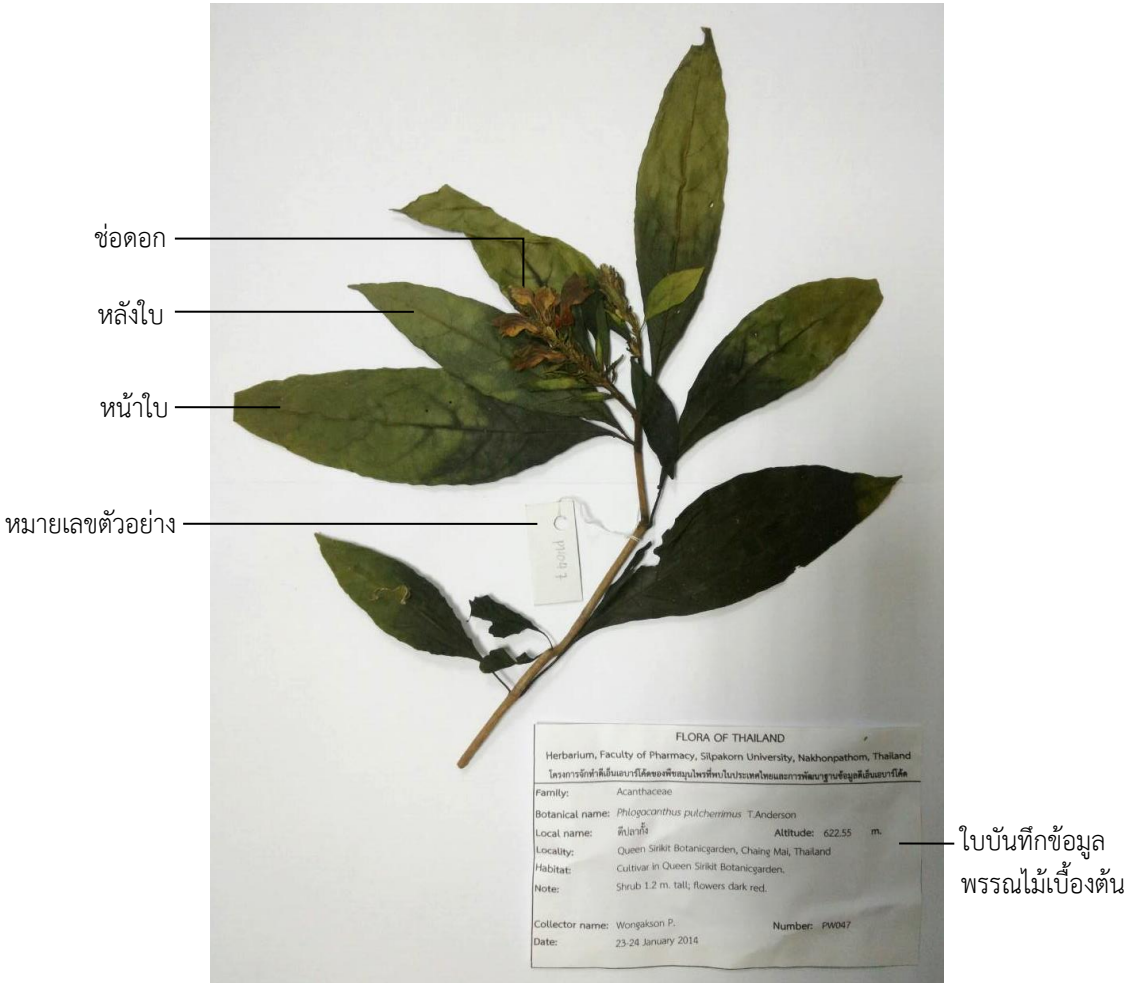
ในงานวิจัยนี้ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยได้ทั้งหมด 24 สกุล 58 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 5 ได้แก่ 1) สกุล *Acanthus* 2 ชนิด คือ เหงือกปลาหมอ (*A. ebracteatus* Vahl) และเหงือกปลาหมอเทศ (*A. mollis* L.) 2) สกุล *Andrographis* 1 ชนิด คือ ฟ้าทะลายโจร (*A. paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees) 3) สกุล *Asystasia* 2 ชนิด คือ บาหยา (*A. gangetica* (L.) T. Anderson) และเพ็ญทิวา (*A. newmorum* Nees) 4) สกุล *Avicennia* 2 ชนิด คือ แสมขาว (*A. marina* (Forssk.) Vierh.) และแสมดำ (*A. officinalis* L.) 5) สกุล *Barleria* 5 ชนิด คือ อังกาบ (*B. cristata* L.) เสลดพังพอน (*B. lupulina* Lindl.) อังกาบหนู (*B. prionitis* L.) อังกาบแดง (*B. repens* Nees) และสังกรณี (*B. strigosa* Willd.) 6) สกุล *Clinacanthus* 2 ชนิด คือ พญาปล้องทอง (*C. nutans* (Burm. f.) Lindau) และลิ้นงูเห่า (*C. siamensis* Bremek.) 7) สกุล *Crossandra* 1 ชนิดคือ อังกาบสีปูน (*C. infundibuliformis* (L.) Nees) 8) สกุล *Dicliptera* 1 ชนิด คือ ผักโหมลาย (*D. chinensis* (L.) Juss.) 9) สกุล*Eranthemum* 1 ชนิด คือ จ้าห้อม (*E. tetragonum* A. Dietr ex Nees) 10) สกุล *Graptophyllum* 1 ชนิด คือ ใบเงิน (*G. pictum* (L.) Griff.) 11) สกุล *Hemigraphis* 2 ชนิด คือ ริบบิ้นดำ (*H. repanda* (L.) Hallier f.) และหญ้าต้นติด (*H. reptans* T. Anderson ex Hemsl.) 12) สกุล *Justicia* 6 ชนิด คือ ตรีชวา (*J. betonica* L.) ราตรีสีชมพู (*J. candicans* (Nees) L. D. Benson) เขียงพร้า (*J. Diffusa* Wild.) สันพร้ามอญ (*J. gendarussa* Burm. f.) กระดูกไก่ดำ (*J. valida* Ridl. var. *glandulosa*

Fisch.) และ *J. striata* (Klotzsch) Bullock 13) สกุล *Lepidagathis* 1 ชนิด คือ หญ้าขนไก่ (*L. incurva* Buch.-Ham. ex D. Don) 14) สกุล *Megaskepasma* 1 ชนิด คือ แดงพันธุ์ทิพย์ (*M. erythrochlamys* Lindau) 15) สกุล *Pachystachys* 1 ชนิด คือเหลืองคีรีบูน (*P. lutea* Nees) 16) สกุล *Peristrophe* 2 ชนิด คือกำลังช้างสาร (*P. hyssopifolia* Merr.) หว้าชะอำ(*P lanceolaria* (Roxb.) Nees) 17) สกุล *Phlogacanthus* 2 ชนิด คือ ห้อมช้าง (*P. curviflorus* Nees) และดีปลากั้ง (*P. pulcherrimus* T. Anderson) 18) สกุล *Pseuderanthemum* 4 ชนิด คือ ใบเงิน (*P. atropurpureum* Radlk.) เฒ่าหลังลาย (*P. graciliflorum* (Nees) Ridl.) พญาวานร (*P. palatiferum* (Nees) Radlk. ex Lindau) และรัศมีจันทร์ (*P. reticulatum* (Hook. f.) Radlk.) 19) สกุล *Rhinacanthus* 1 ชนิด คือ ทองพันชั่ง (*R. nasutus* (L.) Kurz) 20) สกุล *Ruellia* 5 ชนิด คือ แดงซีลอน (*R. amoena* L.) จ้าหอม (*R. repens* L.) ต้อยติ่งเทศ (*R. simplex* C. Wright) และต้อยติ่ง (*R. tuberosa* L.) 21) สกุล *Rungia* 1 ชนิด คือ สันพร้า (*R. pectinata* (L.) Nees) 22) สกุล *Ruttyruspolia* 1 ชนิด คือ เข็มชมพูนงนุช (*R.* A. Meeuse & de Wet) 23) สกุล *Strobilanthes* 6 ชนิด คือจ๊าฮ่อม (*S. auriculata* Bremek.)ซ่อม่วงเชียงดาว (*S. chiangdaoensis* H. Terao) ฮ่อม (*S. cusia* (Nees) Kuntze) ทวีทรัพย์ (*S. hamiltoniana* (Steud.) Bosser & Heine) *S. oresbia* W. W. Sm) และ *S. persicifolia* (Lindl.) J. R. I. Wood) 24) สกุล *Thunbergia* 8 ชนิด คือ แววตา (*T. alata* Boj. ex Sims.) หนามแน่แดง (*T. coccinea* Wall. ex D. Don) รางจืดต้นภูคา (*T. colpifera* B. Hansen) ช้องนาง (*T. erecta* (Benth.) T. Anderson) หูปากกา (*T. fragrans* Roxb) สร้อยอินทนิล (*T. grandiflora* (Roxb. ex Rottler) Roxb.) น้ำแน่ดง (*T. hossei* C. B. Clarke) และรางจืด (*T. laurifolia* Lindl.)

ส่วนลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชทั้งหมดแสดงในภาคผนวก ก

3. ตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิง (Voucher specimen)

การจัดทำพรรณไม้อ้างอิงของตัวอย่างพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ โดยการอัดแห้งพรรณไม้ ที่มีส่วน ใบ ดอก และผล ครบสมบูรณ์มากที่สุด และจัดวางตัวอย่างพรรณไม้ให้เห็นส่วนต่างๆ ชัดเจน พร้อมบันทึกข้อมูลพรรณไม้เบื้องต้นและระบุหมายเลขพรรณไม้ ในรูปที่ 8 แสดงตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงของดีปลากั้ง (*Phlogacanthus pulcherrimus* T. Anderson) ในสกุล *Phlogacanthus* แสดงลักษณะใบทั้งด้านหน้าและหลังใบซึ่งเป็นใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปรี โคนใบและปลายใบแหลม และมีช่อดอก โคนดอกเชื่อมติดกันปลายแยกเป็น 5 กลีบได้อย่างชัดเจน ตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงทั้งหมดจะไปเก็บรักษาไว้กับสำนักงานหอพรรณไม้ กรมป่าไม้และรับเลขพรรณไม้อ้างอิง ดังแสดงในตารางที่ 5



รูปที่ 8 ตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงของต้นดีปลากั้ง (*Phlogacanthus pulcherrimus* T. Anderson) สกุล *Phlogacanthus* แสดงใบด้านหน้า ด้านหลัง และช่อดอก

ตารางที่ 5 รายชื่อพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) ที่ใช้ศึกษาในงานวิจัย

ลำดับ	สกุล	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อท้องถิ่น	สถานที่เก็บ	หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง
1	*Acanthus*	*Acanthus ebracteatus* Vahl	เหงือกปลาหมอ*	นครปฐม	BKF188942
		Acanthus mollis L.	เหงือกปลาหมอเทศ*	เชียงใหม่	BKF189447
2	*Andrographis*	*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees	ฟ้าทะลายโจร*	นครปฐม	BKF188939
3	*Asystasia*	*Asystasia gangetica* (L.) T. Anderson	บาหยา*	นครปฐม	BKF189472
		Asystasia newmorum Nees	เพ็ญทิวา*	นครปฐม	PW085
4	*Avicennia*	*Avicennia marina* (Forssk.) Vierh.	แสมขาว*	ประจวบคีรีขันธ์	BKF189473
		Avicennia officinalis L.	แสมดำ*	ประจวบคีรีขันธ์	BKF189474
5	*Barleria*	*Barleria cristata* L.	อังกาบ*	เชียงใหม่	BKF189455
		Barleria lupulina Lindl.	เสลดพังพอน*	นครปฐม	BKF189453
		Barleria prionitis L.	อังกาบหนู	ประจวบคีรีขันธ์	BKF189452
		Barleria repens Nees**	อังกาบแดง	กรุงเทพ	PW083
		Barleria strigosa Willd.	สังกรณี	เชียงใหม่	BKF189456
6	*Clinacanthus*	*Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau	พญาปล้องทอง	เชียงใหม่	PW040
		Clinacanthus siamensis Bremek.**	ลิ้นงูเห่า	เชียงใหม่	PW039
7	*Crossandra*	*Crossandra infundibuliformis* (L.) Nees	อังกาบสีปูน*	นครปฐม	BKF189471
8	*Dicliptera*	*Dicliptera chinensis* (L.) Juss.	ผักโหมลาย*	เชียงใหม่	PW012

ตารางที่ 5 รายชื่อพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) ที่ใช้ศึกษาในงานวิจัย (ต่อ)

ลำดับ	สกุล	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อท้องถิ่น	สถานที่เก็บ	หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง
9	*Eranthemum*	*Eranthemum tetragonum* A. Dietr ex Nees	จ้าห้อม*	เชียงใหม่	BKF189451
10	*Graptophyllum*	*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.	ใบเงิน*	นครปฐม	BKF189470
11	*Hemigraphis*	*Hemigraphis repanda* (L.) Hallier f.	ริบบิ้นดำ*	กรุงเทพ	PW081
		Hemigraphis reptans T. Anderson ex Hemsl.**	หญ้าต้นติด	เชียงใหม่	BKF189460
12	*Justicia*	*Justicia betonica* L.	ตรีชวา*	นครปฐม	BKF189468
		Justicia candicans (Nees) L. D. Benson**	ราตรีสีชมพู	เชียงใหม่	BKF189464
		Justicia diffusa Wild.	เขียงพร้า*	เชียงใหม่	BKF189443
		Justicia gendarussa Burm. f.	สันพร้ามอญ*	เชียงใหม่	BKF189454
		Justicia valida Ridl. var. *glandulosa* Fisch.	กระดูกไก่ดำ*	เชียงใหม่	PW080
		Justicia striata (Klotzsch) Bullock**	-	เชียงใหม่	PW018
13	*Lepidagathis*	*Lepidagathis incurva* Buch.-Ham. ex D. Don	หญ้าขนไก่*	เชียงใหม่	BKF189444
14	*Megaskepasma*	*Megaskepasma erythrochlamys* Lindau	แดงพันธุ์ทิพย์*	เชียงใหม่	PW030
15	*Pachystachys*	*Pachystachys lutea* Nees	เหลืองคีรีบูน*	เชียงใหม่	PW043 PW060
16	*Peristrophe*	*Peristrophe hyssopifolia* Merr.**	กำลังช้างสาร	เชียงใหม่	PW034
		Peristrophe lanceolaria (Roxb.) Nees	หว้าชะอำ*	เชียงใหม่	BKF189457

ตารางที่ 5 รายชื่อพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) ที่ใช้ศึกษาในงานวิจัย (ต่อ)

ลำดับ	สกุล	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อท้องถิ่น	สถานที่เก็บ	หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง
17	*Phlogacanthus*	*Phlogacanthus curviflorus* Nees	ห้อมช้าง*	เชียงใหม่	PW032
		Phlogacanthus pulcherrimus T. Anderson**	ตีปลากั้ง	เชียงใหม่	PW047
18	*Pseuderanthemum*	*Pseuderanthemum atropurpureum* Radlk.	ใบเงิน	นครปฐม	PW081
		Pseuderanthemum graciliflorum (Nees) Ridl.	เฒ่าหลังลาย*	นครปฐม	PW087
		Pseuderanthemum palatiferum (Nees) Radlk. ex Lindau	พญาวานร*	เชียงใหม่	PW029
		Pseuderanthemum reticulatum (Hook. f.) Radlk.	รัศมีจันทร์*	นครปฐม	PW078
19	*Rhinacanthus*	*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz	ทองพันชั่ง*	นครปฐม	BKF189448
20	*Ruellia*	*Ruellia amoena* L.	แดงชีลอน	นครปฐม	PW077
		Ruellia repens L.	จ๊าหอม*	นครปฐม	PW076
		Ruellia simplex C. Wright	ต้อยติ่งเทศ*	นครปฐม	BKF189467
		Ruellia tuberosa L.	ต้อยติ่ง*	นครปฐม	PW074
21	*Rungia*	*Rungia pectinata* (L.) Nees	สันพร้า*	เชียงใหม่	BKF189445
22	*Ruttyruspolia*	*× Ruttyruspolia* A. Meeuse & de Wet**	เข็มชมพูนงนุช	กรุงเทพ	BKF189461

ตารางที่ 5 รายชื่อพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ (Acanthaceae) ที่ใช้ในงานวิจัย (ต่อ)

ลำดับ	สกุล	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อท้องถิ่น	สถานที่เก็บ	หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง
23	*Strobilanthes*	*Strobilanthes auriculata* Bremek.	จ้าฮ่อม	เชียงใหม่	BKF189446
		Strobilanthes chiangdaoensis H. Terao**	ช่อม่วงเชียงดาว	เชียงใหม่	PW006
		Strobilanthes cusia (Nees) Kuntze	ฮ่อม	เชียงใหม่	BKF189450
		Strobilanthes hamiltoniana (Steud.) Bosser & Heine**	ทวีทรัพย์	เชียงใหม่	PW044
		Strobilanthes oresbia W. W. Sm**	-	เชียงใหม่	PW015
		Strobilanthes persicifolia (Lindl.) J. R. I. Wood**	ฮ่อม	เชียงใหม่	BKF189442
24	*Thunbergia*	*Thunbergia alata* Boj. ex Sims.	แววตา*	เชียงราย	BKF189462
		Thunbergia coccinea Wall. ex D. Don	หนามแน่แดง*	เชียงราย	PW062
		Thunbergia colpifera B. Hansen	รางจืดต้นภูคา*	น่าน	BKF189465
		Thunbergia erecta (Benth.) T. Anderson	ช้องนาง*	นครปฐม	BKF188899
		Thunbergia fragrans Roxb.	หูปากกา*	เชียงใหม่	BKF189466
		Thunbergia grandiflora (Roxb. ex Rottler) Roxb.	สร้อยอินทนิล*	กรุงเทพ	PW072
		Thunbergia hossei C. B. Clarke	น้ำแน่ดง*	เชียงใหม่	PW049
		Thunbergia laurifolia Lindl.	รางจืด*	นครปฐม	BKF189449

หมายเหตุ *ชื่อท้องถิ่นพิมพ์เป็นชื่อตัวอักษรเข้มในหนังสือชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันทน์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2557 (สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2557)

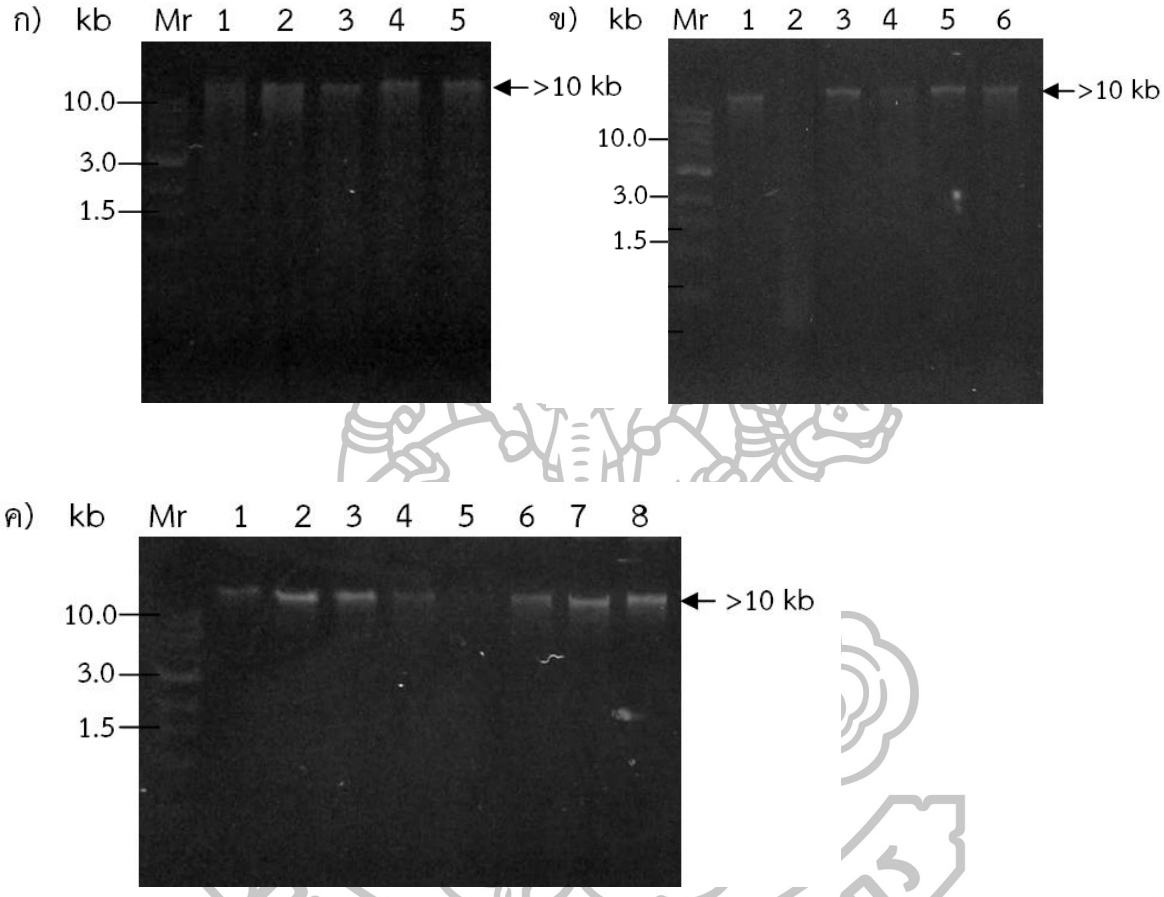
**ชื่อชนิดที่ไม่พบในหนังสือชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันทน์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2557

BKF = Forest Herbarium – BKF; PW = Piyaporn Wongakson

4. ผลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ

เมื่อทำการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจากใบสดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอทั้ง 24 สกุล 58 ชนิด โดยใช้ Nucleospin® Plant II column พบว่าสามารถสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอของพืชได้ทั้งหมด 58 ชนิด คิดเป็นค่าร้อยละความสำเร็จในการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ 100 ในรูปที่ 9-ก 9-ข และ 9-ค แสดงตัวอย่างผลการตรวจสอบจีโนมิกดีเอ็นเอที่สกัดได้จากพืชสกุล *Barleria* สกุล *Justicia* และ สกุล *Thunbergia* ตามลำดับ โดยวิธีอิเล็คโตรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจลความเข้มข้นร้อยละ 0.8 ซึ่งแสดงแถบดีเอ็นเอขนาดมากกว่า 10 กิโลเบส และจากการวัดความเข้มข้นของจีโนมิกดีเอ็นเอที่สกัดได้โดยใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงปริมาณน้อย (Micro-volume Nucleic Acid spectrophotometer) พบว่าจีโนมิกดีเอ็นเอที่ได้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 20-400 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร



รูปที่ 9 จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ บนเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 0.8

เลน Mr แสดงแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน ปลายศรชี้แสดงแถบจีโนมิกดีเอ็นเอ

ก) จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Barleria* 5 ชนิด คือ 1) อังกาบ (*B. cristata* L.) 2) เสลดพังพอน (*B. lupulina* Lindl.) 3) อังกาบหนู (*B. prionitis* L.) 4) อังกาบแดง (*B. repens* Nees) และ 5) สังกรณี (*B. strigosa* Willd.)

ข) จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Justicia* 6 ชนิด คือ 1) ตรีชวา (*J. betonica* L.) 2) ราตรีสีชมพู (*J. candicans* (Nees) L. D. Benson) 3) เขียงพร้า (*J. diffusa* Wild.) 4) สันพร้ามอญ (*J. gendarussa* Burm. f.) 5) กระดูกไก่ดำ (*J. valida* var. *glandulosa* Fisch.) และ 6) *J. striata* (Klotzsch) Bullock

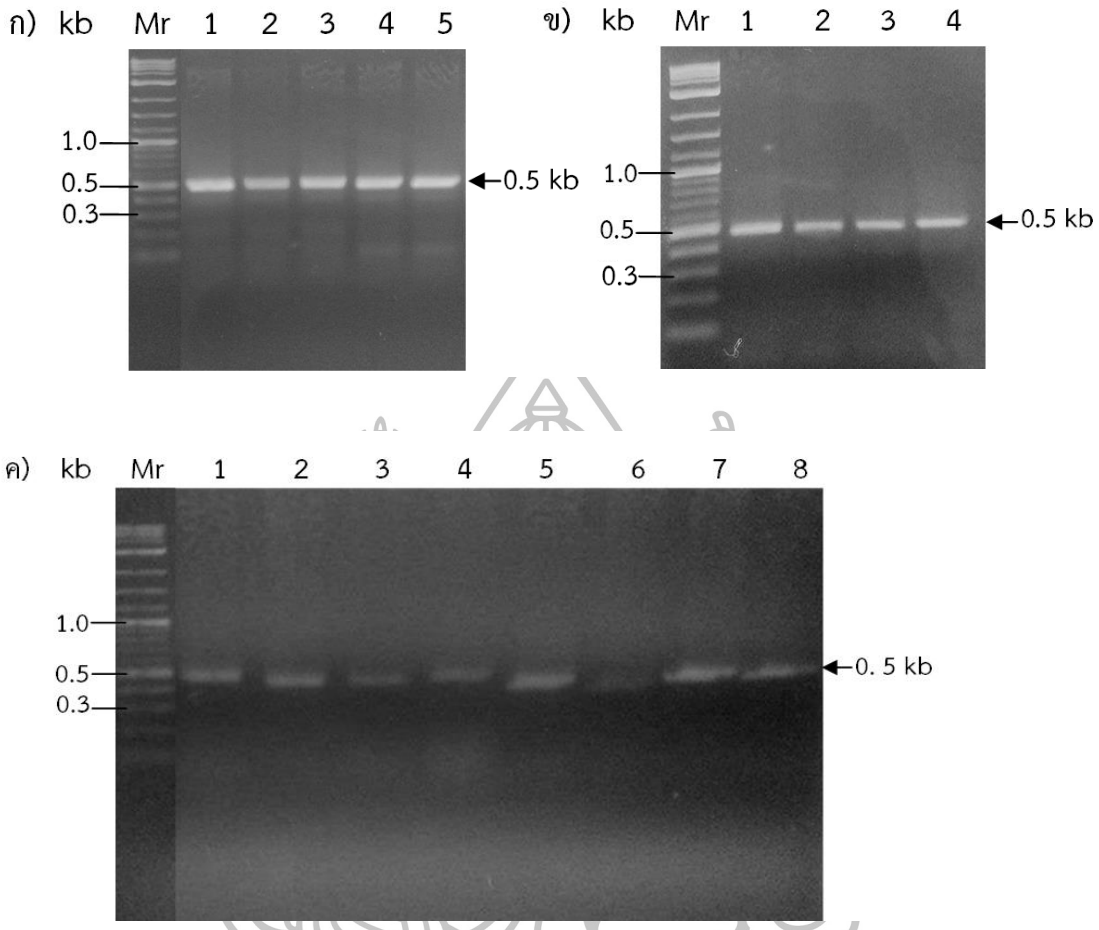
ค) จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Thunbergia* 8 ชนิด คือ 1) แววตา (*T. alata* Boj. ex Sims.) 2) หนามแน่แดง (*T. coccinea* Wall. ex D. Don) 3) รางจืดต้นภูคา (*T. colpifera* B.Hansen) 4) ช้องนาง (*T. erecta* (Benth.) T. Anderson) 5) หูปากกา (*T. fragrans* Roxb.) 6) สร้อยอินทนิล (*T. grandiflora* (Roxb. ex Rottler) Roxb.) 7) น้ำแน่ดง (*T. hossei* C. B. Clarke) และ 8) รางจืด (*T. laurifolia* Lindl.)

5. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสและการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์

ในการศึกษานี้ได้ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ ทั้ง 24 สกุล 58 ชนิด ในสามบริเวณ ได้แก่ ITS2, *psb*A-*trn*H, และ *trn*L- *trn*F ด้วยไพรเมอร์จำเพาะดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าความสามารถในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอทั้งสามบริเวณมีความแตกต่างกัน โดยดีเอ็นเอบริเวณ ITS2, *psb*A-*trn*H, และ *trn*L- *trn*F มีค่าร้อยละความสำเร็จในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ 93.1, 89.7 และ 89.7 ตามลำดับ (ตารางที่ 6) และเมื่อตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซีส ในเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 2 พบว่า ผลผลิตของดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 มีขนาดประมาณ 500 คู่เบส (รูปที่ 10) ดีเอ็นเอบริเวณ *psb*A-*trn*H มีขนาดประมาณ 450 – 550 คู่เบส (รูปที่ 11) และดีเอ็นเอบริเวณ *trn*L- *trn*F มีขนาดประมาณ 450 คู่เบส (รูปที่ 12) โดยในรูปที่ 11-13 แสดงผลผลิตพีซีอาร์ของดีเอ็นเอทั้งสามตำแหน่งดังกล่าวจากตัวอย่างพืชสกุล *Barleria* สกุล *Justicia* และ สกุล *Thunbergia*

เมื่อนำเอาดีเอ็นเอทั้งสามบริเวณที่ได้ (ITS2, *psb*A-*trn*H, และ *trn*L- *trn*F) มาทำให้บริสุทธิ์แล้วนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้เครื่องหาลำดับนิวคลีโอไทด์อัตโนมัติของบริษัท Solgent, Korea พบว่าการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 มีความสำเร็จร้อยละ 83.0 ดีเอ็นเอตำแหน่ง *psb*A-*trn*H มีความสำเร็จร้อยละ 86.5 และดีเอ็นเอตำแหน่ง *trn*L- *trn*F มีความสำเร็จร้อยละ 86.5 ดังแสดงในตารางที่ 6

มหาวิทยาลัยศิลปากร

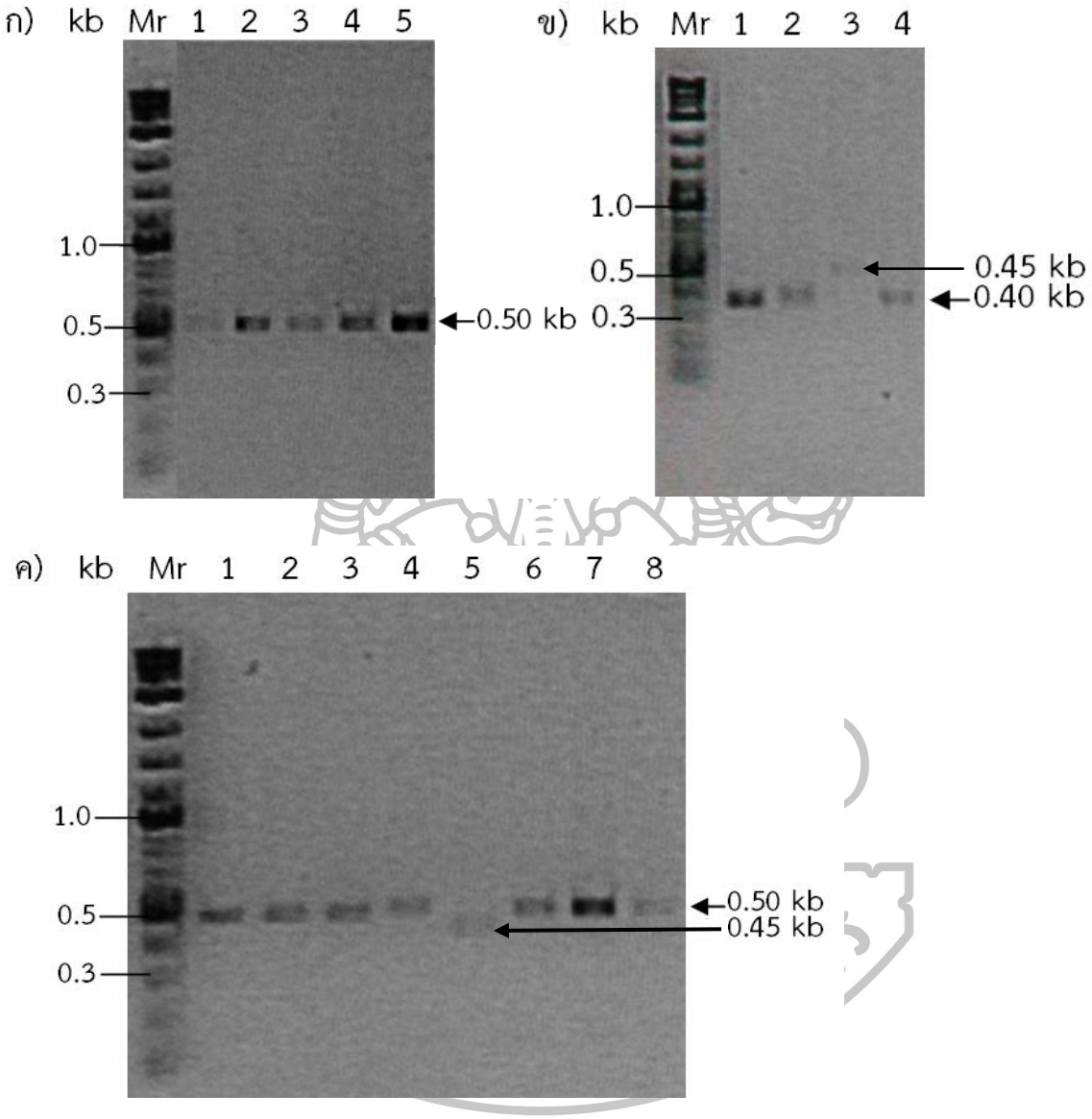


รูปที่ 10 ผลผลิตพีซีอาร์ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอบนเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 2 เลน Mr แสดงแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน ปลายศรชี้แสดงดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 ขนาดประมาณ 500 คู่เบส

ก) จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Barleria* 5 ชนิด คือ 1) อังกาบ (*B. cristata* L.) 2) เสลดพังพอน (*B. lupulina* Lindl.) 3) อังกาบหนู (*B. prionitis* L.) 4) อังกาบแดง (*B. repens* Nees) และ 5) สังกรณี (*B. strigosa* Willd.)

ข) จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Justicia* 6 ชนิด คือ 1) ตรีชวา (*J. betonica* L.) 2) ราตรีสีชมพู (*J. candicans* (Nees) L. D. Benson) 3) เขียงพร้า (*J. diffusa* Wild.) 4) สันพร้ามอญ (*J. gendarussa* Burm. f.) 5) กระดูกไก่ดำ (*J. valida* var. *glandulosa* Fisch.) และ 6) *J. striata* (Klotzsch) Bullock

ค) จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Thunbergia* 8 ชนิด คือ 1) แววตา (*T. alata* Boj. ex Sims.) 2) หนามแน่แดง (*T. coccinea* Wall. ex D. Don) 3) รางจืดต้นภูคา (*T. colpifera* B.Hansen) 4) ช้องนาง (*T. erecta* (Benth.) T. Anderson) 5) หูปากกา (*T. fragrans* Roxb.) 6) สร้อยอินทนิล (*T. grandiflora* (Roxb. ex Rottler) Roxb.) 7) น้ำแน่ดง (*T. hossei* C. B. Clarke) และ 8) รางจืด (*T. laurifolia* Lindl.)



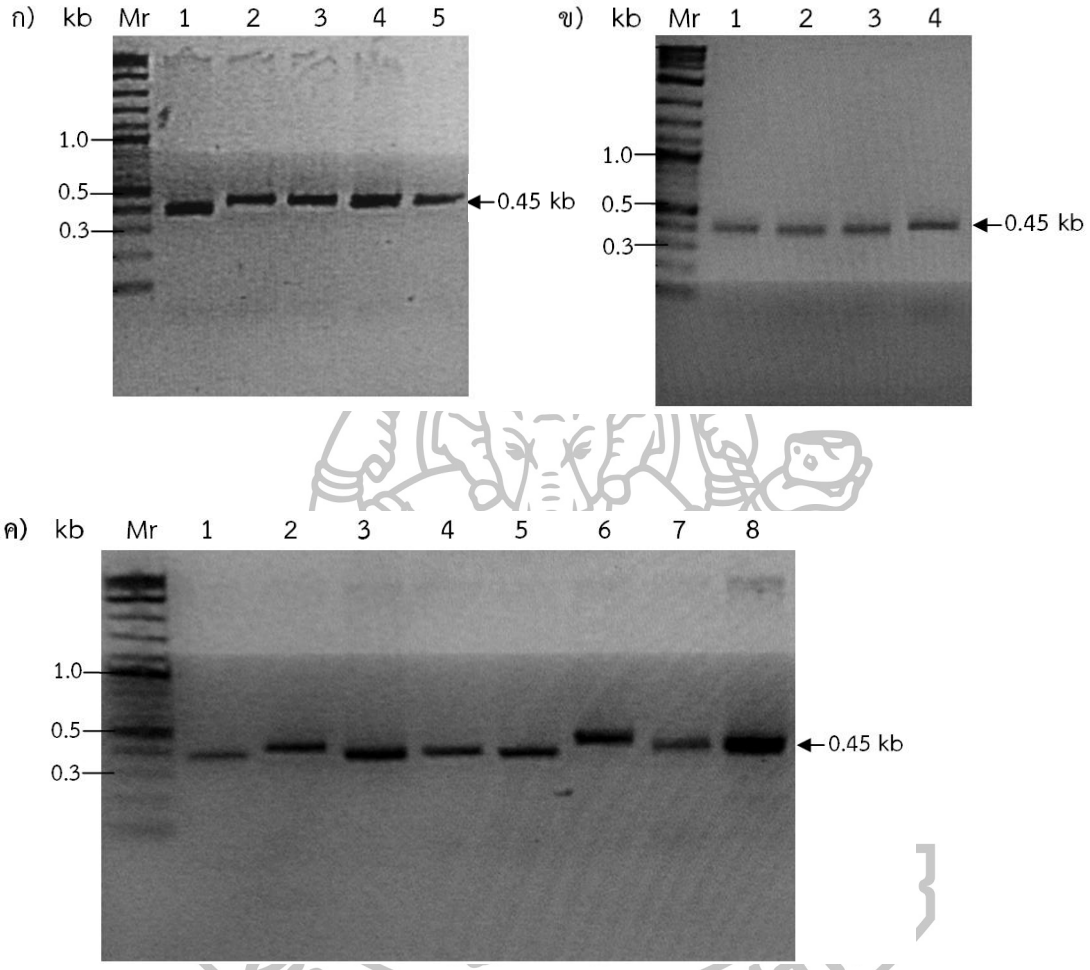
รูปที่ 11 ผลผลิตพีซีอาร์ของดีเอ็นเอบริเวณ *psb*A-*trn*H ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอบนเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 2

เลน Mr แสดงแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน ปลายศรชี้แสดงดีเอ็นเอบริเวณ *psb*A-*trn*H ขนาดประมาณ 500 และ 450 คู่เบส

ก) จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Barleria* 5 ชนิด คือ 1) อังกาบ (*B. cristata* L.) 2) เสลดพังพอน (*B. lupulina* Lindl.) 3) อังกาบหนู (*B. prionitis* L.) 4) อังกาบแดง (*B. repens* Nees) และ 5) สังกรณี (*B. strigosa* Willd.)

ข) จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Justicia* 6 ชนิด คือ 1) ตรีชวา (*J. betonica* L.) 2) ราตรีสีชมพู (*J. candicans* (Nees) L. D. Benson) 3) เขียงพร้า (*J. diffusa* Wild.) 4) สันพร้ามอญ (*J. gendarussa* Burm. f.) 5) กระดูกไก่ดำ (*J. valida* var. *glandulosa* Fisch.) และ 6) *J. striata* (Klotzsch) Bullock

ค) จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Thunbergia* 8 ชนิด คือ 1) แววตา (*T. alata* Boj. ex Sims.) 2) หนามแน่แดง (*T. coccinea* Wall. ex D. Don) 3) รางจืดต้นภูคา (*T. colpifera* B.Hansen) 4) ช้องนาง (*T. erecta* (Benth.) T. Anderson) 5) หูปากกา (*T. fragrans* Roxb.) 6) สร้อยอินทนิล (*T. grandiflora* (Roxb. ex Rottler) Roxb.) 7) น้ำแน่ดง (*T. hossei* C. B. Clarke) และ 8) รางจืด (*T. laurifolia* Lindl.)



รูปที่ 12 ผลผลิตพีซีอาร์ของดีเอ็นเอบริเวณ *trn*L- *trn*F ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอบนเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 2

เลน Mr แสดงแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน ปลายศรชี้แสดงดีเอ็นเอบริเวณ *trn*L- *trn*F ขนาดประมาณ 450 คู่เบส

จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Barleria* 5 ชนิด คือ 1) อังกาบ (*B. cristata* L.) 2) เสลดพังพอน (*B. lupulina* Lindl.) 3) อังกาบหนู (*B. prionitis* L.) 4) อังกาบแดง (*B. repens* Nees) และ 5) สังกรณี (*B. strigosa* Willd.)

ข) จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Justicia* 6 ชนิด คือ 1) ตรีชวา (*J. betonica* L.) 2) ราตรีสีชมพู (*J. candicans* (Nees) L. D. Benson) 3) เขียงพร้า (*J. diffusa* Wild.) 4) สันพร้ามอญ (*J. gendarussa* Burm. f.) 5) กระดูกไก่ดำ (*J. valida* var. *glandulosa* Fisch.) และ 6) *J. striata* (Klotzsch) Bullock

ค) จีโนมิกดีเอ็นเอของพืชสกุล *Thunbergia* 8 ชนิด คือ 1) แววตา (*T. alata* Boj. ex Sims.) 2) หนามแน่แดง (*T. coccinea* Wall. ex D. Don) 3) รางจืดต้นภูคา (*T. colpifera* B.Hansen) 4) ช้องนาง (*T. erecta* (Benth.) T. Anderson) 5) หูปากกา (*T. fragrans* Roxb.) 6) สร้อยอินทนิล (*T. grandiflora* (Roxb. ex Rottler) Roxb.) 7) น้ำแน่ดง (*T. hossei* C. B. Clarke) และ 8) รางจืด (*T. laurifolia* Lindl.)

ตารางที่ 6 ผลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ผลการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในงานวิจัยนี้รวมถึงร้อยละความสำเร็จ

ลำดับ	สกุล (Genus)	ชนิด (Species)	ผลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ	ผลการเพิ่มจำนวนด้วยวิธี พีซีอาร์			ผลการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์		
				ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F	ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
1	*Acanthus*	*Acanthus ebracteatus* Vahl	/	/	/	/	-	/	/
		A. mollis L.	/	/	/	/	/	/	/
2	*Andrographis*	*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees	/	-	/	/	-	/	/
3	*Asystasia*	*Asystasia newmorum* Nees	/	/	/	/	/	/	/
		A. gangetica (L.) T.Anderson	/	-	/	/	-	/	/
4	*Avicennia*	*Avicennia officinalis* L.	/	/	/	/	/	/	/
		A. marina (Forssk.) Vierh.	/	/	/	/	/	/	/
5	*Barleria*	*Barleria cristata* L.	/	/	/	/	/	/	/
		B. lupulina Lindl.	/	/	/	/	/	/	/
		B. prionitis L.	/	/	/	/	/	/	/
		B. repens Nees	/	/	/	/	/	/	/
		B. strigosa Willd.	/	/	/	/	/	/	/
6	*Clinacanthus*	*Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau	/	/	/	/	/	/	/
		C. siamensis Bremek.	/	-	/	/	-	/	/

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 6 ผลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ผลการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในงานวิจัยนี้รวมถึงร้อยละความสำเร็จ (ต่อ)

ลำดับ	สกุล (Genus)	ชนิด (Species)	ผลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ	ผลการเพิ่มจำนวนด้วยวิธี พีซีอาร์			ผลการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์		
				ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F	ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
7	*Crossandra*	*Crossandra infundibuliformis* (L.) Nees	/	-	/	/	-	/	/
8	*Dicliptera*	*Dicliptera chinensis* (L.) Juss.	/	-	-	-	-	-	-
9	*Eranthemum*	*Eranthemum tetragonum* A. Dietr ex Nees	/	/	-	/	/	-	/
10	*Graptophyllum*	*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.	/	/	/	/	/	/	/
11	*Hemigraphis*	*Hemigraphis repanda* (L.) Hallier f.	/	-	/	/	-	/	/
		H. reptans T. Anderson ex Hemsl.	/	-	-	/	-	-	/
12	*Justicia*	*Justicia betonica* L.	/	/	/	/	/	/	/
		J. candicans (Nees) L. D. Benson	/	/	/	/	/	/	/
		J. diffusa Wild.	/	-	-	-	-	-	-
		J. gendarussa Burm. f.	/	/	/	/	/	/	/
		J. striata (Klotzsch) Bullock	/	-	-	-	-	-	-
		J. valida Ridl. var. *glandulosa* Fisch.	/	/	/	/	/	/	/
13	*Lepidagathis*	*Lepidagathis incurva* Buch.-Ham. ex D. Don	/	/	-	-	/	-	-
14	*Megaskepasma*	*Megaskepasma erythrochlamys* Lindau	/	/	/	-	/	/	-

ตารางที่ 6 ผลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ผลการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในงานวิจัยนี้รวมถึงร้อยละความสำเร็จ (ต่อ)

ลำดับ	สกุล (Genus)	ชนิด (Species)	ผลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ	ผลการเพิ่มจำนวนด้วยวิธี พีซีอาร์			ผลการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์		
				ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F	ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
15	*Pachystachys*	*Pachystachys lutea* Nees	/	/	/	/	/	/	/
16	*Peristrophe*	*Peristrophe lanceolaria* (Roxb.) Nees	/	-	/	/	-	/	/
		P. hyssopifolia Merr.	/	/	/	/	/	/	/
17	*Phlogacanthus*	*Phlogacanthus curviflorus* Nees	/	/	/	/	/	/	/
		P. pulcherrimus T. Anderson	/	-	-	-	-	-	-
18	*Pseuderanthemum*	*Pseuderanthemum atropurpureum* Radlk.	/	-	/	-	-	/	-
		P. graciliflorum (Nees) Ridl.	/	/	/	/	/	/	/
		P. palatiferum (Nees) Radlk. ex Lindau	/	-	-	-	-	-	-
		P. reticulatum (Hook.f.) Radlk.	/	/	/	/	/	/	/
19	*Rhinacanthus*	*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz	/	-	/	-	-	/	-
20	*Ruellia*	*Ruellia amoena* L.	/	/	/	/	/	/	/
		R. repens L.	/	/	/	/	/	/	/
		R. simplex C.Wright	/	-	-	/	-	-	/
		R. tuberosa L.	/	/	/	/	/	/	/
21	*Rungia*	*Rungia pectinata* (L.) Nees	/	/	-	/	/	/	-
22	*Ruttyruspolia*	*× Ruttyruspolia* A.Meeuse & de Wet	/	/	/	/	/	/	/

ตารางที่ 6 ผลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ผลการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในงานวิจัยนี้รวมถึงร้อยละความสำเร็จ (ต่อ)

ลำดับ	สกุล (Genus)	ชนิด (Species)	ผลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ	ผลการเพิ่มจำนวนด้วยวิธี พีซีอาร์			ผลการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์		
				ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F	ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
23	*Strobilanthes*	*Strobilanthes auriculata* Bremek.	/	/	/	/	/	/	/
		S. chiangdaoensis H. Terao	/	/	/	/	/	/	/
		S. cusia (Nees) Kuntze	/	/	/	/	/	/	/
		S. hamiltoniana (Steud.) Bosser & Heine	/	/	/	/	/	/	/
		S. oresbia W.W.Sm	/	/	/	/	/	/	/
		S. persicifolia (Lindl.) J.R.I.Wood	/	/	/	/	-	/	/
24	*Thunbergia*	*Thunbergia alata* Boj. ex Sims.	/	/	/	/	/	/	/
		T. coccinea Wall. ex D. Don	/	/	/	/	/	/	/
		T. colpifera B.Hansen	/	/	/	/	/	/	/
		T. erecta (Benth.) T. Anderson	/	/	/	/	/	/	/
		T. fragrans Roxb.	/	/	/	/	/	/	/
		T. grandiflora (Roxb. ex Rottler) Roxb.	/	/	/	/	/	/	/
		T. hossei C.B. Clarke	/	/	/	/	/	/	/
		T. laurifolia Lindl.	/	/	/	/	/	/	/
		ร้อยละความสำเร็จ	100	93.1	89.7	89.7	83.0	86.5	86.5

มหาวิทยาลัยศิลปากร

6. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

เมื่อนำดีเอ็นเอของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่ได้จากการเพิ่มจำนวนทั้งหมดทั้งสามบริเวณ ได้แก่ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F มาวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ และตรวจสอบความถูกต้องด้วยโปรแกรม Bioedit เวอร์ชั่น 7.0.8.0 แล้วทำการบันทึกข้อมูลลงในฐานข้อมูล Genbank เพื่อใช้ในการอ้างอิง (ภาคผนวก ข) ต่อไป

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ผลดังนี้

6.1 ขนาดและปริมาณ GC ของดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F

ดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 ที่สามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้มีความยาว 370-519 คู่เบส ซึ่งประกอบด้วย 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนต้นซึ่งเป็นส่วนปลายของยีน 5.8s ไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ ส่วนกลางเป็นส่วน ITS2 และส่วนปลายซึ่งเป็นส่วนต้นของยีน 26s ไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (รูปที่ 13) โดยส่วนของ ITS2 มีความยาวเฉลี่ย 225±17.4 คู่เบส และมีปริมาณ GC เฉลี่ยร้อยละ 63.1 (ตารางที่ 7)

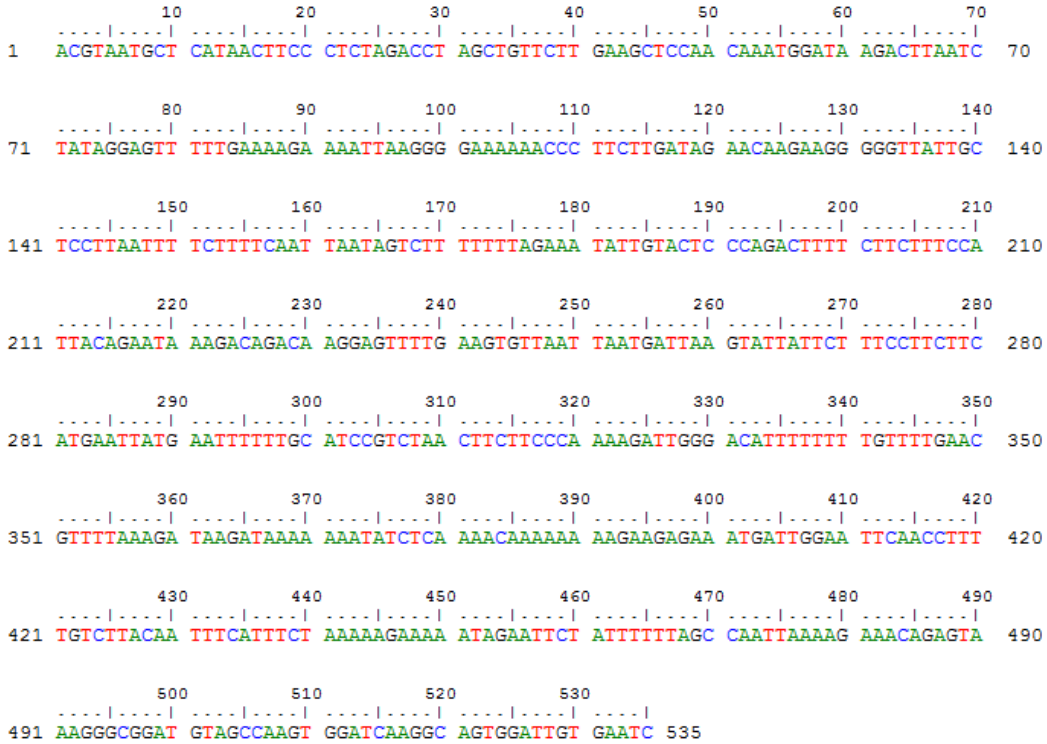
ดีเอ็นเอบริเวณ *psb*A-*trn*H ที่สามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้มีความยาว 361-608 คู่เบส ซึ่งประกอบด้วย 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนต้นซึ่งเป็นส่วนปลายของยีน *psb*A ส่วนกลางเป็นส่วน *psb*A-*trn*H intergenic spacer และส่วนปลายซึ่งเป็นส่วนต้นของยีน *trn*H (รูปที่ 14) โดยส่วนของ *psb*A-*trn*H intergenic spacer มีความยาวเฉลี่ย 362±85.8 คู่เบส และมีปริมาณ GC เฉลี่ยร้อยละ 31.5 (ตารางที่ 7)

สำหรับดีเอ็นเอบริเวณ *trn*L-*trn*F ที่สามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้มีความยาว 342-445 คู่เบส ซึ่งประกอบด้วย 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนต้นซึ่งเป็นส่วนปลายของยีน *trn*L ส่วนกลางเป็นส่วน *trn*L-*trn*F intergenic spacer และส่วนปลายซึ่งเป็นส่วนต้นของยีน *trn*F (รูปที่ 15) โดยส่วนของ *trn*L-*trn*F intergenic spacer มีความยาวเฉลี่ย 335±22.8 คู่เบส และมีปริมาณ GC เฉลี่ยร้อยละ 40.2 (ตารางที่ 7)

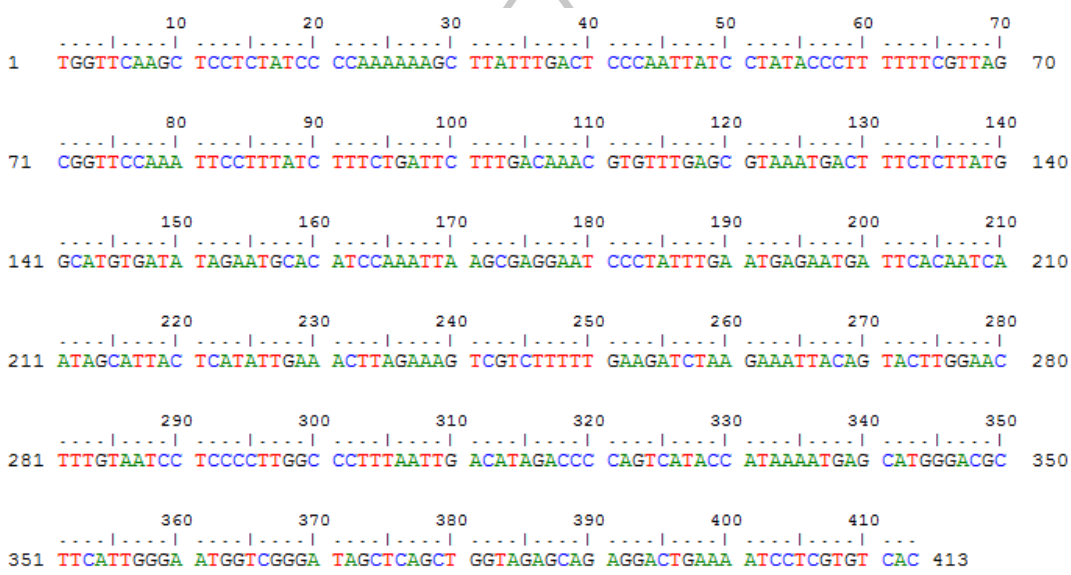
```
          10          20          30          40          50          60          70
    ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----|
1   TTATGCGATA CTTGGTGTGA ATTGCAGGAT CCCGTGAACC ATCGAGTCTT TGACGCAAGT TGCGCCCGAA  70

          80          90         100         110         120         130         140
    ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----|
71  GCCATTAGGC CGAGGGCACG TCTGCCTGGG CGTCACGCAT CGCGTCGCCC CCCCTCCATC GCCCGCACGG  140

         150         160         170         180         190         200         210
    ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----|
141 CCGGGCGGTG GGAGCGGGGC GGAGATTGGC CTCCCGTGAG CACGAGCGCG CGGACGGCCC AAATCGGATC  210

         220         230         240         250         260         270         280
    ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----|
211 CCCCGGCGGC GCAAGTCACG GCCAGTGGTG GTTGAGGACA TCAACTCTCG TGCTGACAGC CGTGCGCCAC  280

         290         300         310         320         330         340         350
    ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----|
281 CGCGTCGCCT TCGGGCATCG AAAACGACCC AACGGCGCAC TCGCGCCTTC GACCGGGACC CCAGGTCAGG  350

         360         370         380         390         400         410         420
    ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----|
351 CGGGATCACC CGCTGAGTTT AAGCATATCA ATAAGCGGAG GAAAAGAAAC TTACAAGGAT TCCCCTAGTA  420

         430         440         450         460         470         480
    ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|----| ----|---
421 ACGGCGAGCG AACCGGGAAT AGCCCAACTT GAGAATCGGG CGGCCACGCC GTTCGAATTG TAGTCTGA 488
```

รูปที่ 13 ตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่อ่านได้ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 ของต้นรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) มีความยาว 488 คู่เบส โดยเบสลำดับที่ <1-108 คือ ส่วนปลายของยีน 5.8s ไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ เบสลำดับที่ 109-334 คือส่วนของ ITS2 และเบสลำดับที่ 335->488 คือ ส่วนต้นของยีน 26s ไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ

มหาวิทยาลัยศิลปากร



รูปที่ 14 ตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่อ่านได้ของดีเอ็นเอบริเวณ *psb*A-*trn*H ของต้นรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) มีความยาว 535 คู่เบส โดยเบสลำดับที่ <1-64 คือ ส่วนปลายของยีน *psb*A เบสลำดับที่ 65-500 คือส่วนของ *psb*A-*trn*H intergenic spacer และเบสลำดับที่ 501->535 คือ ส่วนต้นของยีน *trn*H



รูปที่ 15 ตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่อ่านได้ของดีเอ็นเอบริเวณ *trn*L-*trn*F ของต้นรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) มีความยาว 413 คู่เบส โดยเบสลำดับที่ <1-38 คือ ส่วนปลายของยีน *trn*L เบสลำดับที่ 39-360 คือส่วนของ *trn*L-*trn*F intergenic spacer และเบสลำดับที่ 361->413 คือ ส่วนต้นของยีน *trn*F

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 7 ขนาดของดีเอ็นเอและร้อยละปริมาณนิวคลีโอไทด์ G และ C ในดีเอ็นเอบริเวณ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในงานวิจัยนี้

	สกุล (Genus)	ชนิด (Speices)	ขนาดดีเอ็นเอ (คู่เบส)			ร้อยละปริมาณนิวคลีโอไทด์ G และ C (% GC content)		
			ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F	ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
1	*Acanthus*	*Acanthus ebracteatus* Vahl	-	285	349	-	29.9	40.3
		A. mollis L.	232	303	354	66.8	27.7	39.8
2	*Andrographis*	*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees	-	258	332	-	31.9	39.9
3	*Asystasia*	*Asystasia newmorum* Nees	224	271	319	66.5	33.4	40.6
		A. gangetica (L.) T.Anderson	-	261	308	-	33.1	39.9
4	*Avicennia*	*Avicennia officinalis* L.	220	407	319	61.8	32.6	39.6
		A. marina (Forssk.) Vierh.	220	407	290	61.8	32.3	39.5
5	*Barleria*	*Barleria cristata* L.	249	442	352	66.5	29.8	40.7
		B. lupulina Lindl.	237	482	355	60.9	27.8	40.5
		B. prionitis L.	280	509	355	60.6	26.9	40.5
		B. repens Nees	225	468	360	52.8	29.3	39.8
		B. strigosa Willd.	246	454	356	59.4	29.6	40.6
6	*Clinacanthus*	*Clinacanthus nutans* Burm.f.) Lindau	232	454	380	66.0	34.0	42.3
		C. siamensis Bremek.	-	266	319	-	34.0	41.7
7	*Crossandra*	*Crossandra infundibuliformis* (L.) Nees	-	301	342	-	31.3	40.6
8	*Eranthemum*	*Eranthemum tetragonum* A. Dietr ex Nees	224	-	343	65.0	-	40.4
9	*Graptophyllum*	*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.	218	319	342	65.1	33.8	39.6
10	*Hemigraphis*	*Hemigraphis repanda* (L.) Hallier f.	-	457	323	-	30.7	39.1
		H. reptans T. Anderson ex Hemsl.	-	-	323	-	-	38.7
11	*Justicia*	*Justicia betonica* L.	227	289	317	64.6	33.7	41.2
		J. candicans (Nees) L.D.Benson	224	282	318	50.5	32.8	42.2
		J. gendarussa Burm. f.	225	216	310	63.7	34.2	41.6
		J. valida Ridl. var. *glandulosa* Fisch.	224	401	359	58.9	30.8	40.0
12	*Lepidagathis*	*Lepidagathis incurva* Buch.-Ham. ex D. Don	228	-	-	64.6	-	-
13	*Megaskepasma*	*Megaskepasma erythrochlamys* Lindau	225	271	-	65.0	33.2	-
14	*Pachystachys*	*Pachystachys lutea* Nees	202	276	318	64.6	34.1	42.0

ตารางที่ 7 ขนาดของดีเอ็นเอและร้อยละปริมาณนิวคลีโอไทด์ G และ C ในดีเอ็นเอบริเวณ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในงานวิจัยนี้(ต่อ)

	สกุล (Genus)	ชนิด (Speices)	ขนาดดีเอ็นเอ (คู่เบส)			ร้อยละปริมาณนิวคลีโอไทด์ G และ C (% GC content)		
			ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F	ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
15	*Peristrophe*	*Peristrophe lanceolaria* Merr.	-	308	325	-	31.4	42.5
		P. hyssopifolia (Roxb.) Nees	247	313	319	57.5	31.8	42.9
16	*Phlogacanthus*	*Phlogacanthus curviflorus* Nees	237	365	341	68.6	30.4	40.5
17	*Pseuderanthemum*	*Pseuderanthemum atropurpureum* Radlk.	-	274	-	-	33.7	-
		P. reticulatum (Hook. f.) Radlk.	224	319	342	65	33.3	39.6
		P. graciliflorum (Nees) Ridl.	216	274	343	63	33.3	39.2
18	*Rhinacanthus*	*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz	-	274	-	-	32.3	-
19	*Ruellia*	*Ruellia amoena* L.	225	201	288	59.5	31.0	39.7
		R. repens L.	225	461	375	61.5	31.4	40
		R. simplex C.Wright	-	-	359	-	-	39.6
		R. tuberosa L.	221	392	259	58.3	29.8	39.8
20	*Rungia*	*Rungia pectinata* (L.) Nees	231	255	-	64.8	30.4	-
21	*Ruttyruspolia*	*× Ruttyruspolia* A. Meeuse & de Wet	224	282	344	66.5	34.1	39.7
22	*Strobilanthes*	*Strobilanthes auriculata* Bremek.	222	439	323	63.3	31.6	39.9
		S. cusia (Nees) Kuntze	226	440	323	65.6	31.7	39.3
		S. hamiltoniana (Steud.) Bosser & Heine	152	439	323	64.5	31.5	39.2
		S. persicifolia (Lindl.) J.R.I.Wood	-	438	323	-	31.7	39.3
23	*Thunbergia*	*Thunbergia alata* Boj. ex Sims.	223	446	343	64.6	31.6	39.2
		T. coccinea Wall. ex D. Don	218	440	350	64.4	30.4	39.1
		T. colpifera B.Hansen	217	423	338	62	31.0	41.1
		T. erecta (Benth.) T. Anderson	207	441	348	69.6	30.5	37.8
		T. fragrans Roxb.	226	391	350	65.3	28.5	40.0
		T. grandiflora (Roxb. ex Rottler) Roxb.	222	440	350	63.6	30.6	39.0
		T. hossei C.B. Clarke	217	448	345	64.2	29.0	39.8
		T. laurifolia Lindl.	226	432	350	62.7	30.3	39.2
		ค่าเฉลี่ย	**225±17.4**	**362±85.8**	**335±22.8**	**63.1±3.8**	**31.5±1.9**	**40.2±1.1**

6.2 การวิเคราะห์ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด

เพื่อศึกษาความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดของพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่มีวิวัฒนาการใกล้เคียงกัน ในการศึกษานี้จึงเลือกตัวแทนพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในระดับสกุลที่มีข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอทั้งสามตำแหน่ง (ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F) ที่มีจำนวนชนิดมากที่สุดจำนวน 3 สกุล ได้แก่ พืชสกุล *Barleria, Justicia* และ *Thunbergia* มาทำการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Clustal W และคำนวณค่าความแตกต่าง Kimura 2-Parameter (K2P) distance ด้วยโปรแกรม MEGA เวอร์ชั่น 6.06 ได้ผลดังนี้

6.2.1 พืชสกุล *Barleria*

พืชสกุล *Barleria* ที่ได้ทำการศึกษาในงานวิจัยนี้มี 5 ชนิด และสามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ทุกชนิด ได้แก่ อังกาบ (*B. cristata*) เสลดพังพอน (*B. lupulina*) อังกาบหนู (*B. prionitis*) อังกาบแดง (*B. repens*) และสังกรณี (*B. strigosa*) เมื่อทำการคำนวณค่าความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดของพืชในสกุลนี้ โดยใช้ K2P distance โดยเปรียบเทียบครั้งละหนึ่งคู่ ซึ่งคำนวณจากจำนวนนิวคลีโอไทด์ที่ไม่เหมือนกันเทียบกับจำนวนนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด โดยค่า K2P distance มีค่าสูงสุดคือ 1.00 แสดงว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ตัวอย่างคู่นั้นมีความแตกต่างกันร้อยละ 100 และจากการคำนวณค่า K2P distance ของพืชสกุล *Barleria* พบว่า ดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F มีค่า K2P distance เฉลี่ย 0.643, 0.029 และ 0.006 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบพืชสกุล *Barleria* ทั้ง 5 ชนิด ทีละคู่พบว่า ทุกคู่มีค่า K2P distance ที่ดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 มากที่สุด (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด (Kimura 2-Parameter distance) ระหว่างพืชในสกุล *Barleria*

		ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
Barleria cristata	*Barleria lupulina*	**0.616***	0.044	0.010
B. cristata	*B. prionitis*	**0.449***	0.044	0.012
B. cristata	*B. repens*	**0.786***	0.032	0.010
B. cristata	*B. strigosa*	**0.144***	0.032	0.007
B. lupulina	*B.prionitis*	**0.528***	0.005	0.002
B. lupulina	*B. repens*	**0.882***	0.029	0.005
B. lupulina	*B. strigosa*	**0.716***	0.027	0.002
B. prionitis	*B. repens*	**0.786***	0.029	0.007
B. prionitis	*B. strigosa*	**0.545***	0.027	0.005
B. repens	*B. strigosa*	**0.982***	0.019	0.002
	ค่าเฉลี่ย	**0.643***	0.029	0.006

หมายเหตุ * แสดงค่า K2P distance ที่มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบระหว่างดีเอ็นเอทั้งสามตำแหน่ง

6.2.2 พืชสกุล *Justicia*

พืชสกุล *Justicia* ในการศึกษานี้ที่สามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้มี 4 ชนิด ได้แก่ หางแมว (*J. betonica*) *J. candicans* สันพร้ามอญ (*J. gendarussa*) และกระดูกไก่ดำ (*J. valida* var. *glandulosa*) ยกเว้น กระดูกไก่น้อย (*J. diffusa*) และ *J. striata* ที่ไม่สามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้

เมื่อคำนวณค่าความแตกต่าง K2P distance ระหว่างพืชในสกุล *Justicia* ที่สามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ทั้งสี่ชนิด พบว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F มีค่า K2P distance เฉลี่ย 0.516, 0.176 และ 0.099 ตามลำดับ และเมื่อทำการเปรียบเทียบพืชในสกุลนี้ทีละคู่ พบว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 ส่วนใหญ่มีค่าความแตกต่าง K2P distance มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับดีเอ็นเออีกสองตำแหน่ง ยกเว้น คู่ของ *J. betonica* กับ *J. valida* var. *glandulosa* ที่ดีเอ็นเอตำแหน่ง *psb*A-*trn*H มีค่า K2P distance สูงที่สุด (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด (Kimura 2-Parameter distance) ระหว่างพืชในสกุล *Justicia*

		ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
Justicia betonica	*Justicia candicans*	**0.914***	0.110	0.055
J. betonica	*J. gendarussa*	**0.102***	0.001	0.039
J. betonica	*J. valida* var. *glandulosa*	0.249	**0.260***	0.146
J.candicans	*J. gendarussa*	**0.774***	0.110	0.064
J. candicans	*J. valida* var. *glandulosa*	**0.792***	0.314	0.151
J. gendarussa	*J. valida* var. *glandulosa*	**0.263***	0.260	0.139
	ค่าเฉลี่ย	**0.516***	0.176	0.099

หมายเหตุ * แสดงค่า K2P distance ที่มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบระหว่างดีเอ็นเอทั้งสามตำแหน่ง

6.2.3 พืชสกุล *Thunbergia*

พืชสกุล *Thunbergia* ในการศึกษานี้ที่สามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้มี 8 ชนิด ได้แก่ แววตา (*T. alata*) หนามแน่แดง (*T. coccinea*) รางจืดต้นภูคา (*T. colpifera*) ช้องนาง (*T. erecta*) หนามแน่ขาว (*T. fragrans*) สร้อยอินทนิล (*T. grandiflora*) น้ำแน่ดง (*T. hossei*) และรางจืด (*T. laurifolia*) เมื่อคำนวณค่าความแตกต่าง K2P distance ระหว่างพืชในสกุลทั้ง 8 ชนิด พบว่า ดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F มีค่าเฉลี่ย 0.121, 0.088 และ0.054 ตามลำดับ และเมื่อทำการเปรียบเทียบพืชสกุลนี้ทีละคู่ พบว่ามี 20 คู่ ที่ดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 ให้ค่าสูงสุด มี 3 คู่ ที่ดีเอ็นเอตำแหน่ง *psb*A-*trn*H ให้ค่าสูงสุด และอีก 5 คู่ ที่ดีเอ็นเอตำแหน่ง *trn*L-*trn*F ให้ค่าสูงสุด นอกจากนั้นยังพบว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง *trn*L-*trn*F ให้ค่าความแตกต่าง K2P distance เท่ากับศูนย์ถึงสองคู่ ได้แก่ *T. coccinea* กับ *T. grandiflora และ T. coccinea* กับ *T. hossei* (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด (Kimura 2-Parameter distance) ระหว่างพืชสกุล *Thunbergia*

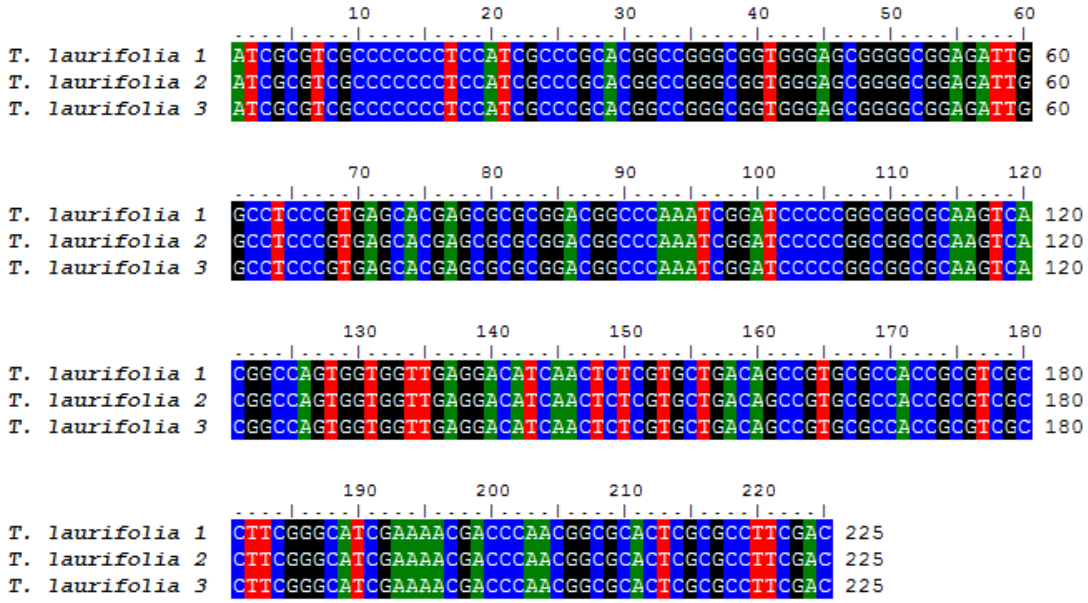
		ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
Thunbergia alata	*Thunbergia coccinea*	0.089	0.078	**0.147***
T. alata	*T. colpifera*	**0.184***	0.153	0.135
T. alata	*T. erecta*	**0.146***	0.068	0.139
T. alata	*T. fragrans*	0.084	0.040	**0.144***
T. alata	*T. grandiflora*	0.102	0.140	**0.147***
T. alata	*T. hossei*	0.095	0.068	**0.147***
T. alata	*T. laurifolia*	0.094	0.087	**0.152***
T. coccinea	*T. colpifera*	**0.178***	0.143	0.042
T. coccinea	*T. erecta*	**0.127***	0.099	0.024
T. coccinea	*T. fragrans*	**0.126***	0.086	0.031
T. coccinea	*T. grandiflora*	0.027	**0.090***	0.000
T. coccinea	*T. hossei*	**0.056***	0.039	0.000
T. coccinea	*T. laurifolia*	0.010	**0.016***	0.003
T. colpifera	*T. erecta*	**0.206***	0.095	0.024
T. colpifera	*T. fragrans*	**0.193***	0.141	0.046
T. colpifera	*T. grandiflora*	**0.159***	0.074	0.042
T. colpifera	*T. hossei*	**0.184***	0.173	0.042
T. colpifera	*T. laurifolia*	**0.165***	0.150	0.046
T. erecta	*T. fragrans*	**0.199***	0.066	0.028
T. erecta	*T. grandiflora*	**0.146***	0.090	0.024
T. erecta	*T. hossei*	**0.133***	0.089	0.024
T. erecta	*T. laurifolia*	**0.133***	0.108	0.028
T. fragrans	*T. grandiflora*	**0.126***	0.079	0.031
T. fragrans	*T. hossei*	**0.139***	0.099	0.031
T. fragrans	*T. laurifolia*	**0.133***	0.089	0.035
T. grandiflora	*T. hossei*	**0.073***	0.033	0.000
T. grandiflora	*T. laurifolia*	0.016	**0.019***	0.003
T. hossei	*T. laurifolia*	**0.062***	0.048	0.003
	ค่าเฉลี่ย	**0.121***	0.088	0.054

หมายเหตุ * แสดงค่า K2P distance ที่มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบระหว่างดีเอ็นเอทั้งสามตำแหน่ง

จากผลการวิเคราะห์ค่า K2P distance ของพืชตัวอย่างในสกุล *Barleria*, *Justicia* และ *Thunbergia* ดังกล่าว พบว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 มีความเหมาะสมที่สุดในการใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด เนื่องจากสามารถแยกความแตกต่างระหว่างชนิดพืชในสกุล (interspecies variation) ได้ดี

สำหรับการเปรียบเทียบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในพืชชนิดเดียวกัน (intraspecies variation) นั้นในการศึกษานี้ไม่สามารถทำได้ทั้งหมดเนื่องจากมีตัวอย่างพืชแต่ละชนิดไม่เพียงพอ แต่ทั้งนี้ในพืชที่มีจำนวนตัวอย่างมากกว่า 1 ตัวอย่าง เช่น ต้นรางจืดเมื่อนำเอาลำดับนิว-คลีโอไทด์ที่อ่านได้จากแต่ละตัวอย่างมาเปรียบเทียบกันโดยใช้โปรแกรม Clustal W พบว่า ไม่มีความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในพืชชนิดเดียวกัน แสดงดังรูปที่ 16

มหาวิทยาลัยศิลปากร



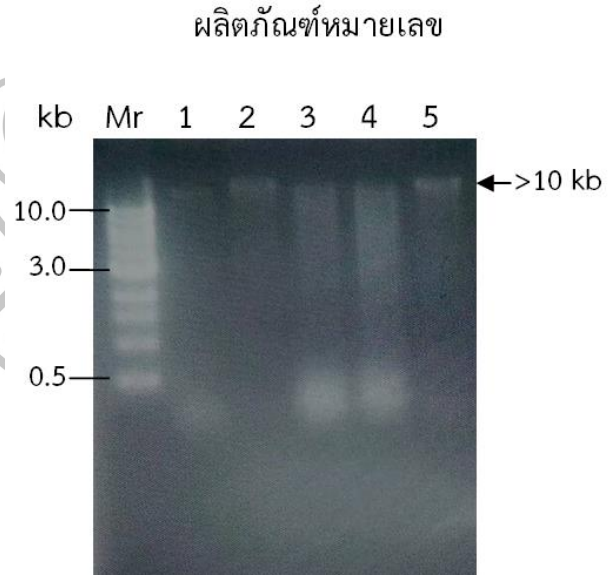
รูปที่ 16 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 (ขนาด 225 คู่เบส) ของต้นรางจืด (*Thunbergia laurifolia*) จำนวน 3 ตัวอย่าง โดยใช้โปรแกรม Clustal W

7. การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการพิสูจน์เอกลักษณ์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืดในท้องตลาด

จากการศึกษาข้างต้นสามารถจัดเก็บข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในสกุล *Thunbergia* ได้ครบสมบูรณ์ทั้ง 8 ชนิด ซึ่งเป็นสกุลที่มีจำนวนข้อมูลมากที่สุด ในการศึกษานี้จึงทำการเลือกผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืด (*T. laurifolia*) ในท้องตลาด (จากร้านขายยาในจังหวัดนครปฐม) มาเป็นตัวอย่างเพื่อใช้ทดสอบการพิสูจน์เอกลักษณ์ โดยเลือกใช้ในรูปใบสดและใบแห้งบรรจุห่อ จำนวน 5 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4 ในบทที่ 3 ข้อ 3.2.12.1

7.1 จีโนมิกดีเอ็นเอจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืด

เมื่อทำการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืดทั้ง 5 ตัวอย่าง พบว่าสามารถสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอได้ทุกตัวอย่าง (รูปที่ 17) โดยมีความเข้มข้นของดีเอ็นเอ 100-300 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร



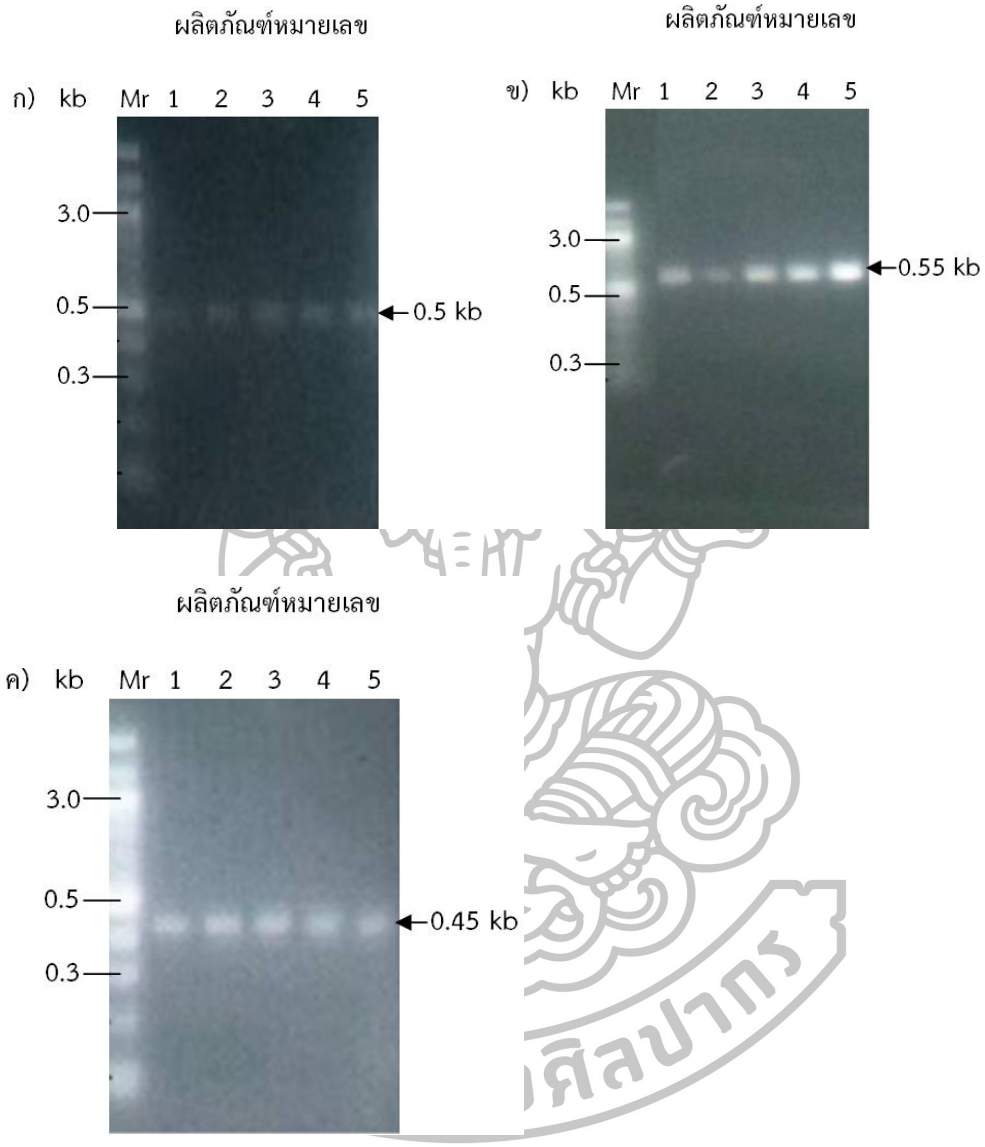
รูปที่ 17 จีโนมิกดีเอ็นเอของตัวอย่างผลิตภัณฑ์รางจืด (*T. laurifolia* Lindl.) 5 ตัวอย่างบนเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 0.8
เลน Mr แสดงดีเอ็นเอมาตรฐาน ปลายศรชี้แสดงแถบจีโนมิกดีเอ็นเอ

7.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส การอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืด

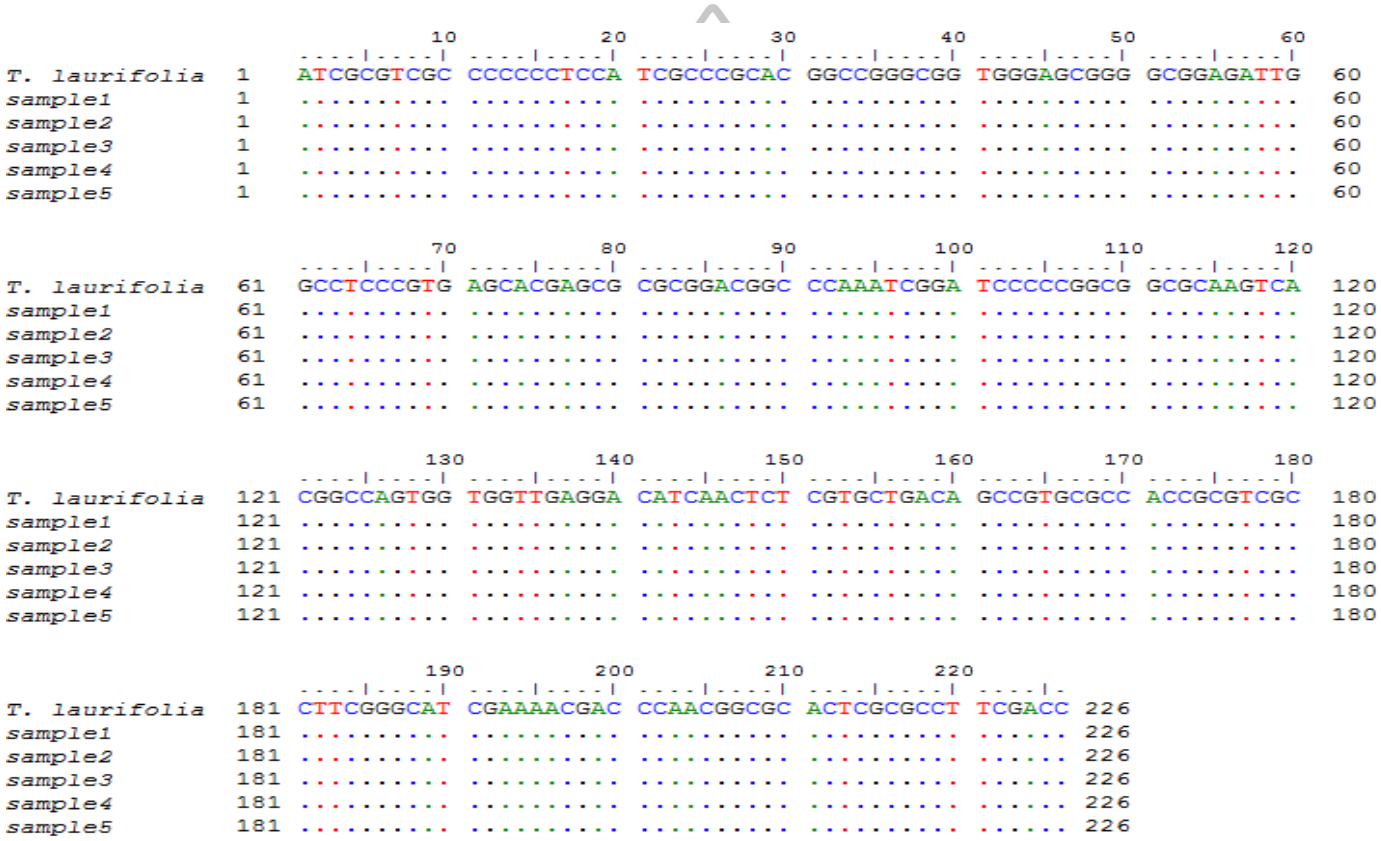
จีโนมิกดีเอ็นเอของตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืดทั้ง 5 ตัวอย่าง สามารถนำมาเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L- *trn*F ด้วยไพรเมอร์จำเพาะได้ทั้งหมด และพบว่าความยาวของดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 มีขนาดประมาณ 500 คู่เบส ความยาวของบริเวณ *psb*A-*trn*H มีขนาดประมาณ 550 คู่เบส และความยาวของ *trn*L-*trn*F มีขนาดประมาณ 450 คู่เบส (รูปที่ 18) และเมื่อทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ด้วยโปรแกรม Bioedit เวอร์ชั่น 7.0.8.0 พบว่าลำดับนิวคลี-โอไทด์ของทั้ง 5 ตัวอย่าง ในตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L- *trn*F มีขนาด 225, 437 และ 322 คู่เบส ตามลำดับ

เมื่อทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสามตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ทั้ง 5 ตัวอย่าง กับฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของรางจืดที่ได้จัดทำขึ้น โดยใช้โปรแกรม Clustal W พบว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L- *trn*F มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอ-ไทด์ในฐานข้อมูลร้อยละ 100 ทั้งสามตำแหน่ง (รูปที่ 19-21) แสดงว่าตัวอย่างที่นำมาทดสอบทั้ง 5 ตัวอย่างนั้นเป็นผลิตภัณฑ์รางจืดจริง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

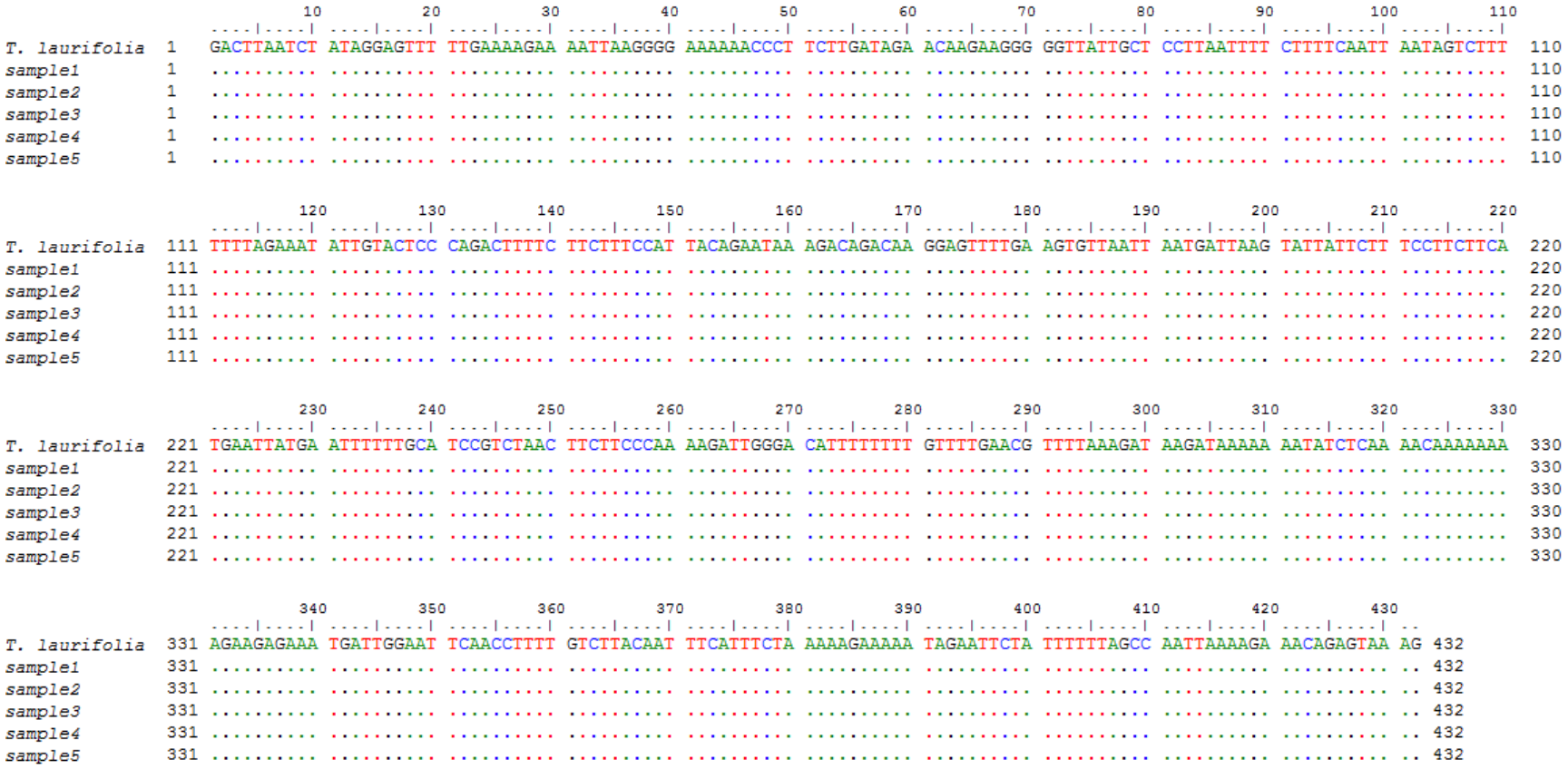


รูปที่ 18 ผลผลิตพีซีอาร์ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์รางจืด (*T. laurifolia* Lindl.) 5 ตัวอย่างบนเจลอะกาโรส ความเข้มข้นร้อยละ 2
เลน Mr แสดงแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน
ก) ดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 ขนาด 500 คู่เบส
ข) ดีเอ็นเอบริเวณ *psb*A-*trn*H ขนาด 550 คู่เบส
ค) ดีเอ็นเอบริเวณ *trn*L-*trn*F ขนาด 450 คู่เบส



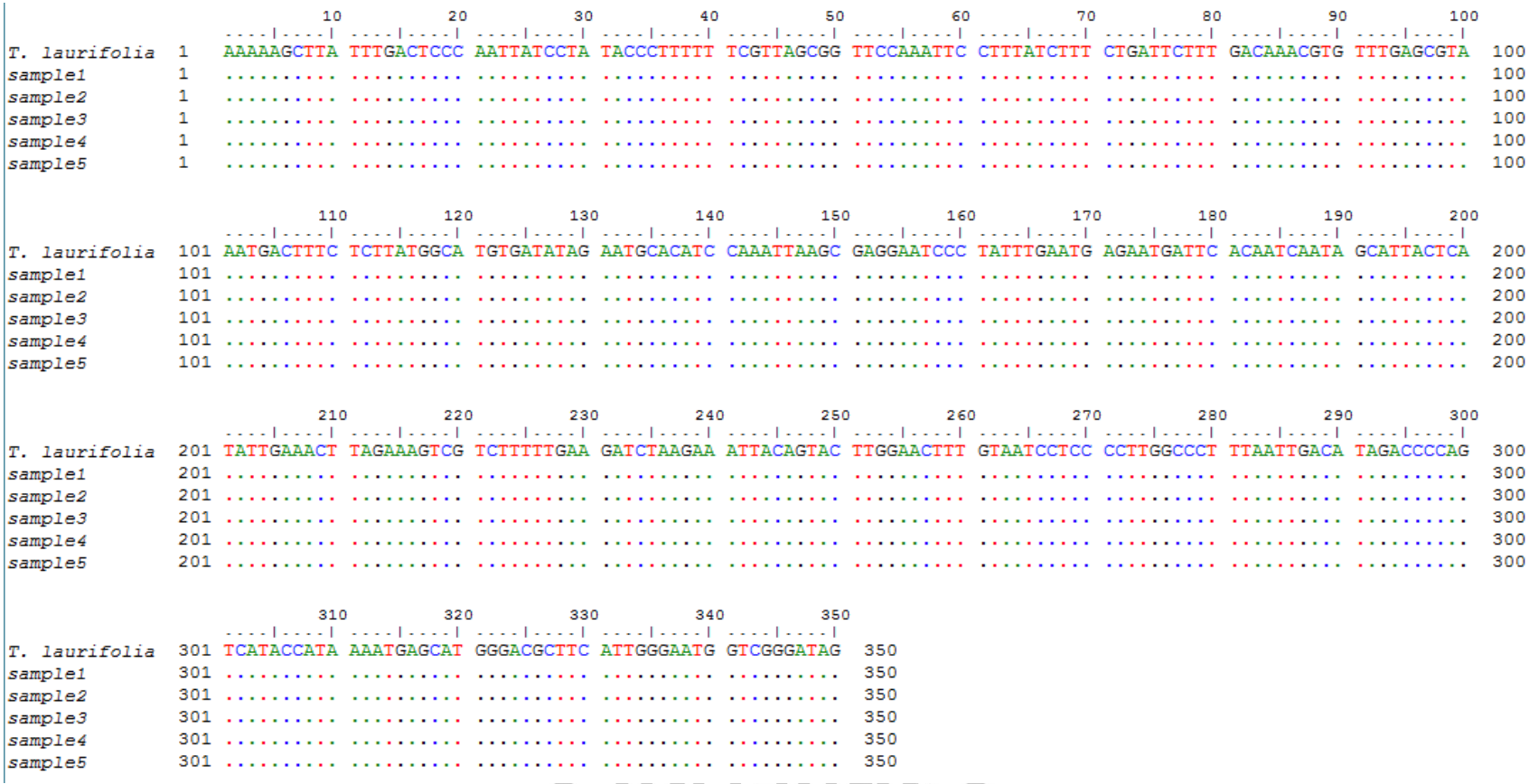
รูปที่ 19 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 (ขนาด 226 คู่เบส) ของผลิตภัณฑ์รางจืดที่พบในท้องตลาด 5 ตัวอย่าง เทียบกับฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของต้นรางจืด (*T. laurifolia* Lindl.) ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ โดยใช้โปรแกรม Clustal W

• แสดงร้อยละนิวคลีโอไทด์ที่มีความเหมือนกัน 100



รูปที่ 20 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง *psb*A-*trn*H (ขนาด 437 คู่เบส) ของผลิตภัณฑ์รางจืดที่พบในท้องตลาด 5 ตัวอย่าง เทียบกับฐานข้อมูลดีเอ็นเอ-บาร์โค้ดของต้นรางจืด (*T. laurifolia* Lindl.) ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ โดยใช้โปรแกรม Clustal W

•แสดงร้อยละนิวคลีโอไทด์ที่มีความเหมือนกัน 100



```
                        10         20         30         40         50         60         70         80         90         100
                    ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
T. laurifolia   1   AAAAAGCTTA TTTGACTCCC AATTATCCTA TACCCTTTTT TCGTTAGCGG TTCCAAATTC CTTTATCTTT CTGATTCTTT GACAAACGTG TTTGAGCGTA  100
sample1         1   .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  100
sample2         1   .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  100
sample3         1   .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  100
sample4         1   .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  100
sample5         1   .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  100

                        110        120        130        140        150        160        170        180        190        200
                    ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
T. laurifolia   101 AATGACTTTC TCTTATGGCA TGTGATATAG AATGCACATC CAAATTAAGC GAGGAATCCC TATTTGAATG AGAATGATTC ACAATCAATA GCATTACTCA  200
sample1         101 .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  200
sample2         101 .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  200
sample3         101 .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  200
sample4         101 .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  200
sample5         101 .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  200

                        210        220        230        240        250        260        270        280        290        300
                    ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
T. laurifolia   201 TATTGAAACT TAGAAAGTCG TCTTTTTGAA GATCTAAGAA ATTACAGTAC TTGGAACTTT GTAATCCTCC CCTTGGCCCT TTAATTGACA TAGACCCCAG  300
sample1         201 .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  300
sample2         201 .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  300
sample3         201 .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  300
sample4         201 .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  300
sample5         201 .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........  300

                        310        320        330        340        350
                    ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
T. laurifolia   301 TCATACCATA AAATGAGCAT GGGACGCTTC ATTGGGAATG GTCGGGATAG  350
sample1         301 .......... .......... .......... .......... ..........  350
sample2         301 .......... .......... .......... .......... ..........  350
sample3         301 .......... .......... .......... .......... ..........  350
sample4         301 .......... .......... .......... .......... ..........  350
sample5         301 .......... .......... .......... .......... ..........  350
```

รูปที่ 21 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง *trn*L-*trn*F (ขนาด 350 คู่เบส) ของผลิตภัณฑ์รางจืดที่พบในท้องตลาด 5 ตัวอย่าง เทียบกับฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของต้นรางจืด (*T. laurifolia* Lindl.) ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ โดยใช้โปรแกรม Clustal W

•แสดงร้อยละนิวคลีโอไทด์ที่มีความเหมือนกัน 100

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

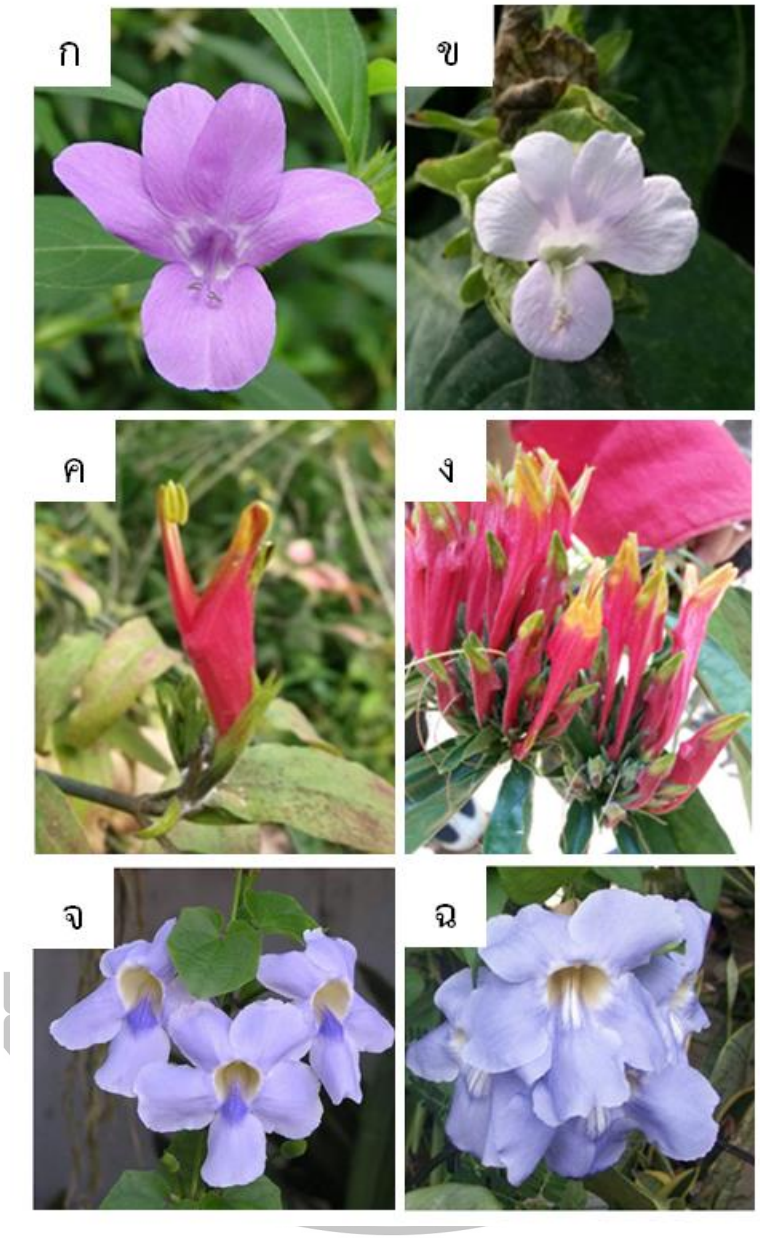
จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอระดับชนิดบางชนิดมีลักษณะใกล้เคียงกันมากทำให้แยกความแตกต่างได้ยาก เช่นพืชในสกุล *Barleria* ลักษณะอังกาบ(*B. cristata*) และสังกรณี (*B. strigosa*) มีลักษณะใกล้เคียงกันมาก (ดังรูปที่ 22 ก-ข) พืชสกุล *Clinacanthus* ต้นพญาปล้องทอง (*C. nutans*) และลิ้นงูเห่า (*C. siamensis*) มีลักษณะใกล้เคียงกันมากจนในบางตำรารวมพืชทั้งสองชนิดเป็นชนิดเดียวกัน (รูปที่ 22 ค-ง) พืชในสกุล *Thunbergia* ลักษณะดอกของสร้อยอินทนิล (*T. grandiflora*) และ รางจืด (*T. laurifolia*) จะคล้ายคลึงกันมากทำให้เกิดความสับสนในการจำแนกชนิด (ดังรูปที่ 22 จ-ฉ) และหากได้รับเพียงตัวอย่างใบมาเพียงอย่างเดียว อาจจะไม่สามารถระบุชนิดพืชได้ในการวิจัยนี้จึงทำการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอเพื่อนำมาใช้ช่วยในการพิสูจน์เอกลักษณ์ผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรในวงศ์เหงือกปลาหมอโดยเฉพาะในกรณีที่ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างไม่ครบถ้วน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด 3 ตำแหน่ง ได้แก่ internal transcribed spacer 2 (ITS2), *psb*A- *trn*H และ *trn*L-*trn*F intergenic spacers เพื่อใช้ในการระบุชนิดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยและประยุกต์ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรในวงศ์เหงือกปลาหมอในท้องตลาด

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย

จากการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย พบว่าช่วงเริ่มต้นงานวิจัย ในปี พ.ศ. 2555 มีรายงานจำนวนชนิดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยทั้งหมด 35 สกุล 94 ชนิด (สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2544) และต่อมาในปี พ.ศ. 2557 มีรายงานจำนวนชนิดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยทั้งหมด 36 สกุล 187 ชนิด (สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช, 2557) แต่ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยสามารถเก็บตัวอย่างได้ทั้งหมด 24 สกุล (23 สกุล พบในรายชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทยปี 2557 และ 1 สกุล ไม่พบในรายชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทยปี 2557) 58 ชนิด (46ชนิด พบในรายชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทยปี 2557 และ12 ชนิด ไม่พบในรายชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทยปี 2557) แสดงดังตารางที่ 5 ส่วนพืชอีกส่วนหนึ่งจำนวน 11 สกุล 129 ชนิด ไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้เนื่องจากในช่วงที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างยังไม่มีการรวบรวมจำนวนชนิดและลักษณะพรรณไม้ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่สมบูรณ์ในประเทศไทย มีเพียงรายชื่อพรรณไม้ที่

ศาสตราจารย์เต็ม สมิตินันทน์ ได้ทำการรวบรวมไว้ในปี พ.ศ. 2544 เท่านั้น ทำให้การรวบรวมพรรณไม้จากรายชื่อเพียงอย่างเดียวเป็นไปได้ยาก เช่น สกุล *Asystasiella, Dyschoriste, Lepidagathis, Phaulopsis, Ptyssiglottis* เป็นต้น ถึงแม้ว่าในบางรายชื่อจะมีการเก็บตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงแต่พบว่าข้อมูลพรรณไม้เบื้องต้นไม่ระบุสถานที่พบที่ชัดเจน เช่น ต้นโกงกางน้ำจืด (*Marcania grandiflora*) มีรายงานพบที่เขาหินปูน จ. ลพบุรี แต่ด้วยสภาพภูมิประเทศที่เปลี่ยนไปให้พรรณไม้บางชนิดสูญหายไปจากพื้นที่ที่เคยมีการรายงานไว้ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการเก็บตัวอย่างพืชในงานวิจัยนี้

มหาวิทยาลัยศิลปากร



รูปที่ 22 การเปรียบเทียบพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอที่มีลักษณะทางสัญฐานวิทยาใกล้เคียงกันมาก เช่น พืชสกุล *Barleria* ก) อังกาบ (*B. cristata* L.) และ ข) สังกรณี (*B. strigosa* Willd.) พืชสกุล*Clinacanthus* ค) พญาปล้องทอง (*C. Nutans* (Burm. f.) Lindau) และ ง) ลิ้นงูเห่า (*C. Siamensis* Bremek.) พืชในสกุล *Thunbergia* จ) สร้อยอินทนิล (*T. grandiflora* (Roxb. ex Rottler) Roxb.) และ ฉ) รางจืด (*T. laurifolia* Lindl.)

2. การสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอและการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ

ในการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจากพืชนั้นสามารถสกัดได้จากทุกส่วนของพืชทั้ง ลำต้น ราก ดอก และใบ แต่การใช้ส่วนของใบจะสะดวกที่สุด เนื่องจากใบพืชพบได้ทุกฤดูกาล และมีจำนวนมาก ทำให้ง่ายต่อการเก็บตัวอย่าง อีกทั้งในส่วนของใบมีคลอโรพลาสต์ทำให้สามารถศึกษาดีเอ็นเอในส่วนนี้ได้ อย่างไรก็ตามอายุของใบมีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ โดยพบว่าการใช้ใบอ่อนนั้นมีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากเป็นส่วนที่มีเนื้อเยื่อเจริญมาก เซลล์จึงมีการแบ่งตัวทำให้มีดีเอ็นเอจำนวนมาก และในรายงานการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจากพืชส่วนใหญ่ใช้ส่วนใบเป็นตัวอย่าง (Murray & Thompson, 1980) ทั้งนี้ลักษณะของใบ เช่น มีขน ไม่มีขน มียาง อวบน้ำ รวมถึงองค์ประกอบต่างๆ ในพืชอาจมีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดอีกด้วยเช่น สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)และ โพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharides) (Jobes, et al., 1995)

อย่างไรก็ตามเมื่อทำการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจากตัวอย่างพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอทั้งหมด 58 ชนิดในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยสามารถทำการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอได้จากพืชทั้ง 58 ชนิด คิดเป็นความสำเร็จในการสกัดร้อยละ 100 แต่ความเข้มข้นของจีโนมิกดีเอ็นเอที่ได้มีค่าแตกต่างกันมากอยู่ระหว่าง 20-400 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะใบของตัวอย่างที่แตกต่างกัน โดยพบว่าตัวอย่างใบพืชที่มียางจำนวนมาก เช่น สกุล *Acanthus* ได้แก่ เหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus*) เหงือกปลาหมอเทศ (*A. mollis*) จะทำให้การสกัดจีโนมิกเป็นไปได้ยากและมีปริมาณจีโนมิกที่น้อยกว่าตัวอย่างใบพืชที่ไม่มียาง เช่นสกุล *Barleria* ได้แก่ อังกาบ (*Barleria cristata*) เสลดพังพอน (*B. lupulina*) อังกาบหนู (*B. prionitis*) อังกาบแดง (*B. repens*) และสังกรณี (*B. strigosa*) เป็นต้น เพื่อให้ได้ปริมาณจีโนมิกเพิ่มขึ้นสำหรับพืชที่ใบมียางมากนั้น จะเพิ่มขั้นตอนการแช่ตัวอย่างในน้ำสะอาดก่อนเพื่อชะล้างยางออกจากตัวอย่างให้มากที่สุดก่อนนำไปสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจะทำให้ได้ปริมาณจีโนมิกเพิ่มขึ้นร้อยละ 30-50

การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชในปัจจุบันนิยมศึกษาดีเอ็นเอ 2 ส่วน คือ 1) ดีเอ็นในนิวเคลียส ได้แก่ ITS และ ITS2 2) ดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ ได้แก่ *psb*A-*trn*H, *mat*K, *rbc*L, *atp*B, *ndh*F และ *trn*L-*trn*F เป็นต้น ในงานวิจัยนี้เลือกศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด 3 ตำแหน่ง คือ ดีเอ็นเอในนิวเคลียส ได้แก่ ITS2 และดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ ได้แก่ *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F เนื่องจากดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS2 และ *psb*A-*trn*H มีความความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์สูงในระดับชนิดสามารถบอกความแตกต่างระหว่างชนิดได้ดีและมีหลายงานวิจัยเสนอให้ใช้ดีเอ็นเอทั้ง 2 ตำแหน่งร่วมกันเพื่อเพิ่มความสามารถในการระบุชนิดพืช (Zuo, et al., 2011; Chen, et al., 2012) ส่วนดีเอ็นเอตำแหน่ง *trn*L-*trn*F ถูกใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอก่อนหน้า (McDade & Moody, 1999; McDade, et al., 2005) ทำให้งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ดีเอ็นเอทั้ง 3 ตำแหน่งในการศึกษาพืชในวงศ์เหงือกปลาหมอครั้งนี้

จากการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอทั้งสามตำแหน่งพบว่า การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 ได้ชิ้นดีเอ็นเอขนาดประมาณ 500 คู่เบส มีค่าร้อยละความสำเร็จ 93.1 ซึ่งมีค่าความสำเร็จที่สูงเช่นเดียวกับพืชวงศ์ Asteraceae (Gao, et al., 2010[a]) วงศ์ Fabaceae (Gao, et al., 2010[b]) วงศ์ Rutaceae (Luo, et al., 2010) ส่วนดีเอ็นเอตำแหน่ง *psb*A- *trn*H และ *trn*L-*trn*F มีความยาวประมาณ 450-500 คู่เบส และ 450 คู่เบสตามลำดับ โดยมีร้อยละความสำเร็จคิดเป็น 89.7 ทั้งสองตำแหน่ง ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่เคยมีการรายงานไว้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอดังกล่าวจากพืชสกุล *Dendrobium* (Yao, *et al,.* 2009) *Pteridophytes* (Ma, *et al,.* 2010) สำหรับ *psb*A- *trn*H และพืชสกุล*Taxus* (Liu, *et al.,* 2011) สำหรับ *trn*L-*trn*F

จากตารางที่ 6 จะเห็นว่าการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอจากพืชสกุล *Dicliptera* ได้แก่ ผักโหมลาย (*Dicliptera chinensis*) และสกุล *Phlogacanthus* ได้แก่ ดีปลากั้ง (*Phlogacanthus hyssopifolia*) ไม่ประสบผลสำเร็จซึ่งอาจเกิดจากจีโนมิกดีเอ็นเอที่สกัดได้มีมีสารประกอบฟีนอลิกหรือสารโพลีแซคคาไรด์ปนเปื้อนในปริมาณที่สูงเกินไป ทำให้มีผลรบกวนต่อการเพิ่มจำนวนด้วยวิธีพีซีอาร์ (Jobes, et al., 1995)

3. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

เมื่อทำการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่า ร้อยละความสำเร็จในการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS2 มีค่า 83.0 บริเวณ *psb*A-*trn*H และ *trn*L- *trn*F มีค่า 86.5 จากตารางที่ 6 จะเห็นว่ามีพืชบางชนิดสามารถเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ แต่ไม่สามารถอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ เช่น ตำแหน่ง ITS2 ของเหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus*) และ ลิ้นงูเห่า (*Clinacanthus siamensis*) ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากผลผลิตพีซีอาร์ที่ใช้เป็นแม่แบบในการอ่านลำดับเบสมีความบริสุทธิ์ไม่เพียงพอ อันเนื่องมาจากจีโนมิกดีเอ็นเอมีการปนเปื้อน หรือมีความไม่จำเพาะของไพรเมอร์กับจีโนมิกดีเอ็นเอของพืชชนิดดังกล่าว ทำให้ผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้มีมากกว่าหนึ่งชนิด เมื่ออ่านลำดับนิวคลีโอไทด์จึงได้ลักษณะของโครมาโตแกรมที่ซ้อนกันจนไม่สามารถอ่านค่าได้

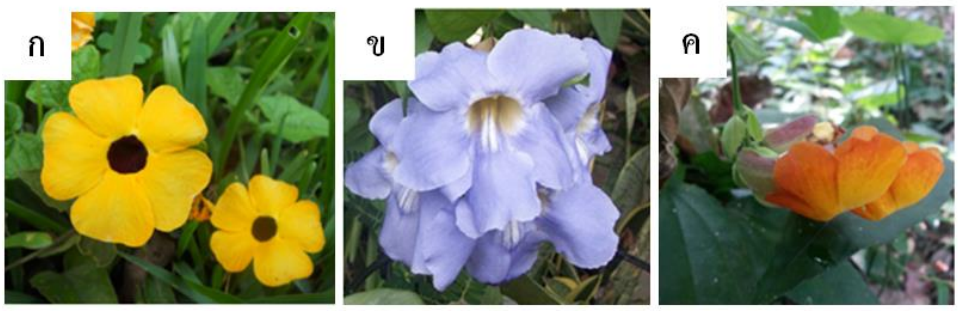
ในการศึกษานี้มุ่งเน้นเพื่อจะหาตำแหน่งดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สามารถแสดงความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดได้มากที่สุด เพื่อใช้ในการระบุชนิดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ ดังนั้นในการวิเคราะห์จึงต้องเลือกดีเอ็นเอบาร์โค้ดบริเวณที่แสดงความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของพืชต่างชนิดกันสูงที่สุด ในงานวิจัยจึงใช้การคำนวณหา K2P distance ซึ่งคำนวณจากจำนวนนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างเทียบกับจำนวนนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด โดยค่า K2P distance จะมีค่าระหว่าง 0-1 ($0<K2P\leq1$) ซึ่งค่า K2P distance ที่มากที่สุดจะเหมาะสมสำหรับใช้ในการระบุชนิดเนื่องจากมีความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดสูง และในงานวิจัยนี้ต้องการศึกษาความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถระบุชนิดได้ดีที่สุด จึงเลือกศึกษาพืชที่อยู่ในสกุลเดียวกันเนื่องจากมีความใกล้เคียงทางลักษณะทางสัณฐานวิทยามากที่สุด และเลือกพืชสกุลที่มีจำนวนตัวอย่างมากกว่า 4 ชนิด

ขึ้นไป เพื่อเป็นตัวแทนในการศึกษาได้ดี ได้แก่ 1) พืชสกุล *Barleria* 5 ชนิด คือ อังกาบ(*Barleria cristata*), เสลดพังพอน (*B. lupulina*), อังกาบหนู (*B. prionitis*), อังกาบแดง (*B. repens*) และสังกรณี (*B. strigosa*) ซึ่งมีค่าเฉลี่ย K2P distance ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F เท่ากับ 0.516, 0.176 และ 0.099 ตามลำดับ 2) พืชสกุล *Justicia 4* ชนิด คือ ตรีชวา (*Justicia betonica*), ราตรีสีชมพู (*J. Candicans*), สันพร้ามอญ (*J. gendarussa*) และ กระดูกไก่ดำ (*J. valida* var. *glandulosa*) ซึ่งมีค่าเฉลี่ย K2P distance ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F เท่ากับ 0.516, 0.176 และ 0.099 ตามลำดับ 3) พืชสกุล *Thunbergia* 8 ชนิด ได้แก่ แววตา (*Thunbergia alata*), หนามแน่แดง (*T. coccinea*), รางจืดต้นภูคา (*T. colpifera*), ช้องนาง (*T. erecta*), หนามแนขาว (*T. fragrans*), สร้อยอินทนิล (*T. grandiflora*), น้ำแน่ดง (*T. hossei*) และ รางจืด (*T. laurifolia*) ซึ่งมีค่าเฉลี่ย K2P distance ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F เท่ากับ 0.121, 0.088 และ 0.054 ตามลำดับ ซึ่งจากค่าเฉลี่ย K2P distance ของพืชทั้ง 3 สกุล จะเห็นว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 มีค่าสูงที่สุด แสดงว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 เป็นบริเวณที่มีความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์มากที่สุด และเหมาะสมในการใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ ซึ่งสนับสนุนงานวิจัยก่อนหน้าที่ได้ศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชวงศ์ Asteraceae จำนวนมากกว่า 2,315 ชนิด 494 สกุล โดย ITS2 มีความสามารถในการระบุชนิดสูงสุดถึงร้อยละ 97.4 (Gao, et al., 2010[a]) รวมถึงพืชวงศ์ Fabaceae จำนวน 1126 ชนิด 196 สกุลที่เลือกใช้ดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 ในการแยกความแตกต่างได้มากถึงร้อยละ 80 ในระดับชนิด และร้อยละ 100 ในระดับสกุล (Gao, et al., 2010[b]) นอกจากนั้นในการศึกษาในพืชสมุนไพรจากหลายวงศ์จำนวน 4,800 ชนิด 753 สกุล ได้เสนอให้ ITS2 เหมาะสมเป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชสมุนไพร เนื่องจากสามารถบอกความแตกต่างในระดับชนิดได้ถึงร้อยละ 92.7 ซึ่งดีกว่าดีเอ็นเอตำแหน่งอื่น (Chen, et al., 2010)

แม้ว่าค่าเฉลี่ย K2P distance โดยรวมของ ITS2 จะมากที่สุดแต่เมื่อพิจารณาข้อมูลจากตารางที่ 9 และ10 จะพบว่าในคู่ของ *Justicia betonica* กับ *J. valida var. glandulosa* ในตำแหน่ง *psb*A- *trn*H มีค่า K2P distance เท่ากับ 0.260 ซึ่งสูงกว่าของตำแหน่ง ITS2 ที่มีค่าเพียง 0.249 และ ในพืชสกุล *Thunbergia* พบว่าในบางคู่ *psb*A- *trn*H และ *trn*L-*trn*F ให้ค่า K2P distance ที่มากกว่า ITS2 แสดงให้เห็นว่า ITS2 ไม่ได้แสดงความแตกต่างที่สูงที่สุดสำหรับพืชทุกชนิดในวงศ์เหงือกปลาหมอ อย่างไรก็ตามดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS2 ก็มีความสามารถในการจำแนกชนิดมากกว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง *trn*L-*trn*F ที่ไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่าง *Thunbergia coccinea* (แววตา) กับ *T. grandiflora* (สร้อยอินทนิล) *หรือ T. hossei* (น้ำแน่ดง) ทั้งที่พืชทั้ง 3 ชนิดมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน (รูปที่ 23) ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยก่อนหน้าที่ได้มี

การใช้ดีเอ็นเอตำแหน่ง *trn*L-*trn*F ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ (McDade & Moody, 1999; McDade, et al., 2005)

จากข้อมูลทั้งหมดจะเห็นได้ว่าดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 เพียงตำแหน่งเดียวสามารถใช้ในการระบุชนิดพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยได้ดี แต่เพื่อความความถูกต้องและแม่นยำในการระบุชนิดควรจะใช้ตำแหน่งดีเอ็นเอที่มากกว่าหนึ่งตำแหน่งร่วมกัน ซึ่งกลุ่ม CBOL Plant Working Group ได้รวบรวมข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดตำแหน่งต่างๆในฐานข้อมูลออนไลน์ และทำการวิเคราะห์ความแม่นยำในการระบุชนิดโดยใช้ดีเอ็นเอ 1 ถึง 3 ตำแหน่ง พบว่าจำนวนตำแหน่งดีเอ็นเอหลายตำแหน่งร่วมกันเพิ่มขึ้นจะเพิ่มความสามารถในการระบุชนิดให้สูงขึ้นด้วย (CBOL Plant Working Group, 2009) ด้วยเหตุผลดังกล่าวงานวิจัยนี้จึงเสนอให้ใช้ดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2 และ *psb*A-*trn*H intergenic spacer สำหรับการระบุชนิดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย



รูปที่ 23 การเปรียบเทียบสัณฐานวิทยาของพืชสกุล *Thunbergia* ที่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน
ก) *Thunbergia coccinea* (แววตา) ข) *T. grandiflora* (สร้อยอินทนิล) และ ค) *T. hossei* (น้ำแน่ดง)

4. การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการพิสูจน์เอกลักษณ์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืดในท้องตลาด

ในการศึกษานี้เลือกผลิตภัณฑ์สมุนไพรรางจืด (*T. laurifolia*) ในท้องตลาด (จากร้านขายยาในจังหวัดนครปฐม) มาใช้เป็นตัวแทนในการตรวจสอบเนื่องจากจากการศึกษาข้างต้นสามารถจัดเก็บข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F intergenic spacers ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในสกุล *Thunbergia* ได้ครบสมบูรณ์ทั้ง 8 ชนิด ซึ่งเป็นสกุลที่มีจำนวนข้อมูลมากที่สุด โดยตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์คือ ใบสด และใบแห้ง ของต้นรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) จำนวน 5 ตัวอย่าง โดย ตัวอย่างทั้งหมดสามารถสกัดและเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยวิธีพีซีอาร์ ด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะของดีเอ็นเอทั้ง 3 บริเวณ คือ ITS2, *psb*A- *trn*H และ *trn*L-*trn*F รวมถึงการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ได้อย่างครบถ้วนและนำเอาลำดับนิว-คลีโอไทด์มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Clustal W เทียบกับฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของรางจืดที่ได้จัดทำขึ้น พบว่าดีเอ็นเอทั้ง 3 ตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ทั้ง 5 ตัวอย่าง มีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลถึงร้อยละ 100 แสดงว่าตัวอย่างที่นำมาทดสอบทั้ง 5 ตัวอย่างนั้นเป็นผลิตภัณฑ์รางจืดจริง และสามารถยืนยันได้ว่าดีเอ็นบาร์โค้ดที่จัดทำขึ้นสามารถใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ผลิต-ภัณฑ์พืชสมุนไพร (รางจืด) ได้

สรุปผลที่ได้จากการวิจัย

1. สามารถเก็บรวบรวมตัวอย่าง ระบุชนิด และจัดทำพรรณไม้อ้างอิงพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทยได้จำนวน 24 สกุล 58 ชนิด
2. สามารถจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ internal transcribed spacer 2 (ITS2), *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F intergenic spacers และจัดเก็บไว้ในฐานข้อมูล GenBank
3. จากผลการศึกษาพบว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่เหมาะสมที่สุดในการระบุชนิดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอที่พบในประเทศไทย คือ ตำแหน่ง ITS2 แต่มีข้อเสนอแนะว่าอาจใช้หลายตำแหน่งร่วมกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการระบุชนิดมากขึ้น
4. สามารถประยุกต์ใช้ฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สร้างขึ้นในการพิสูจนเอกลักษณ์ผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรรางจืด (*Thunbergia laurifolia*) ในท้องตลาดได้

ข้อเสนอแนะ

1) การเก็บตัวอย่างและการพิสูจน์เอกลักษณ์พืช ต้องมีการศึกษาวิธีการเก็บพรรณไม้อ้างอิงเพื่อให้ได้ตัวอย่างพรรณไม้ที่สมบูรณ์และถูกต้องที่สุดและหากไม่ทราบชนิดพรรณไม้ที่ถูกต้องสามารถสอบถามได้ที่สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืชกรมป่าไม้ เพื่อให้เกิดความถูกต้องที่สุด

2) การสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอควรมีลักษณะที่สดใหม่เพื่อให้ได้คุณภาพดีเอ็นเอที่ดีที่สุดและหากตัวอย่างใบมีขนจำนวนมากควรจะใช้ปริมาณตัวอย่างเริ่มต้นเพิ่มขึ้นเพื่อให้ความเข้มข้นของจีโนมิกดีเอ็นเอเพียงพอต่อการศึกษาต่อไปและหากตัวอย่างพืชมียางควรกำจัดยางด้วยการแช่น้ำสะอาดจะช่วยลดปริมาณยางได้

3) การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อทำฐานข้อมูลควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างพืชให้มากกว่า 3 ตัวอย่าง และควรเก็บจากหลายภูมิภาคเพื่อให้เกิดความแม่นยำและถูกต้องที่สุด

มหาวิทยาลัยศิลปากร

รายการอ้างอิง

H focus เจาะลึกระบบสุขภาพ. (2557). **สปสช.ขยายรพ.สต.จ่ายยาสมุนไพรเพิ่มเป็น 10 รายการ.** เข้าถึงเมื่อ 21 เมษายน. เข้าถึงได้จาก http://www.hfocus.org/content/2013/03/2536.

โชติอนันต์ และคณะ. (2550). **รักษาโรคด้วยสมุนไพรใกล้ตัว.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: The Knowledge Center.

ก่องกานดา ชยามฤต. (2541). **คู่มือจำแนกพรรณไม้.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: บริษัท ไดมอนด์ พริ้นติ้ง จำกัด.

ก่องกานดา ชยามฤต. (2550). **ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้ เล่ม 1.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช.

คณะกรรมการระบบยาแห่งชาติ. (2556). **ประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติเรื่องบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2556 ประกาศ ณ วันที่ 7 สิงหาคม พ.ศ.2556.** เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม. เข้าถึงได้จาก chrome-extension://oemmndcbldboiebfnladdacbdfmadadm/http://www.rayongfda.org/open.php?f=News85.pdf.

ณัฏฐิญา ค้าผล คัคนางค์ โตสงวน มนรัตม์ ถาวรเจริญทรัพย์ เนติ สุขสมบูรณ์ วันทนีย์ กุลเพ็ง และศรเพ็ญ ตันติเวสส. (2554). **รายงานวิจัย ความคิดเห็นของบุคลากรสาธารณสุขต่อยาจากสมุนไพรและนโยบายการส่งเสริมการใช้ยาจากสมุนไพรในสถานบริการสาธารณสุข.** นนทบุรี: สำนักงานกองทุนสนับสุนการสร้างเสริมสุขภาพ (สสส.) สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข.

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และนงลักษณ์ เรืองวิเศษ. (2551). **วิเคราะห์ วิจัย คุณภาพเครื่องยาไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: คอนเซ็พท์ เมดิคัส.

บุศบรรณ ณ สงขลา. (2525). **สมุนไพร ตอนที่ 1.** กรุงเทพฯ: หจก. ฟันนี่พับลิชชิ่ง.

ประชีพ ชูพันธ์. (2541). **ทรัพยากรพันธุ์พืชเพื่อการอนุรักษ์.** กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ตระกูลไทย.

ภัสรา ชวประดิษฐ์. (2558). **สถานการณ์การผลิตและการตลาดพืชสมุนไพร.** เข้าถึงเมื่อ 26 พฤศจิกายน. เข้าถึงได้จาก http://www.agriman.doae.go.th/home/news2/JOB/31858-032.pdf.

มนตรี ศุภาพร และธวัชชัย สันติสุข. (2546). **พรรณไม้สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 7**. กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์.

ลิขิต เทอดสถีรศักดิ์. (2544[a]). **พรรณไม้สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 4.** กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์.

ลิขิต เทอดสถีรศักดิ์. (2544[b]). **พรรณไม้สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 5.** กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์.

สง่า สรรพศรี. (2541). **พรรณไม้สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 2.** กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์.

สง่า สรรพศรี. (2544). **พรรณไม้สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 3.** กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้งติ้ง เฮ้าส์.

สมพร หิรัญรามเดช. (2536). **ตำราการตรวจเอกลักษณ์พืชสมุนไพร เล่ม 5 ว่าด้วย การตรวจเอกลักษณ์ผงพืชสมุนไพร.** พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: กรุงสยามการพิมพ์.

สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน สำนักงานปลัดกระทรวง. (2540). **ยาสมุนไพร สำหรับงานสาธารณสุขมูลฐาน.** กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. (2544). **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันทน์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544.** กรุงเทพฯ: กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และ พันธุ์พืช.

สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. (2557). **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันทน์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2557.** กรุงเทพฯ: กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และ พันธุ์พืช.

Alverson, W.S., Whitlock, B.A., Nyffeler, R., Bayer, C., & Baum, D.A. (1999). "Phylogeny of the core Malvales: evidence from ndhF sequence data." **American Journal of Botany** 86, 10: 1474-1486.

Asahina, H., Shinozaki, J., Masuda, K., Morimitsu, Y., & Satake, M. (2010). "Identification of medicinal *Dendrobium* species by phylogenetic analyses using *mat*K and *rbc*L sequences." **Journal of Natural Medicines** 64, 2: 133-138.

Barrett, R.D.H., & Hebert, P.D.N. (2005). "Identifying spiders through DNA barcodes." **Canadian Journal of Zoology** 83, 3: 481-491.

Bayer, R.J., & Starr, J.R. (1998). "Tribal phylogeny of the Asteraceae based on two non-coding chloroplast sequences, the *trn*L intron and *trn*L/*trn*F intergenic spacer." **Annals of the Missouri Botanical Garden** 85, 2: 242-256.

Bortiria, E., Oha, S.-H., Jiangb, J., Baggettac, S., Grangerd, A., Weekse, C., et al. (2001). "Phylogeny and systematics of Prunus (Rosaceae) as determined by sequence analysis of ITS and thec *trn*L-*trn*F spacer DNA." **Systematic Botany** 26, 4: 797-807.

CBOL. (2009). **CBOL approves *mat*K and *rbc*L as the barcode regions for land plants**. Accessed November 16. Available from http://www.barcoding.si.edu/PDF/PlantWG/CBOL%20Decision%20%20Plant%20Barcode%20Regions.pdf.

CBOL Plant Working Group. (2009). "A DNA barcode for land plants." **Proceedings of the National Academy of Sciences** 106, 31: 12794–12797.

Changcharoen, M., Changtrakul, S., & Hongtrakul, V. (2014). "Genetic variation of the endangered species, water-onion (*Crinum thaianum*) in Thailand and plants in family Amaryllidaceae based on gene specific markers." **Thai Journal of Genetics** 7, 1: 61-68.

Chase, M.W., Soltis, D.E., Olmstead, R.G., Morgan, D., Les, D.H., Mishler, B.D., et al. (1993). "Phylogenetics of Seed Plants: An Analysis of Nucleotide Sequences

from the Plastid Gene rbcL." **Annals of the Missouri Botanical Garden** 80, 3: 528-548+550-580.

Chen, Q., Liu, Y., Liu, Z., Chen, S., & Chen, K. (2012). "DNA bacording of Verbenaceae medicinal plant by using ITS2 and psbA-trnH region." **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi** 37, 8: 1107-1113.

Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., et al. (2010). "Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species." **PLoS One** 5, 1: e8613.

Chiang, Y.-C., Chang, W.-T., Chen, M.-D., Lai, G.-H., Chen, H.-J., Chao, J., et al. (2011). "Rapid identification of the medicinal plant *Taraxacum formosanum* and distinguishing of this plant from its adulterants by ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) based DNA barcode." **African Journal of Biotechnology** 10, 24: 4838-4843.

China Plant BOL Group. (2011). "Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants." **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 108, 49: 19641–19646.

Clark, L.G., Zhang, W., & Wendel, J.F. (1995). "A phylogeny of the grass Family (Poaceae) based on *ndh*F sequence data." **Systematic Botany** 20, 4: 436-460.

Cuénoud, P., Savolainen, V., Chatrou, L.W., Powell, M., Grayer, R.J., & Chase, M.W. (2001). "Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid rbcL, atpB, and matK DNA sequences." **American Journal of Botany** 89, 1: 132-144.

eFloras. (2014). **Flora of China Vol. 19**. Accessed November 16. Available from http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=10002

Gao, T., Yao, H., Jingyuan Song, Zhu, Y., Liu, C., & Chen, S. (2010a). "Evaluating the feasibility of using candidate DNA barcodes in discriminating species of the large Asteraceae family." **BMC Evolutionary Biology** 10: 324.

Gao, T., Yao, H., Song, J., Liu, C., Zhu, Y., Ma, X., et al. (2010b). "Identification of medicinal plants in the family Fabaceae using a potential DNA barcode ITS2." **Journal of Ethnopharmacology** 130, 1: 116-121.

Hadrys, H., Balick, M., & Schierwater, B. (1992). "Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology." **Molecular Ecology** 1: 55-63.

Hall, T. (2013). **BioEdit**. Accessed January 16. Available from http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html.

Han, J.P., Song, J.Y., Liu, C., Chen, J., Qian, J., Zhu, Y.J., et al. (2010). "Identification of *Cistanche* species (Orobanchaceae) based on sequences of the plastid *psb*A-*trn*H intergenic region." **Yaoxue Xuebao** 45, 1: 126-130.

Han, J., Zhu, Y., Chen, X., Liao, B., Yao, H., Song, J., et al. (2013). "The short ITS2 sequence serves as an efficient taxonomic sequence tag in comparison with the full-length ITS." **BioMed Research International**, : doi:10.1155/2013/741476.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., & deWaard, J.R. (2003). "Biological identifications through DNA barcodes." **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences** 270, 1512: 313-321.

Hebert, P.D.N., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen, D.H., & Hallwachs, W. (2004). "Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly Astraptes fulgerator." **Proceedings of the National Academy of Sciences** 101, 41: 14812–14817.

Hollingsworth, P.M., Graham, S.W., & Little, D.P. (2011). "Choosing and Using a Plant DNA Barcode." **PLoS ONE** 6, 5: e19254. doi:10.1371/journal.pone.0019254.

International Plant Names Index. (2005). **Plant Name Query** Accessed October 20: Available from http://www.ipni.org/ipni/plantnamesearchpage.do.

Invitrogen. (2011). **PureLinkTM Quick Gel Extraction Kit For purifying DNA fragments from agarose gels** Accessed December 7. Available from https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/purelink_quick_gel_extraction kit man.pdf.

Jobes, D.V., Hurley, D.L., & Thien, L.B. (1995). "Plant DNA isolation: a method to efficiently remove polyphenolics, polysaccharides, and RNA." **International Association for Plant Taxonomy** 44, 3: 379-386.

Jukes T.H., & Cantor C.R. (1969). "Evolution of protein molecules." **Mammalian Protein Metabolism** 3: 21-132.

Kim, K.J., & Jansen, R.K. (1995). "*ndh*F sequence evolution and the major clades in the sunflower family." **PLoS ONE** 92, 22: 10379–10383.

Kimura, M. (1980). "A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences." **Journal of Molecular Evolution** 16, 2: 111-120.

Kojoma M., Kurihara K., Yamada K., Sekita S., Satake M., & Iida O. (2002). "Genetic identification of cinnamon (*Cinnamomum spp*.) based on the *trn*L-*trn*F chloroplast DNA." **Planta Medica** 68, 1: 94-96.

Kress, W.J., Wurdack, K.J., Zimmer, E.A., Weigt, L.A., & Janzen, D.H. (2005). "Use of DNA barcodes to identify flowering plants." **Proceedings of the National Academy of Sciences** 102, 23: 8369–8374.

Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., et al. (2007). "Clustal W and Clustal X version 2.0." **Bioinformatics** 23, 21: 2947-2948.

Liu, J., Möller, M., Gao, L.M., Zhang, D.Q., & Li, D.Z. (2011). "DNA barcoding for the discrimination of Eurasian yews (Taxus L., Taxaceae) and the discovery of cryptic species." **Molecular Ecology Resources** 11: 89-100.

Luo, K., Chen, S., Chen, K., Song, J., Yao, H., Ma, X., et al. (2010). "Assessment of candidate plant DNA barcodes using the Rutaceae family." **Science China Life Sciences** 53, 6: 701-708.

Ma, X.Y., Xie, C.X., Liu, C., Song, J.Y., Yao, H., Luo, K., et al. (2010). "Species identification of medicinal pteridophytes by a DNA barcode marker, the chloroplast *psb*A-*trn*H intergenic region." **Biological and Pharmaceutical Bulletin** 33, 11: 1919-1924.

Macherey Nagel. (2014). **Genomic DNA from plant User manual NucleoSpin® Plant II.** Accessed December 7, Available from http://www.mn-net.com /Portals/attachments/Redakteure_Bio/Protocols/Genomic%2 0 DNA/UMg DNA Plant_NSPlantII.pdf.

McDade, L.A., Daniel, T.F., Kiel, C.A., Vollesen, K., & Lavin, M. (2005). "Phylogenetic relationships among Acantheae (Acanthaceae): Major lineages present contra sting patterns of molecular evolution and morphological differentiation." **Systematic Botany** 30, 4: 834-862.

McDade, L.A., & Moody, M.L. (1999). "Phylogenetic relationships among Acanthaceae: evidence from noncoding *trn*L-*trn*F chloroplast DNA sequences." **American Journal of Botany** 86, 1: 70-80.

Meyer, R., Höfelein, C., Lüthy, J., & Candrian, U. (1995). "Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis: a simple method for species identification in food." **Journal of AOAC International** 78, 6: 1542-1551.

Murray, M.G., & Thompson, W.F. (1980). "Rapid isolation of high molecular weight plant DNA." **Nucleic Acids Research** 8, 19: 4321-4326.

Nagy, Z.T., Sonet, G., Glaw, F., & Vences, M. (2012). "First large-scale DNA barcoding assessment of reptiles in the biodiversity hotspot of Madagascar, Based on newly designed COI primers." **PLoS ONE** e34506.

Nyffeler, R. (2001). "Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from *trn*K/*mat*K and *trn*L-*trn*F sequences " **American Journal of Botany** 89, 2: 312-326.

Pang, X., Liu, C., Shi, L., Liu, R., Liang, D., Li, H., et al. (2012). "Utility of the *trn*H-*psb*A intergenic spacer region and its combinations as plant DNA barcodes: a meta-analysis." **PLoS ONE** 7, 11: e48833.

Savelkoul, P.H.M., Aarts, H.J.M., Haas, J.d., Dijkshoorn, L., Duim, B., Otsen, M., et al. (1999). "Amplified-Fragment Length Polymorphism Analysis: the State of an Art." **Journal of Clinical Microbiology** 37, 10: 3083-3091.

Savolainen, V., Chase, M.W., Hoot, S.B., Morton, C.M., Soltis, D.E., Bayer, C., et al. (2000). "Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid *atp*B and *rbc*L gene sequences." **Systematic Biology** 49, 2: 306-362.

Selvaraj, D., Shanmughanandhan, D., Sarma, R.K., Joseph, J.C., Srinivasan, R.V., & Ramalingam, S. (2012). "DNA barcode ITS effectively distinguishes the medicinal plant *Boerhavia diffusa* from Its adulterants." **Genomics, Proteomics & Bioinformatics** 10, 6: 364-367.

Soltis, D.E., Soltis, P.S., Chase, M.W., Mort, M.E., Albach, D.C., Zanis, M., et al. (2000). "Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, rbcL, and atpB sequences." **Botanical Journal of the Linnean Society** 133, 4: 381-461.

Sudmoon, R., Tanee, T., Wongpanich, V., Bletter, N., & Chaveerach, A. (2012). "Ethnobotany and species specific molecular markers of some medicinal sakhan (Piper, Piperaceae)." **Journal of Medicinal Plants Research** 6, 7: 1168-1175.

Sun, Z., Gao, T., Yao, H., Shi, L., Zhu, Y., & Chen, S. (2011). "Identification of *Lonicera japonica* and its Related Species Using the DNA Barcoding Method." **Planta Medica** 77, 3: 301-306.

Tezcan, M., Vlachonasios, K., Aki, C. (2010). "DNA barcoding study on *Sideritis trojana* Bornm. An endemic medicinal plant of IDA mountain, Turkey." **Fresenius Environmental Bulletin** 19, 7: 1352-1355.

The Angiosperm Phylogeny Group. (2009). "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. " **Botanical Journal of the Linnean Society** 161, 2: 105-121.

The Plant List. (2010). **Acanthaceae**. Accessed January 26. Available from http://www.theplantlist.org/.

Theodoridis, S., Stefanaki, A., Tezcan, M., Aki, C., Kokkini, S., & Vlachonasios, K.E. (2012). "DNA barcoding in native plants of the Labiatae (Lamiaceae) family from Chios Island (Greece) and the adjacent Çeşme-Karaburun Peninsula (Turkey)." **Molecular Ecology Resources** 12, 4: 620-633.

Tontiworachai, B., & Tanpanich, S. (2014). "DNA sequence analysis of ITS2 and *psb*A-*trn*H genes in *Melientha suavis* Pierre." **Khon Kaen Agriculture Journal** 42, 3: 736-740.

Walsh, B.M., & Hoot, S.B. (2001). "Phylogenetic relationships of *Capsicum* (Solanaceae) using DNA sequences from two noncoding regions: The chloroplast *atp*B**-***rbc*L spacer region and nuclear waxy introns." **International Journal of Plant Sciences** 162, 6: 1409-1418.

Wiriyakarun, S., Yodpetch, W., Komatsu, K., Zhu, S., Ruangrungsi, N., & Sukrong, S. (2013). "Discrimination of the Thai rejuvenating herbs *Pueraria candollei* (White Kwao Khruea), *Butea superba* (Red Kwao Khruea), and *Mucuna collettii* (Black Kwao Khruea) using PCR-RFLP." **Journal of Natural Medicines** 67, 3: 562-570.

World Health Organization. (1998). **Quality control methods for medicinal plant materials World Health Organization Geneva**. Geneva: World Health Organization.

Xu, G., Wang, X., Liu, C., Li, W., Wei, S., Liu, Y., et al. (2013). "Authentication of official Da-huang by sequencing and multiplex allele-specific PCR of a short maturase K gene." **Genome** 56, 2: 109-113.

Yao, H., Song, J.Y., Ma, X.Y., Liu, C., Li, Y., Xu, H.X., et al. (2009). "Identification of dendrobium species by a candidate DNA barcode sequence: the chloroplast psbA-trnH intergenic region." **Planta Medica** 75: 667–669.

Zhao, Z. (2010). "Application of microscopic techniques for the authentication of herbal medicines In: Méndez-Vilas A. & Díaz J, eds. " **Microscopy: Science, Technology, Applications and Education**: 803-812.

Zuo, Y., Chen, Z., Kondo, K., Funamoto, T., Wen, J., & Zhou, S. (2011). "DNA barcoding of *Panax* species." **Planta Medica** 77: 182-187.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก : สัณฐานวิทยาของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในงานวิจัยนี้ จำนวน 24 สกุล 58 ชนิด

1. สกุล *Acanthus*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Acanthus ebracteatus* Vahl
ชื่อท้องถิ่น : เหงือกปลาหมอ
ชื่ออื่น : แก้มหมอ จะเกร็ง อีเกร็ง
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 1 เมตร มีหนามรอบข้อ ข้อละ 4 หนาม

ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก รูปไข่ หรือรูปขนาน โคนและปลายใบแหลม ขอบใบจักหรือเรียบ มีหนามแหลม

ดอก สีขาว ออกดอกเป็นช่อที่ยอด มีใบประดับแต่ร่วงหลุดง่าย กลีบเลี้ยงมี 4 กลีบ กลีบดอกรูปปากเปิด โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอดปลายแยกเป็น 2 ปาก กลีบปากบนสั้นยาวท่ากับกลีบเลี้ยง กลีบปากล่างแผ่กว้างและโค้งลง ปลายหยักเว้าตื้น 3 หยัก เกสรเพศผู้ 4 เกสรสีชมพู

ผล แบบผลแห้งแตก มี 4 เมล็ด

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ตามป่าชายฝั่งทะเลและที่ราบลุ่มริมแม่น้ำ
ประโยชน์ทางยา

ทั้งต้น ใช้รักษาโรคนิ่วในไต รักษาโรคผิวหนัง

ใบ ใช้แก้โรคไขข้ออักเสบ (rheumatism) รักษาโรคผิวหนัง และขับน้ำเหลืองเสีย

ราก ขับเสมหะ บำรุงประสาท แก้ไอ แก้หืด

เมล็ด ขับพยาธิ และขับน้ำเหลืองเสีย

(ประชีพ, 2541; ลิขิต, 2544[a])

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF188942

รูปที่ 24 ต้นเหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus* Vahl)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข.ช่อดอก ค.ผล

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Acanthus mollis* L.

ชื่อท้องถิ่น : เหงือกปลาหมอเทศ

ชื่ออื่น : -

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 0.5 เมตร มีหนามรอบข้อ ข้อละ 4 หนาม

ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก รูปใบหอก โคนและปลายใบแหลม ขอบใบหยักเว้าลึกซี่ฟันเกือบถึงเส้นกลางใบ ปลายซี่เป็นหนามแหลม

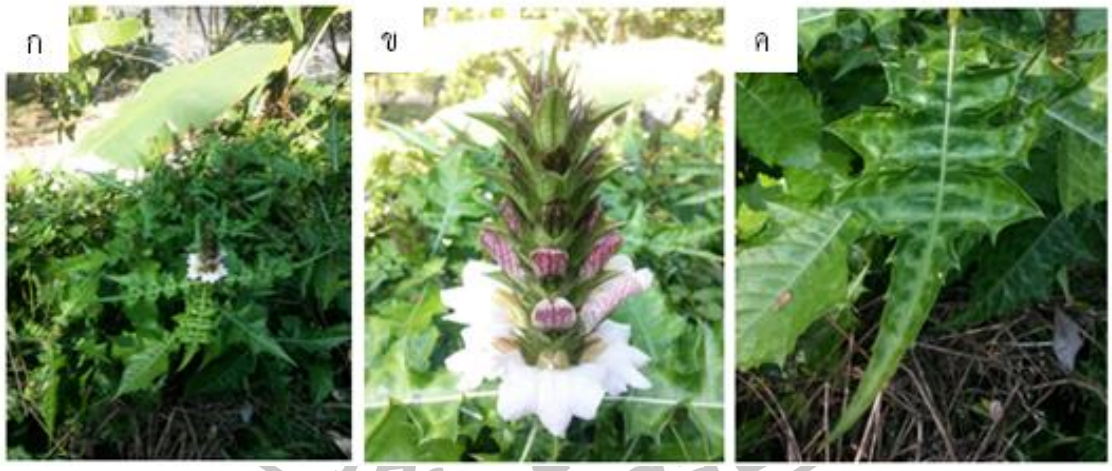
ดอก สีขาวอมชมพู ออกดอดเป็นช่อ มีเส้นสีม่วงคล้ายร่างแหทางด้านหลังกลีบดอก เกสรเพศผู้ 4 เกสร

ผล แบบผลแห้งแตก

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทางภาคเหนือ และภาคกลางของไทย

ประโยชน์ทางยา: -

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189447



รูปที่ 25 ต้นเหงือกปลาหมอเทศ (*Acanthus mollis* L.)

ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

2. สกุล *Andrographis*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees

ชื่อท้องถิ่น : ฟ้าทะลายโจร

ชื่ออื่น : หญ้ากันงู ฟ้าสาง เขยตายยายคลุม สามสิบดี เมฆทะลายฟ้า

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ล้มลุกสูง 30-70 เซนติเมตรทุกส่วนมีรสขม กิ่งเป็นใบสี่เหลี่ยม

ใบเดี่ยว แผ่นใบสีเขียมเข้มเป็นมัน

ดอกช่อ ออกที่ปลายกิ่งและซอกใบ ดอกย่อย กลีบดอกสีขาว โคนกลีบติดกัน ปลายแยก 2 ปาก ปากบนมี 3 กลีบ มีเส้นสีม่วงแดงพาดอยู่ ปากล่างมี 2 กลีบ

ผล แบบแห้งแตกเมื่อแก่เป็นสีน้ำตาล แตกได้ ภายในมีเมล็ดจำนวนมาก

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทุกภาค

ประโยชน์ทางยา

ทั้งต้น แก้ไข้ทั่ว ๆ ไป เช่น ไข้หวัด ไข้หวัดใหญ่ ระงับอาการอักเสบ พวกไอ เจ็บคอ คออักเสบ ต่อมทอนซิล หลอดลมอักเสบ ขับเสมหะ รักษาโรคผิวหนังฝี แก้ติดเชื้อ พวกทำให้ปวดท้อง ท้องเสีย บิด และแก้กระเพาะลำไส้อักเสบ เป็นยาขมเจริญอาหาร

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF188939

รูปที่ 26 ต้นฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

3. สกุล *Asystasia*

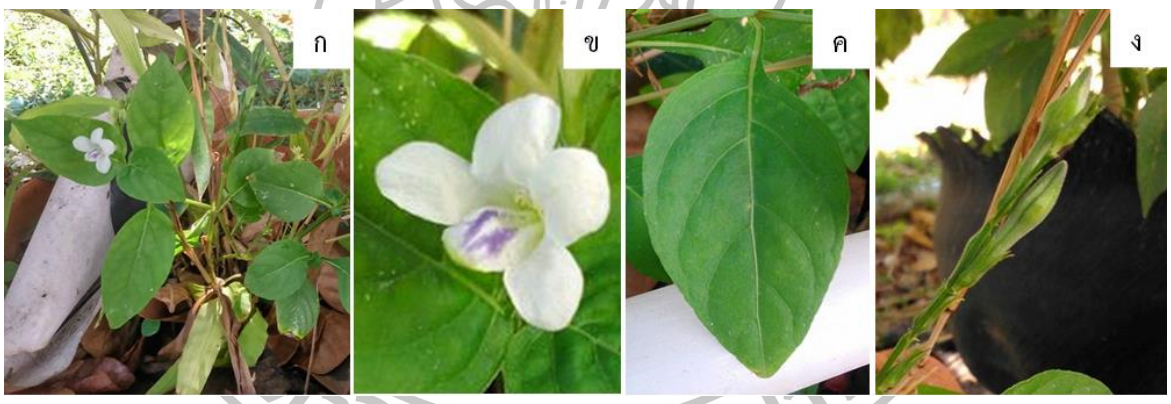
ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Asystasia gangetica* (L.) T. Anderson
ชื่อท้องถิ่น : บาหยา
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 0.3 -1.2 เมตร
ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก รูปใบไข่ โคนใบมนกว้าง ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่น
ดอก สีขาว ครีม ม่วงอ่อน หรือม่วงเข้ม ออกเป็นช่อที่ซอกใบและที่ยอด กลีบเลี้ยง 5 กลีบ โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 5 กลีบ ปลายกลีบมนกว้างขนาดเกือบเท่ากัน เกสรเพศผู้มี 4 เกสร
ผล แบบผลแห้งแตก มี 4 เมล็ด
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบกระจายอยู่ทั่วไป ปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา
ใบ คั้นกับน้ำทาแก้ปวดบวม และแก้โรคตามข้อ
ใบและดอก ต้มกินใช้เป็นยาสมานลำไส้
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189472

รูปที่ 27 ต้นบาหยา (*Asystasia gangetica* (L.) T. Anderson)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Asystasia newmorum* Nees
ชื่อท้องถิ่น : เพ็ญทิวา
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่มกึ่งเลื้อย ขนาด 30-50 เซนติเมตร
ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก รูปใบไข่ โคนใบมนกว้าง ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่น
ดอก สีขาว มีแต้มสีม่วงบริเวณด้านในกลีบล่างหนึ่งกลีบ ออกดอกเป็นช่อที่ซอกใบและที่ยอด กลีบเลี้ยง 5 กลีบ โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 5 กลีบ ปลายกลีบมนกว้าง ขนาดเกือบเท่ากัน เกสรเพศผู้มี 4 เกสร
ผล แบบผลแห้งแตก มี 4 เมล็ด
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบกระจายอยู่ทั่วไป ปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW085



รูปที่ 28 ต้นเพ็ญทิวา (*Asystasia newmorum* Nees)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่มกึ่งเลื้อย ข. ช่อดอก ค. ใบ ง. ผล

4. สกุล *Avicennia*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh.
ชื่อท้องถิ่น : แสมขาว
ชื่ออื่น : ปีปีดำ แสมทะเล
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ต้นสูง 0.5-2.0 เมตร เปลือกสีเทาปนเขียวอ่อน ล่อนเป็นสะเก็ดบาง ๆ รากหายใจคล้ายดินสอ

ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก รูปไขกว้าง โคนรูปลิ่มถึงแหลม ขอบเรียบม้วนโค้งลง

ดอก ช่อกระจุกแยกแขนง ออกที่ปลายกิ่ง สีเหลือง ผลแก่แห้งแตกตามรอยประสาน รูปทรงไข่กว้าง เบี้ยว

ผล ปลายผลแหลม พบตามที่เปิดโล่งชายฝั่งทะเลที่มีดินทราย เลนทราย

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบตามฝั่งแม่น้ำลำคลองแนวป่าชายเลนด้านในที่มีดินเลนแข็ง
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189473

รูปที่ 29 ต้นแสมขาว (*Avicennia marina* (Forssk.) Vierh.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค.ผล

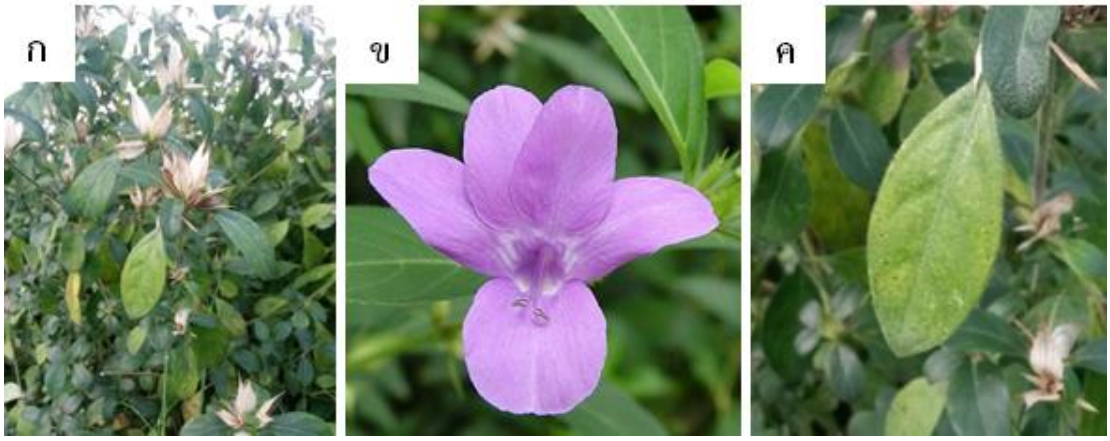
ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Avicennia officinalis* L.
ชื่อท้องถิ่น : แสมดำ
ชื่ออื่น : อาปีอาปี
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้ต้น สูง 1-2 เมตร ไม่มีพูพอน
ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก ปลายมนถึงเว้า โคนแหลมหรือมน ด้านล่างมีขนสั้นนุ่มสีเทาหนาแน่น
ช่อดอก แบบช่อกระจุกแยกแขนง สีเหลืองอมส้ม ขอบกาบหุ้มดอกเป็นชายครุย
ผล ผลแก่แห้งแตกตามรอยประสาน รูปทรงหัวใจเบี้ยว มีขนสีน้ำตาลเทาหนาแน่น
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบตามฝั่งแม่น้ำลำคลองแนวป่าชายเลนด้านในที่มีดินเลนแข็ง
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189474

รูปที่ 30 ต้นแสมดำ (*Avicennia officinalis* L.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ผล

5. สกุล *Barleria*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Barleria cristata* L.
ชื่อท้องถิ่น : อังกาบ
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 2 เมตร
ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามตั้งฉาก รูปรี ค่อนข้างยาว โคนและปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ
ดอก สีเหลือง ม่วง หรือขาว ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบและปลายกิ่ง มีใบประดับเรียวแหลม 3 ใบ ใบประดับเป็นฝอย รูปรีปลายแหลม ขอบเว้า เป็นหนามแหลม มีขนยาว เรียงซ้อนกัน กลีบเลี้ยง 2 กลีบเรียวแหลม โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 5 กลีบ เกสรเพศผู้ 2 เกสร มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน 2 เกสร
ผล แบบแห้งแตก โคนและปลายแหลม ปลายผลกว้างกว่าโคนผล มี 4เมล็ด
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทั่วประเทศ
ประโยชน์ทางยา:
ราก ปรุงเป็นยาขับปัสสาวะและฟอกโลหิตประจำเดือนแก้ประจำเดือนคั่งค้างเป็นลิ่มเป็นก้อนและเจ็บปวดเมื่อยบั้นเอว
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189455



รูปที่ 31 ต้นอังกาบ (*Barleria cristata* L.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Barleria lupulina* Lindl.

ชื่อท้องถิ่น : เสลดพังพอน

ชื่ออื่น : ชองระอา พิมเสนต้น เสลดพังพอนตัวผู้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม สูง 1-2 เมตร แตกกิ่งจำนวนมาก สีน้ำตาลอมเขียวหรือสีน้ำตาลแดง

ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับฉาก เรียงชิดกันใกล้ช่อดอก ใบรูปใบหอก ปลายใบแหลม ปลายเป็นติ่ง โคนใบเรียวสอบจรดก้านใบ ขอบใบเรียบ แผ่นใบเกลี้ยง สีเขียวเข้มหรืออมม่วง เส้นกลางใบส่วนมากมีสีแดงหรือสีชมพู ก้านใบสั้น มีหนามที่โคนหนึ่งคู่ โค้งงอ มีหนามสั้นๆ ตรง 1 อัน

ช่อดอก แบบช่อเชิงลด ออกตามปลายกิ่ง ใบประดับมีโคนสีเขียว สีน้ำตาลอมม่วงครึ่งบน หรือทั้งใบประดับมีสีแดงอมเขียวหรือสีม่วงอมน้ำตาล รูปไข่เกือบกลม ปลายเป็นติ่งแหลม กลีบเลี้ยง 4 กลีบ เรียงตรงข้ามเป็นคู่ กลีบดอกคล้ายรูปปากเปิด หลอดกลีบเรียวยาว กลีบดอก 5 กลีบ สีส้มหรือเหลือง กลีบส่วนบนส่วนใหญ่มี 4 กลีบ เรียงซ้อนแผ่ชิดกัน บานแผ่ออก ขนาดใหญ่กว่ากลีบล่าง กลีบล่างขนาดเล็ก พับงอเล็กน้อย เกสรเพศผู้ 2 เกสร

ผล แบบผลแห้งแตก รูปไข่หรือแกมรูปขอบขนาน แบน แห้งแล้วแตกเป็น 2 ซีก มี 1-2 เม็ด ในแต่ละซีก

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบมากทุกภาค

ประโยชน์ทางยา

ราก แก้ตาเหลือง หน้าเหลือง เมื่อยตัว กินข้าวไม่ได้ แก้เจ็บท้อง แก้ผิดอาหาร ถอนพิษงู พิษแมลงสัตว์กัดต่อย แก้ปวดฟัน

ใบ ถอนพิษแมลงสัตว์กัดต่อย แก้ลมพิษ รักษาเม็ดผื่นคันตามผิวหนัง แก้โรคเบาหวาน แก้โรคฝีต่างๆ รักษาโรคคางทูม แก้โรคไฟลามทุ่ง แก้ขยุ้มตีนหมา แก้โรคงูสวัด รักษาโรคเริม

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF188886

รูปที่ 32 ต้นเสลดพังพอน (*Barleria lupulina* Lindl.)

ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Barleria prionitis* L.

ชื่อท้องถิ่น : อังกาบหนู

ชื่ออื่น : มันไก่ เขี้ยวเนื้อ เขี้ยวแก้ว

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม สูง 1-1.5 เมตร แตกกิ่งจำนวนมาก ลำต้นเกลี้ยง มีหนามยาวรอบข้อ

ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปรี รูปไข่ หรือรูปขอบขนาน ปลายใบแหลม ปลายเป็นติ่งแหลม โคนใบเรียว สอบจรดก้านใบ ขอบใบมีขนแข็ง แผ่นใบมีขนสั้นนุ่มกระจายด้านล่าง ใบตามช่อดอกมีขนาดเล็กกว่าตามลำต้น

ดอก ดอกออกเป็นกระจุกตามซอกใบใกล้ปลายกิ่ง ออกหนาแน่นช่วงปลายกิ่งคล้ายช่อเชิงลดสั้นๆ ใบประดับรูปแถบ ใบประดับย่อยเป็นหนาม ติดทน กลีบเลี้ยง 4 กลีบ เรียงซ้อนเหลื่อม ขนาดไม่เท่ากัน คู่นอกมีขนาดใหญ่กว่า ปลายเป็นติ่งหนาม กลีบคู่ในรูปไข่ ปลายแหลมยาว กลีบดอกคล้ายรูปปากเปิด กลีบดอก 5 กลีบ สีส้ม กลีบบน 4 กลีบ ยาวเท่าๆ หลอดกลีบ เรียงซ้อนเหลื่อม กลีบล่างขนาดเล็กกว่าเล็กน้อย เกสรเพศผู้ 2 เกสร ติดที่โคนกลีบดอก ยื่นเลยปากหลอดกลีบเล็กน้อย

ผล แบบผลแห้งแตก รูปไข่แกมรูปขอบ ปลายเป็นจงอย เมล็ดแบน รูปคล้ายรูปไข่ มีขนคล้ายไหมแบนราบ

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทั่วประเทศ

ประโยชน์ทางยา

ใบ ใช้แก้งูกัด เคี้ยวแก้ปวดฟัน

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189452

รูปที่ 33 ต้นอังกาบหนู (*Barleria prionitis* L.)

ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Barleria repens* Nees
ชื่อท้องถิ่น : อังกาบแดง
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 20 เซนติเมตร
ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก รูปไข่ โดคนและปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ
ดอก ดอกเดี่ยวสีส้มแดง ออกตามซอกใบใกล้ปลายกิ่ง โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดรูปปากแตร ปลายแยก 5 กลีบ ขนาดไม่เท่ากัน ขอบกลีบเรียบ กลีบบางและย่นเล็กน้อย
ผล แบบผลแห้งแตก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW083

รูปที่ 34 ต้นอังกาบแดง (*Barleria repens* Nees)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่มและดอก ข. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Barleria strigosa* Willd.

ชื่อท้องถิ่น : สังกรณี

ชื่ออื่น : -

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 0.5 เมตร

ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปรี ค่อนข้างยาว โคนสอบเรียวเข้าหาก้านใบ ปลายใบแหลมเป็นติ่ง

ดอก สีฟ้าอมม่วง ออกเป็นช่อตามซอกใบ ใบประดับรูปรีหรือกลม มีขนหุ้มดอก กลีบเลี้ยง 4 กลีบ โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยก 5 กลีบ ด้านบน 4 กลีบ ด้านล่าง 1 กลีบ เกสรเพศผู้ 4 เกสร ยาว 2 เกสร สั้น 2 เกสร คู่สั้นมีขนาดสั้นมากและไม่สมบูรณ์

ผล แบบผลแห้งแตก มี 4 เมล็ด

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบขึ้นตามป่าดิบแล้งและป่าเบญจพรรณทางภาคเหนือ

ประโยชน์ทางยา :

ทั้งต้น ต้มน้ำดื่ม แก้อาการไอเป็นเลือด บำรุงกำลัง ต้มน้ำดื่มเป็นยาบำรุงกำลัง ดองเหล้าบำรุงกำหนัด

ราก รสขม ใช้ปรุงเป็นยาแก้ร้อนในกระหายน้ำ ดับพิษไข้ทั้งปวง ถอนพิษไข้กาฬ ลดความร้อนในร่างกาย แก้ไอ แก้โลหิตกำเดา

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189456

รูปที่ 35 ต้นสังกรณี (*Barleria strigosa* Willd.)

ก.-ข. ช่อดอก ค. ใบ

6. สกุล *Clinacanthus*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau
ชื่อท้องถิ่น : พญาปล้องทอง
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่มรอเลื้อย ขนาด 0.5 เมตร
ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปขอบขนานหรือรูปใบหอก โคนใบมน ปลายใบเรียวแหลม
ดอก สีแดง ออกเป็นช่อที่ยอด กลีบเลี้ยงมีตุ่มขนเหนียวๆกลีบดอกรูปปากเปิด โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 2 กลีบ กลีบปากล่างปลายแยกเป็น 3 กลีบ เกสรเพศผู้ 2 เกสร
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ขึ้นตามชายป่าดิบชื้นทางภาคเหนือ
ประโยชน์ทางยา :
ทั้งต้น ใช้ถอนพิษ โดยเฉพาะพิษแมลงสัตว์กัดต่อย ตะขาบ แมลงป่อง รักษาอาการอักเสบ งูสวัด ลมพิษ แผลน้ำร้อนลวก
ใบ นำมาสกัดทำทิงเจอร์และกรีเซอรีน ใช้รักษาแผลผิวหนังชนิดเริ่ม Herpes และรักษาแผลร้อนในในปาก Apthous ตับพิษร้อน แก้แผลน้ำร้อนลวก
ราก ปรุงเป็นยาขับปัสสาวะ ขับประจำเดือน แก้ปวดเมื่อยบั้นเอว
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW040

รูปที่ 36 ต้นพญาปล้องทอง (*Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Clinacanthus siamensis* Bremek.
ชื่อท้องถิ่น : ลิ้นงูเห่า
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่มรอเลื้อย ขนาด 0.5 เมตร
ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปขอบขนานหรือรูปใบหอก โคนใบมน ปลายใบเรียวแหลม
ดอก สีแดง ออกเป็นช่อที่ยอด กลีบเลี้ยงมีตุ่มขนเหนียวๆกลีบดอกรูปปากเปิด โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 2 กลีบ กลีบปากล่างปลายแยกเป็น 3 กลีบ เกสรเพศผู้ 2 เกสร
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ขึ้นตามชายป่าดิบชื้นทางภาคเหนือ
ประโยชน์ทางยา :
ใบ ตำขยี้ ทาหรือพอก แก้พิษร้อนอักเสบ แก้ปวดฝี ถอนพิษแมลงสัตว์กัดต่อย รากตำพอก แก้พิษตะขาบและแมงป่อง
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW039

รูปที่ 37 ต้นลิ้นงูเห่า (*Clinacanthus siamensis* Bremek.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

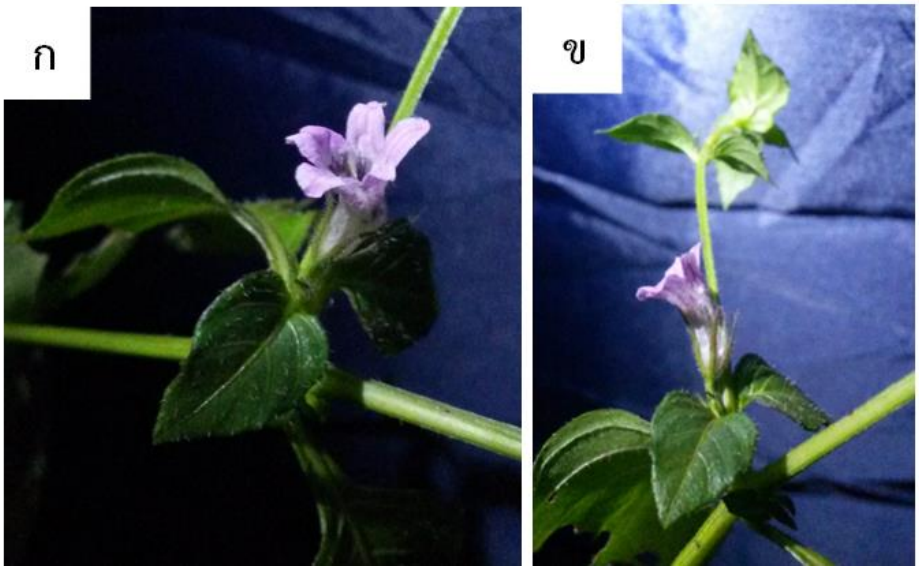
7. สกุล *Crossandra*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Crossandra infundibuliformis* (L.) Nees
ชื่อท้องถิ่น : อังกาบสีปูน
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่ม ขนาด 0.5-1 เมตร
ใบเดี่ยว ออกเรียงตรงข้าม ปลายใบแหลม โคนสอบเรียวเข้าหาก้านใบ
ดอก ออกดอกเป็นช่อ ที่ปลายยอด กลีบดอกสีเหลือง โคนดอกเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 5 กลีบ
ผล แบบผลแห้งแตก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา :
ต้น ใช้ต้มน้ำดื่มบำรุงกำลัง
ราก ใช้ปรุงเป็นยารับประทานถอนพิษไข้ แก้ร้อนในกระหายน้ำ
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189471

รูปที่ 38 ต้นอังกาบสีปูน (*Crossandra infundibuliformis* Nees)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

8. สกุล *Dicliptera*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dicliptera chinensis* (L.) Juss.
ชื่อท้องถิ่น : ผักโหมลาย
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่มกึ่งล้มลุก ขนาด 0.5 เมตร
ใบเดี่ยว ออกเรียงตรงข้าม ปลายใบแหลม โคนสอบเรียวเข้าหาก้านใบ
ดอก เดี่ยวออกดอกที่ซอกใบ กลีบดอกสีม่วง โคนดอกเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 5 กลีบ
ผล -
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทางภาคเหนือของประเทศไทย
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW012



รูปที่ 39 ต้นผักโหมลาย (*Dicliptera chinensis* (L.) Juss.)
ก.-ข. ดอกและใบ

9. สกุล *Eranthemum*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Eranthemum tetragonum* A. Dietr ex Nees
ชื่อท้องถิ่น : จ้าห้อม
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่ม ขนาด 0.5 เมตร
ใบเดี่ยว ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก รูปรี โคนและปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ
ดอก ออกเป็นช่อที่ยอดมีสีม่วงอ่อน กลีบดอกรูปปากเปิด โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอดปลายแยกเป็น 5 กลีบ กลีบเลี้ยงเป็นกาบหุ้มมีขนปกคลุม
ผล แบบผลแห้งแตก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทางภาคเหนือและภาคกลางของไทย
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189451

รูปที่ 40 ต้นจ้าห้อม (*Eranthemum tetragonum* A. Dietr ex Nees)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ดอก ค. ดอกและใบ

10. สกุล *Graptophyllum*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Graptophyllum pictum* (L.) Griff.
ชื่อท้องถิ่น : ใบเงิน
ชื่ออื่น : ใบทอง ใบนาค
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 1-2 เมตร

ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก รูปรี โคนและปลายใบแหลม ขอบใบเป็นคลื่นใบมักมีด่างและมีหลายสี

ดอก ออกเป็นช่อที่ยอด มีสีม่วงแดง กลีบเลี้ยง 5 กลีบ กลีบดอกรูปปากเปิด โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอดปลายแยกเป็นปาก 2 ปาก กลีบปากบนตั้งขึ้น ปลายแยกเป็น 2 กลีบ กลีบปากล่างห้อยลง ปลายแยกเป็น 3 กลีบ เกสรเพศผู้ 4 เกสร คู่สั้นขนาดเล็กและไม่สมบูรณ์

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา :
ราก ถอนพิษ แก้โรคตับ แก้เสมหะ รักษาโรคผิวหนัง ปอดบวม
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189470

รูปที่ 41 ต้นใบเงิน (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.)
ก. ช่อดอก ข. ใบ

11. สกุล *Hemigraphis*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Hemigraphis repanda* Hallier f.
ชื่อท้องถิ่น : ริบบิ้นดำ
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้ล้มลุก ลำต้นติดดิน
ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปขอบขนาน โคนใบเรียว ปลายใบแหลม ขอบใบหยักเป็นคลื่น หลังใบเป็นสีม่วงเข้ม
ดอก ดอกเดี่ยวสีขาว โคนดอกเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 5 กลีบ
ผล แบบผลแห้งแตก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW081

รูปที่ 42 ต้นริบบิ้นดำ (*Hemigraphis repanda* Hallier f.)
ก. ลักษณะวิสัยและดอก ข. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Hemigraphis reptans* T. Anderson ex Hemsl.
ชื่อท้องถิ่น : หญ้าต้นติด
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้ล้มลุก ลำต้นติดดิน
ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปไข่หรือขอบขนาน โคนใบมนจนถึงแหลม ปลายใบแหลม ขอบใบหยัก หลังใบมีสีม่วงเข้ม
ดอก ดอกเดี่ยว กลีบดอกสีขาว โคนดอกเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 5 กลีบ
ผล แบบผลแห้งแตก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทั่วประเทศไทย
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189460

รูปที่ 43 ต้นหญ้าต้นติด (*Hemigraphis reptans* T. Anderson ex Hemsl.)
ก. ลักษณะวิสัยและดอก ข. ใบ

12. สกุล *Justicia*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Justicia betonica* L.
ชื่อท้องถิ่น : ตรีชวา
ชื่ออื่น : หางแมว
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่มเตี้ย ขนาด 0.5 เมตร แตกกิ่งมาก
ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามตามข้อลำต้น รูปมนรี โคนและปลายใบแหลม
ดอก สีเหลืองอ่อน ออกเป็นช่อที่ปลายยอด ลักษณะเป็นหลอดเล็กๆ ติดอยู่บนก้านช่อดอก มีใบประดับสีขาวหุ้ม ใบประดับรูปหัวใจและมีเส้นสีเขียวเป็นฝอยอยู่ทั่ว
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา
ใบ ดับพิษโลหิต สมานแผล แก้ริดสีดวงทวาร ขับปัสสาวะ
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189468

รูปที่ 44 ต้นตรีชวา (*Justicia betonica* L.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

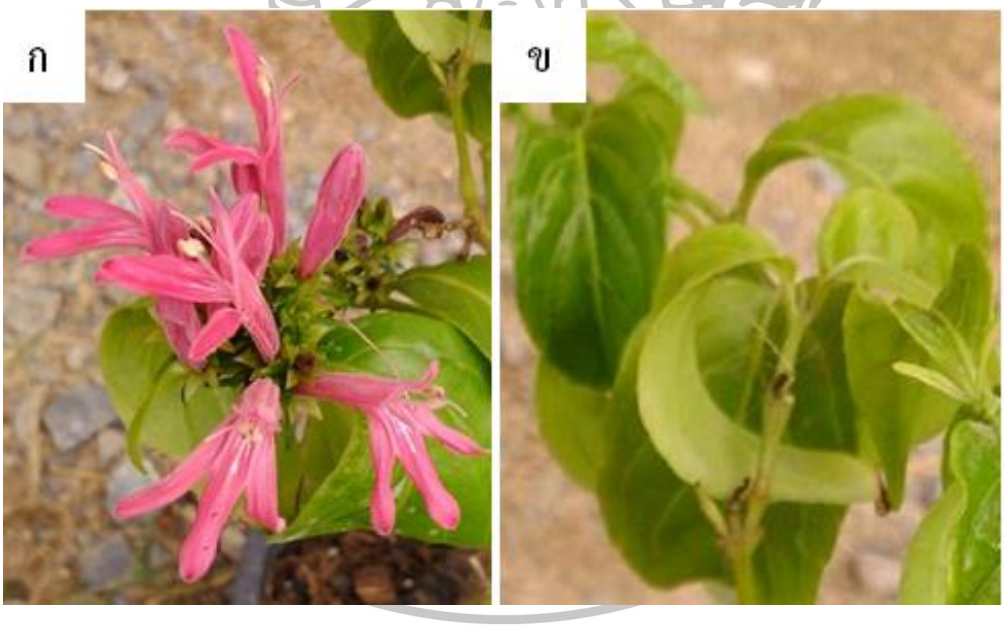
ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Justicia candicans* (Nees) L. D. Benson
ชื่อท้องถิ่น : ราตรีสีชมพู
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 0.5 เมตร

ใบ ใบเดี่ยวเรียงตรงข้ามที่ข้อ รูปใบหอก โคนและปลายใบแหลม ขอบใบเป็นสันเล็กน้อย แผ่นใบบาง

ดอก ดอกช่อกลีบดอกสีชมพู ออกตรงซอกใบและปลายกิ่ง เป็นกลุ่มทยอยบาน โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นรูปปากแตร ปลายแยกเป็น 4 กลีบ 3 กลีบล่างโค้งลง

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทุกภาค
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189464



รูปที่ 45 ต้นราตรีสีชมพู (*Justicia candicans* (Nees) L. D. Benson)
ก. ช่อดอก ข. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Justicia diffusa* Wild.
ชื่อท้องถิ่น : เขียงพร้า
ชื่ออื่น : กระดูกไก่น้อย
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้ล้มลุก ขนาด 5-10 เซนติเมตร
ใบ ใบเดี่ยวเรียงตรงกันข้าม ใบรูปไข่ โคนใบและปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ
ดอก ดอกช่อ กลีบดอกสีม่วง โคนดอกเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 2 ส่วน กลีบบน และล่าง กลีบเลี้ยงอัดแน่นเป็นกระจุก
ผล -
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทางภาคเหนือของไทยที่ระดับความสูง 1,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189443

รูปที่ 46 ต้นเขียงพร้า (*Justicia diffusa* Wild.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้ล้มลุกและช่อดอก

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Justicia gendarussa* Burm. f.

ชื่อท้องถิ่น : สันพร้ามอญ ขาไก่ดำ

ชื่ออื่น : เฉียงพร้าบ้าน เฉียงพร้ามอญ ผีมอญ สันพร้ามอญ เฉียงพร้าม่าน สำมะงาจีน เฉียงพร้ากระดูกดำ ปองดำ กุลาดำ บัวลาดำ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่มเล็ก มีลำต้นสูงประมาณ 0.9-1 เมตร ลำต้น และกิ่งเป็นปล้องข้อ คล้ายกระดูกไก่ ข้อลำต้น ใบ กิ่งก้าน มีสีแดงเรื่อ

ใบ มีลักษณะเป็นรูปหอกโคนและปลายแหลม ริมขอบใบเรียบไม่มีหยัก เส้นกลางใบสีแดง ก้านใบสั้น

ดอก ออกเป็นช่อบริเวณปลายดอก ลักษณะของดอก กลีบดอกมีสีขาวอมเขียว แกมชมพู โคนกลีบดอกติดกัน ส่วนปลายกลีบแยกเป็นกลีบล่างบน ลักษณะกลีบล่างโค้งงอนเหมือนช้อน ข้างในหลอดดอกมีเกสรตัวผู้ 2 เกสร ซึ่งจะโผล่พ้นหลอดออกมา

ผล แบบผลแห้งแตก

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : เป็นพรรณไม้ที่มักขึ้นเองตามลำธารในป่าดงดิบ

ประโยชน์ทางยา

ใบ นำใบสดมาตำและเอาน้ำมาดื่ม แก้ปวดศีรษะ โรคหืด ไอ อัมพาต นำมาตำคั้นน้ำมาผสมกับเหล้ากิน แก้ไอ อาเจียนเป็นเลือด ช้ำใน ขับปัสสาวะ บวมตามข้อ กากของใบนำมาพอกแผลที่พิษอสรพิษขบกัด ใบนำมาต้มและดื่ม แก้ช้ำ แก้ไข้ ลดความร้อน ขับเลือดข้นในร่างกายให้กระจาย

รากและใบ ตำผสมกันแล้วนำมาพอกแผล ถอนพิษ นำมาต้มใช้อาบน้ำแก้โรคผิวหนัง ผื่นคัน

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189463

รูปที่ 47 ต้นสันพร้ามอญ (*Justicia gendarussa* Burm. f.)
ก. ช่อดอก ข. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Justicia valida* Ridl. var. *glandulosa* Fisch.

ชื่อท้องถิ่น : กระดูกไก่ดำ

ชื่ออื่น : -

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 0.5-1 เมตร

ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม รูปหอกโคนและปลายแหลม ริมขอบใบเรียบไม่มีหยัก เส้นกลางใบสีแดง

ดอกช่อ ออกที่ปลายดอก กลีบดอกมีสีขาวอมเขียว แกมชมพู โคนกลีบดอกติดกัน ส่วนปลายกลีบแยกเป็นกลีบล่างบน ลักษณะกลีบล่างโค้งงอนเหมือนช้อน ข้างในหลอดดอกมีเกสรตัวผู้ 2 เกสร

ผล แบบผลแห้งแตก

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบปลูกเป็นไม้ประดับ

ประโยชน์ทางยา :

ใบ รสเย็น แก้เลือดคั่งค้างเป็นลิ่ม แก้ปวดศีรษะ แก้ไอ แก้อาเจียนเป็นเลือด แก้ช้ำใน แก้ปวดข้อ แก้พิษสัตว์กัดต่อย แก้โรคผิวหนัง

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW080

รูปที่ 48 ต้นกระดูกไก่ดำ (*Justicia valida* Ridl. var. *glandulosa* Fisch.)

ก. ช่อดอก ข. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Justicia striata* (Klotzsch) Bullock
ชื่อท้องถิ่น : -
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 0.5 เมตร

ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม ใบรูปขอบขนานแกมรูปไข่ โคนใบและปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ จนถึงหยักเล็กน้อย

ดอก เกิดบริเวณข้อ ใกล้โคนใบ โคนดอกเชื่อมติดกัน ปลายกลีบดอกแยกเป็น 2 แฉก กลีบดอกด้านบนมีสีขาว กลีบดอกด้านล่างมีสีขาวและจุดสีชมพูที่โคนกลีบดอก

ผล -

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทางภาคเหนือของประเทศไทย
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW018

รูปที่ 49 ต้น *Justicia striata* (Klotzsch) Bullock
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ดอก ค. ใบ

13. สกุล *Lepidagathis*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Lepidagathis incurva* Buch.-Ham. ex D. Don

ชื่อท้องถิ่น : หญ้าขนไก่

ชื่ออื่น : -

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ล้มลุก

ใบเดี่ยว เรียงสลับรูปใบหอก โคนใบมน ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ

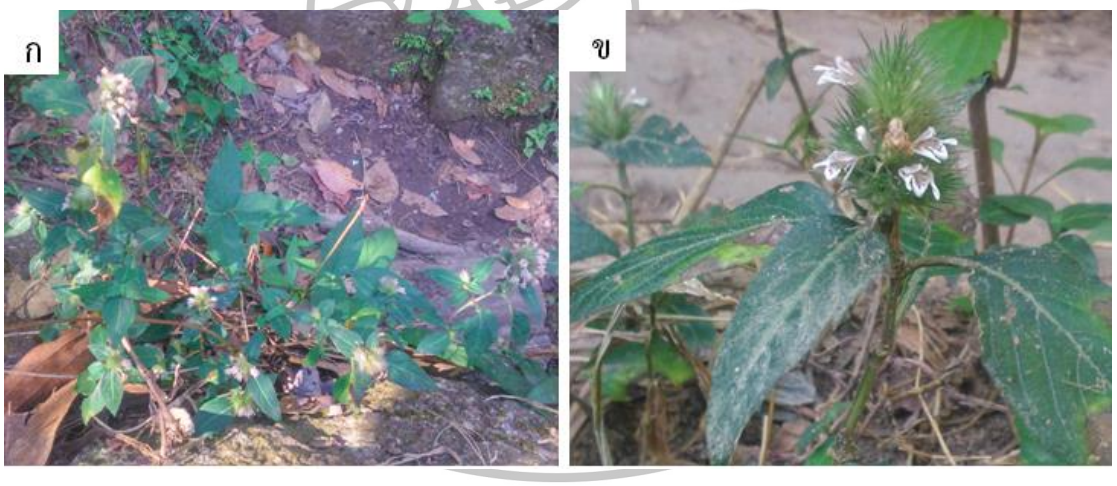
ดอกช่อ เกิดที่ปลายกิ่ง กลีบเลี้ยงปลายแหลมอัดแน่นเป็นกระจุก ดอกโคนเชื่อมติดกัน ปลายกลีบดอกแยกเป็น 5 แฉก ด้านบน 2 แฉก ด้านล่าง 3 แฉก กลีบดอกสีขาว และมีจุดสีม่วงกระจายอยู่ที่กลีบด้านล่าง

ผล -

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบบริเวณริมลำธารและเชิงเขา ที่ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล 500-600 เมตร ออกดอกเดือนธันวาคม

ประโยชน์ทางยา : -

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189444



รูปที่ 50 ต้นหญ้าขนไก่ (*Lepidagathis incurva* Buch.-Ham. ex D. Don)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ดอกและใบ

14. สกุล *Megaskepasma*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Megaskepasma erythrochlamys* Lindau
ชื่อท้องถิ่น : แดงพันธุ์ทิพย์
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 3 เมตร กิ่งก้านอวบเกือบเป็นสี่เหลี่ยม
ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้ามสลับตั้งฉาก รูปรีแกมรูปไข่หรือรูปรีแกม รูปขอบขนาน โคนใบมน ปลายใบแหลม ขอบหยักเล็กน้อย ใบสีเขียวเข้ม ก้านสีแดงเรื่อ
ดอก สีขาว กลีบเลี้ยง 5 กลีบขนาดเท่ากัน โคนดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดปลายแยกเป็น 2 ปาก ออกดอกที่ปลายกิ่งเป็นช่อเชิงลดยาว 30 เซนติเมตร ใบประดับรูปไข่กว้างสีแดงเข้ม
ผล แบบผลแห้งแตก รูปขอบขนาน มี 4 เมล็ด
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทุกภาค
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW030

รูปที่ 51 ต้นแดงพันธุ์ทิพย์ (*Megaskepasma erythrochlamys* Lindau)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ดอก

15. สกุล *Pachystachys*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Pachystachys lutea* Nees
ชื่อท้องถิ่น : เหลืองคีรีบูน
ชื่ออื่น : Golden candle, Golden shrimp plant, Lollypops
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 1 เมตร
ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก รูปใบหอก โคนและปลายใบแหลม เส้นกลางใบและเส้นแขนงใบเป็นร่อง ขอบใบเรียบ
ดอก ดอกสีขาวเป็นหลอดยาว ออกเป็นช่อแน่นที่ปลายยอดใบประดับสีเหลืองวงรอบละ 4 ใบ เรียงซ้อนรอบแกนก้านดอก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ภาคเหนือ ภาคกลาง
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW060

รูปที่ 52 ต้นเหลืองคีรีบูน (*Pachystachys lutea* Nees)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ดอก

16. สกุล *Peristrophe*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Peristrophe hyssopifolia* Merr.
ชื่อท้องถิ่น : กำลังช้างสาร
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่มกึ่งไม้ล้มลุก
ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปใบหอก โคนใบมน ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ
ดอก ดอกเดี่ยวออกดอกที่ปลายยอดหรือตามซอกใบ มีใบขนาดเล็กติดเป็นคู่ใต้ช่อดอก โคนดอกเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 2 กลีบ สีชมพู เกสรเพศผู้มี 2 เกสร
ผล แบบผลแห้งแตก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทางภาคเหนือของไทย
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW034

รูปที่ 53 ต้นกำลังช้างสาร (*Peristrophe hyssopifolia* Merr.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ดอก

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Peristrophe lanceolaria* (Roxb.) Nees

ชื่อท้องถิ่น : หว้าชะอำ

ชื่ออื่น : จ๊าฮ่อม กระดองเต่าหัก

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่มล้มลุก ขนาด 0.5 เมตร

ใบเดี่ยว ออกตรงกันข้าม รูปไข่แกมใบหอก ปลายใบเรียวแหลม โคนใบสอบ ขอบใบเรียบ ใบมีขนสั้นๆ ปกคลุมทั้งด้านบนและด้านล่าง

ดอก สีชมพู ออกดอกที่ปลายยอดหรือตามซอกใบ มีใบขนาดเล็กติดเป็นคู่ใต้ช่อดอก โคนดอกมีกาบรอง 1-4 กาบ รูปเรียวยาว กลีบรองดอกมี 5 กลีบเท่าๆกัน เกสรเพศผู้มี 2 เกสร

ผล ฝักรูปทรงกระบอกมีขนปกคลุม ปลายขนเป็นตุ่ม มี 4 เมล็ด

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ภาคเหนือของไทย ตามป่าดิบชื้น

ประโยชน์ทางยา :

ราก ฝนกับเหล้า แก้ซางเด็ก

ใบ ตำแล้วคั้นน้ำใช้ทาหรือพอกแก้การอักเสบ บวมหรือติดเชื้อ (ประชีพ, 2541; มนตรีและธวัชชัย,2546).

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189458

รูปที่ 54 ต้นหว้าชะอำ (*Peristrophe lanceolaria* (Roxb.) Nees)

ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ดอก

17. สกุล *Phlogacanthus*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Phlogacanthus curviflorus* Nees
ชื่อท้องถิ่น : ห้อมช้าง
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 1-2 เมตร

ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามรูปรี โดคนใบสอบแคบ ปลสยใบแหลมขอบใบเรียบ

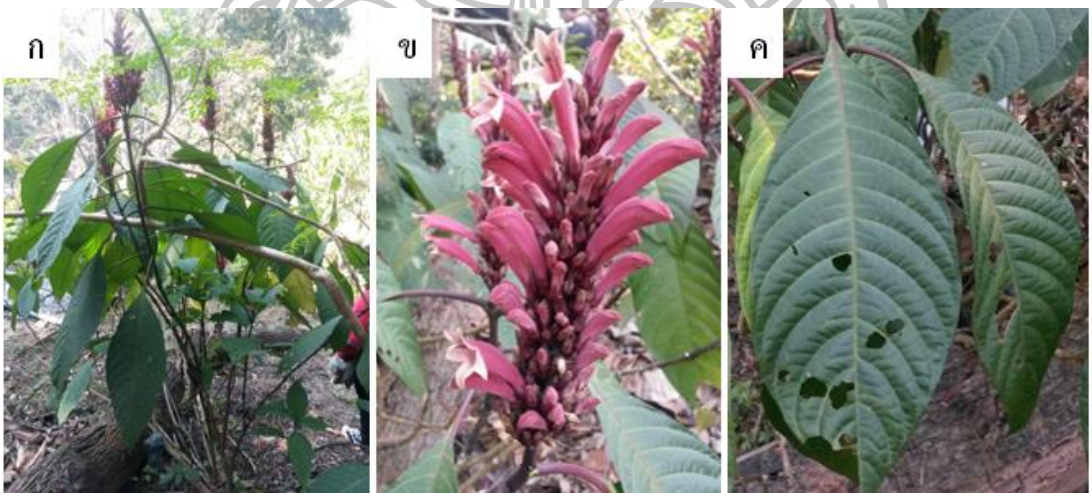
ดอก สีแดง ออกช่อตั้งที่ยอด กลีบเลี้ยงโคนเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 5 แฉก มีขนนุ่ม กลีบดอกด้านนอกเป็นสีแดง ด้านในเป็นสีเหลืองอ่อน รูปปากเปิด โคนเชื่อมติดกันเป็นเป็นหลอดรูปกรวย ปลายแยกเป็น 2 ปาก กลีบปากบนแยกเป็น 2 กลีบ กลีบปากล่างแยกเป็น 3 กลีบ ด้านนอกมีขนหนาแน่น เกสรเพศผู้ 2 เกสร

ผล แบบผลแห้งแตก รูปรียาว มีสันสี่เหลี่ยมมน มี 12-14 เมล็ด

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบขึ้นตามป่าดิบชื้นทางภาคเหนือ
(ประชีพ, 2541; สง่า, 2544)

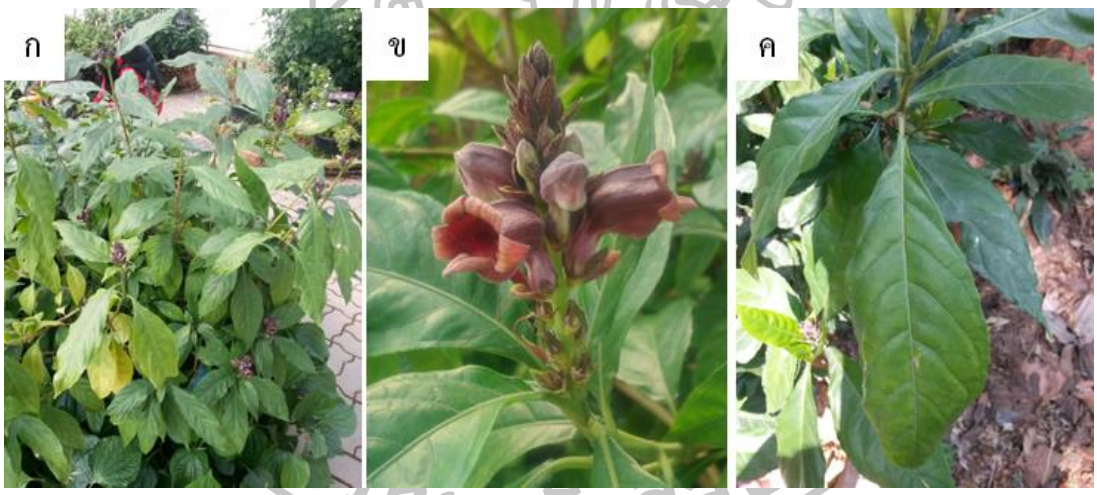
ประโยชน์ทางยา : -

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW032



รูปที่ 55 ต้นห้อมช้าง (*Phlogacanthus curviflorus* Nees)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Phlogacanthus pulcherrimus* T. Anderson
ชื่อท้องถิ่น : ดีปลากั้ง
ชื่ออื่น : บีปลากั้ง
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่ม ขนาด1-1.5เมตร
ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปรี โคนใบและปลายใบแหลม
ดอกช่อ ดอกสีแดงเข้ม โคนดอกเชื่อมติดกันปลายแยกเป็น 5 กลีบ
ผล -
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทางภาคเหนือและภาคกลางของประเทศไทย
ประโยชน์ทางยา :
ลำต้น ต้มน้ำดื่ม ช่วยขับปัสสาวะ แก้ปัสสาวะขัด
ยอดอ่อน มีรสขมอ่อนๆ กินเป็นอาหาร ช่วยเจริญอาหาร
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW047



รูปที่ 56 ต้นดีปลากั้ง (*Phlogacanthus pulcherrimus* T. Anderson)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

18. สกุล *Pseuderanthemum*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Pseuderanthemum atropurpureum* Radlk.
ชื่อท้องถิ่น : ใบเงิน
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 2-2.5 เมตร

ใบ ใบเดี่ยวเรียงตรงกันข้าม ใบรูปไข่ หรือ ขอบขนาน ปลายใบและโคนใบแหลม ขอบใบเรียบ สีใบด่าง

ดอก ดอกช่อ โคนดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 5 กลีบ กลีบดอกสีขาว และมีจุดสีชมพูเข้มที่โคนกลีบดอก

ผล -

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW081

รูปที่ 57 ต้นใบเงิน (*Pseuderanthemum atropurpureum* Radlk.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Pseuderanthemum graciliflorum* (Nees) Ridl.

ชื่อท้องถิ่น : เฒ่าหลังลาย

ชื่ออื่น : เฉียงพร้าป่า รงไม้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ล้มลุก สูง 2 เมตร

ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปใบหอกหรือรูปไข่แกมรูปใบหอก

ดอก ออกช่อกระจะค่อนข้างแน่นที่ปลายกิ่ง กลีบดอกสีม่วงอ่อนมีจุดประสีม่วง กลีบดอกโคนเชื่อมติดกันเป็นหลอดแคบยาว

ผล แบบผลแห้งแล้วแตก รูปรียาว

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบตามพื้นที่ป่าผสมผลัดใบและป่าดิบแล้ง

ประโยชน์ทางยา

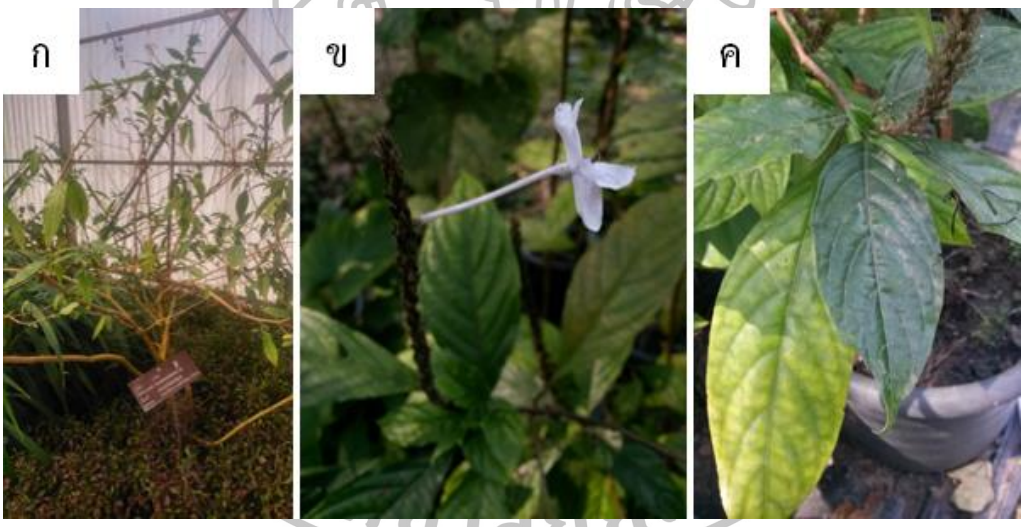
ทั้งต้น แก้อ่อนเพลีย ปวดเมื่อย

ใบ แก้โรคผิวหนังและผื่นคัน

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW087

รูปที่ 58 ต้นเฒ่าหลังลาย (*Pseuderanthemum graciliflorum* (Nees) Ridl.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Pseuderanthemum palatiferum* Radlk.
ชื่อท้องถิ่น : พญาวานร
ชื่ออื่น : ฮว่านง๊อก
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่ม ขนาด 2-2.5 เมตร
ใบ ใบเดี่ยวเรียงตรงกันข้าม ใบรูปไข่ โคนใบและปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ
ดอก ดอกช่อ ออกดอกที่ปลายกิ่ง โคนดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 5 กลีบ กลีบดอกสีขาว
ผล แห้งแล้วแตก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา:
ใบ รักษาโรคกระเพาะ เบาหวาน ลดความดันโลหิต
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW029



รูปที่ 59 พญาวานร (*Pseuderanthemum palatiferum* Radlk.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Pseuderanthemum reticulatum* (Hook. f.) Radlk.
ชื่อท้องถิ่น : รัศมีจันทร์
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

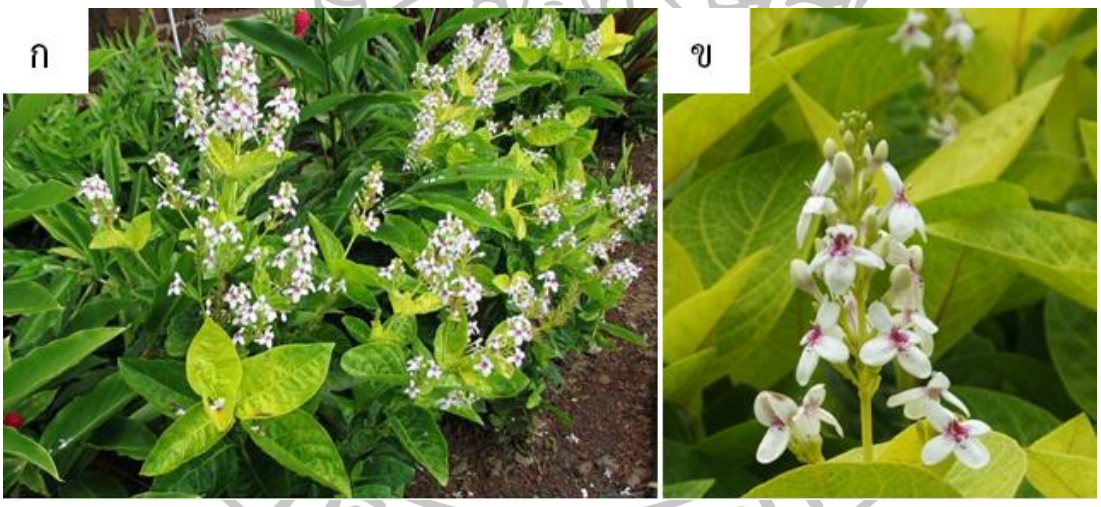
ไม้พุ่ม ขนาด 1-1.5 เมตร

ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปไข่ โคนใบและปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ

ดอก ดอกช่อ ออกดอกที่ปลายกิ่ง โคนดอกเชื่อมติดกันปลายแยกเป็น 5 กลีบ กลีบดอกสีขาวมีจุดสีชมพูเข้มกระจายที่โคนกลีบดอก

ผล -

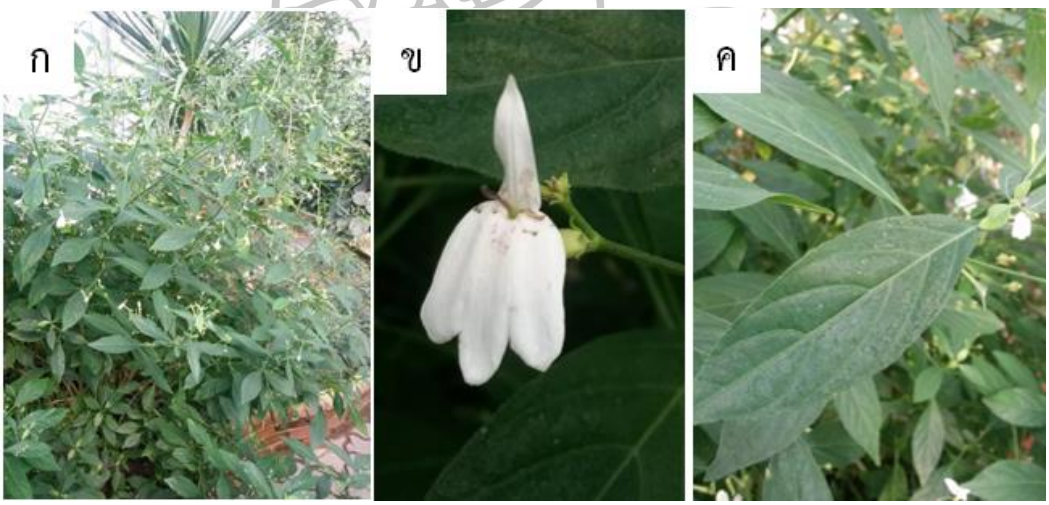
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทุกภาคของประเทศไทย
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW078



รูปที่ 60 ต้นรัศมีจันทร์ (*Pseuderanthemum reticulatum* (Hook. f.) Radlk.)
ก. ลักษณะวิสัยไม้พุ่ม ข. ช่อดอก

19. สกุล *Rhinacanthus*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz
ชื่อท้องถิ่น : ทองพันชั่ง
ชื่ออื่น : ทองคันชั่ง
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่มสูง 1-2 เมตร กิ่งอ่อนเป็นสี่เหลี่ยม
ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปไข่ โคนใบและปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ
ดอกช่อ ออกดอกที่ซอกใบ กลีบดอกสีขาว โคนดอกติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 2 ปาก ปากล่างมีประสีม่วงแดง
ผล แบบผลแห้งแตก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบปลูกทั่วประเทศ
ประโยชน์ทางยา :
ใบ ราก แก้โรคผิวหนังและผื่นคัน โรคกลากเกลื้อน ขับปัสสาวะ
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF188903



รูปที่ 61 ต้นทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ดอก ค. ใบ

20. สกุล *Ruellia*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Ruellia amoena* L.
ชื่อท้องถิ่น : แดงซีลอน
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่ม ขนาด 0.5 เมตร
ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปใบหอก โคนใบมน ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบจนถึงหยักเล็กน้อย
ดอกเดี่ยว สีแดง โคนดอกเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 5 กลีบ เกสรเพศผู้ 2 เกสร
ผล แบบผลแห้งแตก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW077

รูปที่ 62 ต้นแดงซีลอน (*Ruellia amoena* L.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ดอก ค. ใบ

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Ruellia repens* L.
ชื่อท้องถิ่น : จ๊าหอม
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้ล้มลุก ขนาดเล็ก
ใบ ใบเดี่ยวเรียงตรงข้าม ใบรูปรูปรี โคนใบมน ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ
ดอก ดอกเดี่ยวกลีบดอกสีม่วงอ่อน โคนดอกเชื่อมติดกันเล็กน้อย ปลายแยกเป็น 5 แฉก เกสรเพศผู้ 2 เกสร
ผล -
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบกระจายทั่วไป
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW076

รูปที่ 63 ต้นจ๊าหอม (*Ruellia repens* L.)
ก. ลักษณะวิสัย ล้มลุก ข. ดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Ruellia simplex* C. Wright
ชื่อท้องถิ่น : ต้อยติ่งเทศ
ชื่ออื่น : เทพประทานพร
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 1 เมตร กิ่งก้านหน้าตัดรูปสี่เหลี่ยม สีมักแดงเข้ม

ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม สลับตั้งฉาก รูปแถบยาว โคนใบรูปลิ่ม ปลายใบเรียวแหลม

ดอก สีขาว ม่วง ชมพู ออกเป็นช่อกระจุกเชิงซ้อน แต่ละช่อมี 3 ดอก กลีบเลี้ยงแยกเป็น 5 กลีบ กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด แยกเป็น 5 กลีบ เกสรเพศผู้มี 4 เกสร

ผล แบบผลแห้งแตกเป็นสองซีก ปลายเป็นติ่ง โคนสอบ เม็ดจำนวนมาก

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทุกภาค
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW075, BKF189467

รูปที่ 64 ต้นต้อยติ่งเทศ (*Ruellia simplex* C. Wright)
ก. ลักษณะวิสัย ล้มลุก ข. ดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Ruellia tuberosa* L.
ชื่อท้องถิ่น : ต้อยติ่ง
ชื่ออื่น : ต้อยติ่งฝรั่ง
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 30-60 เซนติเมตร

ใบ ใบเดี่ยวเรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก รูปขอบขนานหรือขอบขนานแกมรูปไข่กลับ โคนสอบเรียว ปลายใบมน

ดอก ดอกเดี่ยว กลีบดอกสีม่วงหรือขาว ออกดอกเป็นช่อกระจุก กลีบเลี้ยงโคนเชื่อมติดกันเป็นหลอดปลายแยก 5 กลีบ โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยก 5 กลีบ ปลายกลีบบนขอบหยักเล็กน้อย เกสรเพศผู้ 4 เกสร

ผล เป็นฝัก แบบผลแห้งแล้วแตก รูปกระสวย

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทั่วไป
ประโยชน์ทางยา :

ราก ใช้ผสมยาแก้พิษ ดับพิษ ยาเบื่อ (ลิขิต, 2544[b])

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW074

รูปที่ 65 ต้นต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* L.)
ก. ลักษณะวิสัย ล้มลุก ข. ดอก ค. ใบ

21. สกุล *Rungia*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Rungia pectinata* (L.) Nees
ชื่อท้องถิ่น : สันพร้า
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

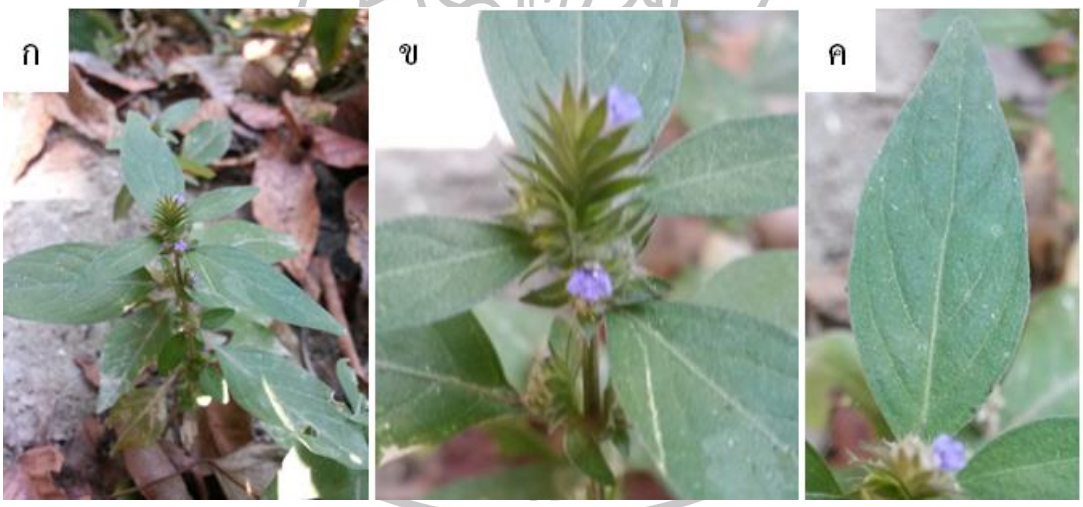
ไม้ล้มลุก ขนาด 10 เซนติเมตร

ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม ใบรูปรี โคนและปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ

ดอก ดอกช่อออกที่ปลายยอด โคนดอกเชื่อมติดกันเล็กน้อย ปลายแยกเป็น 3 กลีบด้านล่าง กลีบดอกสีม่วง ใบเลี้ยงซ้อนกันหุ้มคลายกาบ ปลายใบเลี้ยงแหลม

ผล -

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ป่าเบญจพรรณ ป่าเต็งรัง ทางภาคเหนือ
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW022, BKF189445



รูปที่ 66 ต้นสันพร้า (*Rungia pectinata* Nees)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้ล้มลุก ข. ดอก ค. ใบ

22. สกุล *Ruttyruspolia*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : × *Ruttyruspolia* A. Meeuse & de Wet
ชื่อท้องถิ่น : เข็มชมพูนงนุช
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่ม ขนาด 0.5 เมตร
ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปใบหอก โคนใบมน ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ
ดอกช่อ ออกดอกที่ปลายกิ่ง โคนดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 5 แฉก กลีบดอกสีชมพู และมีจุดสีชมพูเข้มกระจายอยู่ที่โคนกลีบดอก เกสรเพศผู้ 2 เกสร
ผล -
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189461

รูปที่ 67 ต้นเข็มชมพูนงนุช (× *Ruttyruspolia* A. Meeuse & de Wet)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

23. สกุล *Strobilanthes*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Strobilanthes auriculata* Bremek.
ชื่อท้องถิ่น : จ๊าฮ่อม
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 1 เมตร

ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปใบหอก ปลายใบแหลม โคนใบมน พบแต้มสีขาวบริเวณกลางใบ

ดอก ดอกช่อออกดอกที่ปลายกิ่ง โคนดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็นห้าแฉก กลีบดอกสีม่วงอ่อนจนถึงสีขาว กลีบเลี้ยงหุ้มคล้ายกาบหลายชั้น

ผล -

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทางภาคเหนือของไทย
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189446

รูปที่ 68 ต้นจ๊าฮ่อม (*Strobilanthes auriculata* Bremek.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Strobilanthes chiangdaoensis* H. Terao

ชื่อท้องถิ่น : ช่อม่วงเชียงดาว

ชื่ออื่น : -

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 0.5-1 เมตร

ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปไข่ ปลายใบแหลม โคนใบมน ขอบใบหยักจักฟันเลื่อย

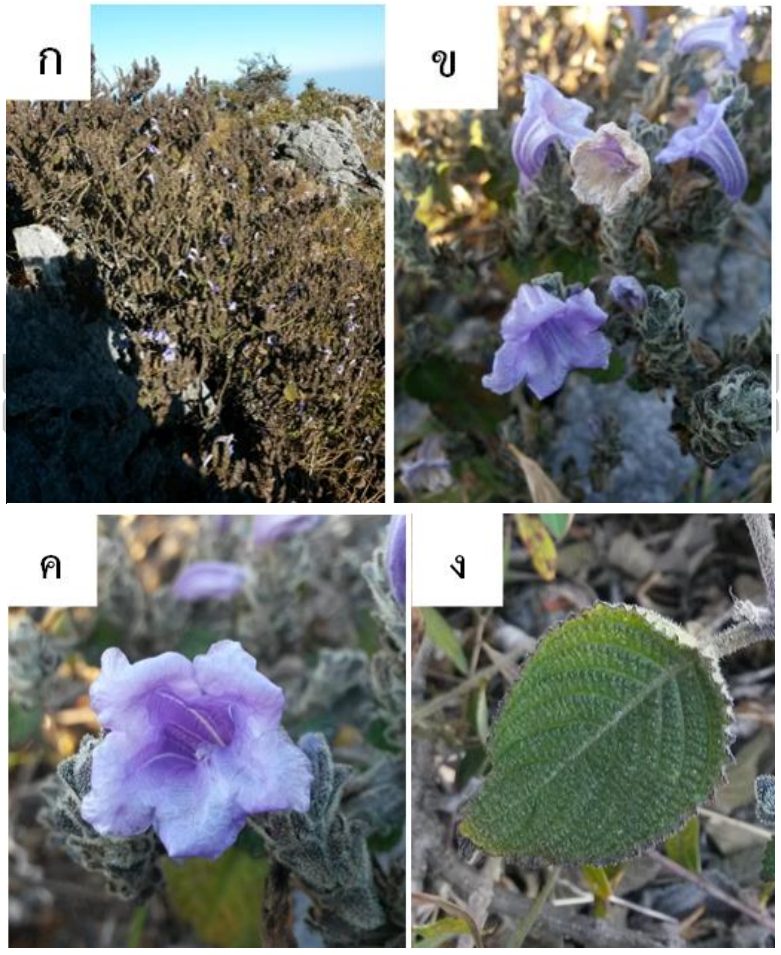
ดอก ดอกช่อออกดอกที่ปลายกิ่ง โคนดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็นห้าแฉก กลีบดอกสีม่วงอ่อนจนถึงสีขาว กลีบเลี้ยงหุ้มคล้ายกาบหลายชั้น

ผล -

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทางภาคเหนือของไทย

ประโยชน์ทางยา : -

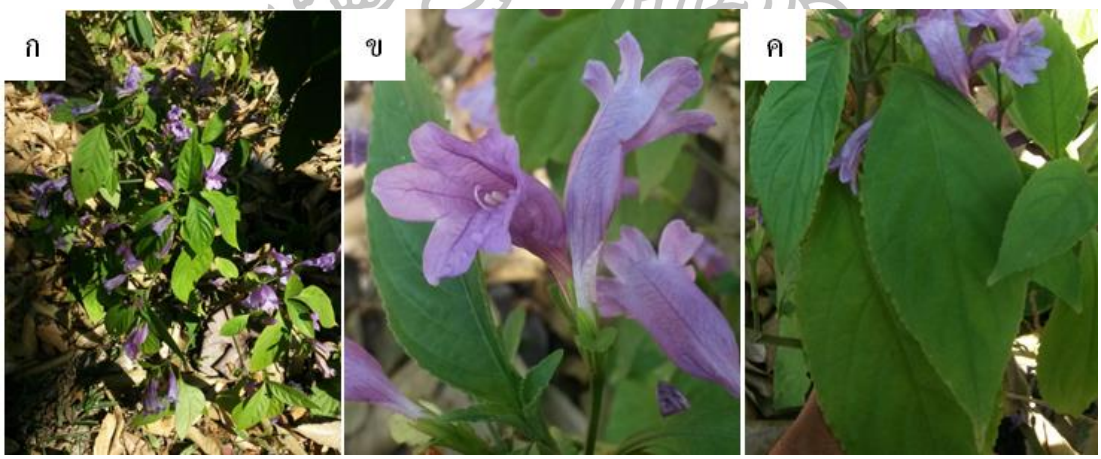
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW006



รูปที่ 69 ต้นช่อม่วงเชียงดาว (*Strobilanthes chiangdaoensis* H. Terao)

ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข.-ค.ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Strobilanthes cusia* (Nees) Kuntze
ชื่อท้องถิ่น : ฮ่อม
ชื่ออื่น : คราม ฮ่อมเมือง
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่ม ขนาด 0.5-1 เมตร ลำต้นเป็นเหลี่ยม รูปทรงกระบอก
ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปรี ปลายใบแหลม โคนใบสอบ ขอบใบหยักฟันเลื่อย
ดอก สีม่วงออกดอกเป็นช่อที่ซอกใบ กลีบรองดอก 5 แฉก กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดโค้งงอ ปลายแยกเป็น 5 กลีบ เกสรเพศผู้ 4 เกสร
ผล แบบผลแห้งแตก เมล็ดแบบสีน้ำตาลขนาดเล็ก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทางภาคเหนือของไทย
ประโยชน์ทางยา
รากและใบ ต้มน้ำดื่มแก้ไข้ เจ็บคอ หลอดลมอักเสบ ต่อมทอนซิลอักเสบ
ทั้งต้น ย้อมผ้า ให้สีน้ำเงินเข้มเกือบดำ
(มนตรีและธวัชชัย, 2546).
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189450



รูปที่ 70 ต้นฮ่อม (*Strobilanthes cusia* (Nees) Kuntze)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข. ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Strobilanthes hamiltoniana* (Steud.) Bosser & Heine
ชื่อท้องถิ่น : ทวีทรัพย์
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้พุ่ม ขนาด 0.5 เมตร
ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปรี โคนใบและปลายใบแหลม ขอบใบจักฟันเลื่อย
ดอก ดอกช่อ ออกที่ปลายกิ่ง ดอกสีชมพูจนถึงสีม่วง โคนดอกเชื่องติดกัน ส่วนปลายขยายออกแยกเป็น 5 กลีบ
ผล แบบผลแห้งแตก
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW044

รูปที่ 71 ต้นทวีทรัพย์ (*Strobilanthes hamiltoniana* (Steud.) Bosser & Heine)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข.ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Strobilanthes oresbia* W. W. Sm

ชื่อท้องถิ่น : -

ชื่ออื่น : -

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 0.5-1 เมตร

ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปใบหอกจนถึงรูปไข่ โคนใบมนและปลายใบยาวคล้ายหาง ขอบใบจักฟันเลื่อย

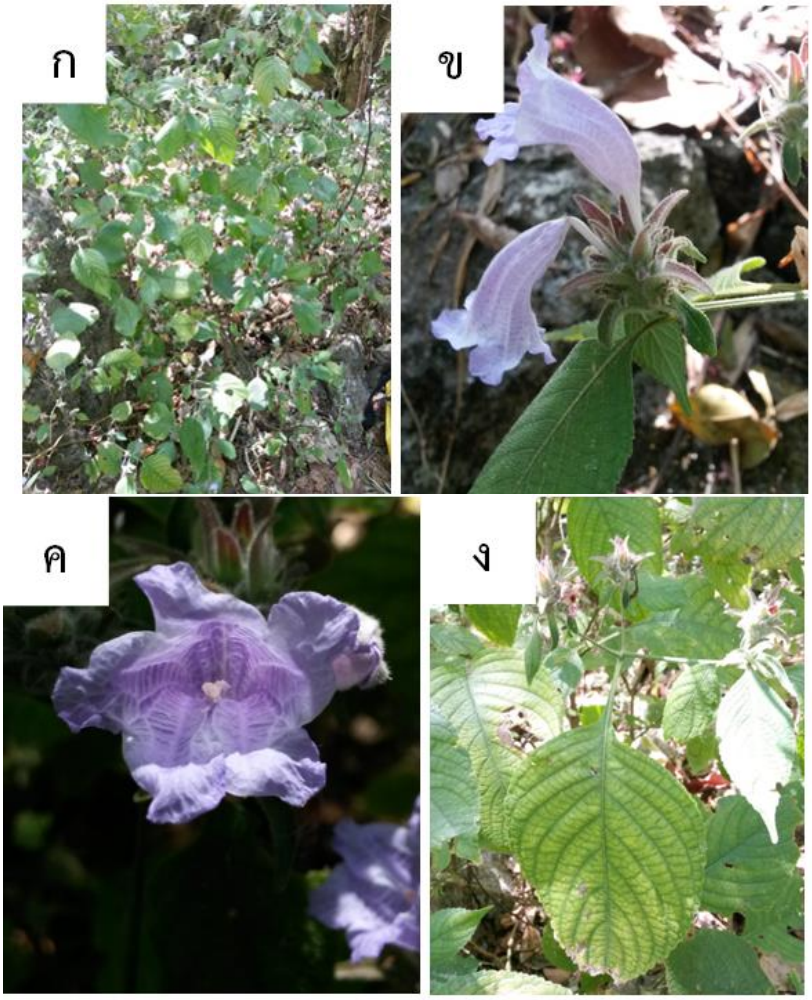
ดอก ดอกช่อ ออกที่ปลายกิ่ง ดอกสีม่วง โคนดอกเชื่องติดกัน ส่วนปลายขยายออกแยกเป็น 5 กลีบ กลีบเลี้ยงหุ้มคล้ายกาบหลายชั้นสีม่วงเข้ม

ผล -

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบปลูกเป็นไม้ประดับ

ประโยชน์ทางยา : -

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW015



รูปที่ 72 ต้น *Strobilanthes oresbia* W. W. Sm

ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข.-ค.ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Strobilanthes persicifolia* (Lindl.) J. R. I. Wood
ชื่อท้องถิ่น : ฮ่อม
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 0.5 เมตร

ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบรูปรี โคนใบและปลายใบแหลม ขอบใบจักฟันเลื่อย

ดอก ดอกช่อ ออกดอกที่ปลายกิ่ง กลีบเลี้ยงสีแดงเข้มจนเกือบดำ กลีบดอกสีชมพูอ่อนจนถึงสีขาว โคนดอกเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 5 กลีบ ปลายกลีบดอกหยักลึก

ผล -

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทางภาคเหนือของไทย
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189442

รูปที่ 73 ต้นฮ่อม *Strobilanthes persicifolia* (Lindl.) J.R.I.Wood
ก. ลักษณะวิสัย ไม้พุ่ม ข.ช่อดอก ค. ใบ

24. สกุล *Thunbergia*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thunbergia alata* Boj. ex Sims.
ชื่อท้องถิ่น : แววตา
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้เถาเลื้อย
ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้ามเป็นคู่รูปไข่กว้าง โคนใบเว้า ก้านใบแผ่ออกเป็นปีกบาง 2 ข้าง
ดอก สีเหลือง ตรงกลางสีเข้ม ออกเป็นช่อสั้นๆ ตามซอกใบ กลีบดอกมี 5 กลีบ ปลายกลีบแผ่กว้าง
ผล กลมเป็นกระเปาะ มี 4 พู ปลายเป็นจะงอยแข็ง มี 2-4 เมล็ด (สง่า สรรพศรี, 2544)
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทางภาคเหนือของไทยที่ระดับความสูง 1,000 เมตร
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189462

รูปที่ 74 ต้นแววตา (*Thunbergia alata* Boj. ex Sims.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้เลื้อย ข. ดอก ค. ใบ

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thunbergia coccinea* Wall. ex D. Don

ชื่อท้องถิ่น : หนามแน่แดง

ชื่ออื่น : น้ำปู้ ปังกะล่ะกวอ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้เลื้อย กิ่งก้านสีเขียว

ใบ ใบเดี่ยว ออกคู่ตรงข้าม ขอบใบเป็นหยักซี่เลื่อย

ดอก ออกดอกเป็นช่อห้อยลง ดอกย่อยมีใบประดับสีเข้มอมม่วง ขนาดใหญ่ประกบ 2 อัน กลีบเลี้ยงมีขนาดเล็กเชื่อมติดกันคล้ายวงแหวน กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดค่อนข้างแบน ปลายแยก 5 กลีบ สีแดงแกมส้ม เกสรเพศผู้ 4 เกสร ติดกับโคนดอก ยาว 2 เกสร สั้น 2 เกสร

ผล ค่อนข้างกลม มีจะงอยขนาดใหญ่ เมื่อแก่แล้วแตกตามยาว

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทางภาคเหนือของไทยที่ความสูง 100-1,000 เมตร

ประโยชน์ทางยา :

ใบและเครือ แก้อาการเคืองตา ตาแดง เจ็บตา

ดอกและผล นำมาตำพอกแผลที่โดนงูกัด ช่วยดูดพิษ

เครือ ต้มน้ำกินเวลาที่โดนพิษจากสัตว์มีพิษ เช่น งู ตะขาบ แมงป่อง แมงมุมพิษ

เถาอ่อนและใบ ต้มน้ำอาบเป็นยาแก้ แก้อาการเด็กนอนไม่หลับ

(สง่า, 2541)

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW062

รูปที่ 75 ต้นหนามแน่แดง (*Thunbergia coccinea* Wall. ex D. Don)

ก. ลักษณะวิสัย ไม้เลื้อย ข. ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thunbergia colpifera* B. Hansen
ชื่อท้องถิ่น : รางจืดต้นภูคา
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ล้มลุกอายุหลายปี มีเนื้อไม้ ลำต้นเกลี้ยง สูง 1-2 เมตร

ใบ ใบเดี่ยวเรียงตรงข้าม รูปรีหรือรูปขอบขนาน ปลายใบแหลมยาวหรือยาวคล้ายหาง โคนใบสอบเรียว แผ่นใบเกลี้ยง

ดอก ออกเป็นช่อสั้นๆ เป็นกระจุกตามซอกใบ แต่ละช่อมี 2-4 ดอก ใบประดับรูปใบหอก ใบประดับย่อยคล้ายกาบหุ้ม รูปไข่ กลีบเลี้ยงหยักซี่ฟัน ขนาดไม่เท่ากัน กลีบดอกรูปปากแตร สีขาว มีสีแดงอมม่วงภายในหลอดและกลีบปากด้านใน ด้านในมีขนและต่อมตอนล่าง กลีบปากเกือบกลม ขนาดไม่เท่ากัน มีขนครุย กลีบด้านบน 2 กลีบ กลีบล่าง 3 กลีบ เกสรเพศผู้ 4 เกสร สองคู่ยาวไม่เท่ากัน ติดในหลอดกลีบดอกช่วงล่าง

ผล แบบแคปซูล แตกกลางพู ฐานกลม ปลายเป็นปากจะงอยรูปดาบ เมล็ดกลม

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พืชถิ่นเดียวของไทย พบเฉพาะที่ดอยภูคา จังหวัดน่าน ขึ้นใต้ร่มเงาในป่าดิบเขา ระดับความสูง 1500-1600 เมตร
(ลิขิต, 2544[a])

ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189465

รูปที่ 76 ต้นรางจืดต้นภูคา (*Thunbergia colpifera* B. Hansen)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้ล้มลุก ข. ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thunbergia erecta* (Benth.) T. Anderson
ชื่อท้องถิ่น : ช้องนาง
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่ม ขนาด 1 เมตร ลำต้นสี่เหลี่ยม
ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปไข่หรือรูปรี โคนใบมน ปลสยใบแหลม ขอบใบเป็นคลื่นเล็กน้อย
ดอก ดอกเดี่ยวสีม่วงเข้ม ออกดอกตามซอกใบ มีใบประดับ 2 ใบหุ้มดอกตูม กลีบเลี้ยงโคนเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 2 แฉกเล็กๆ กลีบดอกโคนเชื่อมติดกันเป็นหลอดแล้วผายออกเป็นรูประฆัง ปลายแยกเป็น 5 กลีบ รูปเกือบกลม ภายในหลอดดอกสีเหลือง เกสรเพศผู้ 4 เกสร
ผล แบบผลแห้งแตก ค่อนข้างกลมปลายเป็นจะงอย
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ปลูกเป็นไม้ประดับ
ประโยชน์ทางยา : -
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF188899

รูปที่ 77 ต้นช้องนาง (*Thunbergia erecta* (Benth.) T. Anderson)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้ล้มลุก ข. ช่อดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thunbergia fragrans* Roxb.

ชื่อท้องถิ่น : หูปากกา

ชื่ออื่น : หนามแน่ขาว

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้เถาเลื้อยขนาดเล็ก ลำต้นเป็นเหลี่ยม มีขนหนาแน่น

ใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม รูปรีหรือรูปใบหอก โคนใบรูปลิ่ม ปลายใบแหลมมีติ่งยาว มีขนทั้งด้านหน้าและด้านหลังใบ

ดอก มีสีขาว มีกลิ่นหอม ออกดอกเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นคู่ที่ซอกใบ โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดปลายแยกเป็น 5 กลีบ ปากหลอดเป็นสีเหลืองอ่อน

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ทางภาคเหนือที่ระดับความสูง 1,000 เมตร (สง่า, 2541)

ประโยชน์ทางยา : -

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189466

รูปที่ 78 ต้นหนามแน่ขาว (*Thunbergia fragrans* Roxb.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้เลื้อย ข. ดอก ค. ใบและผล

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thunbergia grandiflora* (Roxb. ex Rottler) Roxb.

ชื่อท้องถิ่น : สร้อยอินทนิล

ชื่ออื่น : คาย ช่ออินทนิล ช่องหูปากกา น้ำผึ้ง ย่ำแย้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้เถาล้มลุก ลำต้นอ่อนมีขน ตามข้อมีต่อมน้ำต้อยสีดำกระจาย

ใบ รูปไข่หรือรูปหัวใจกว้าง แยกเป็นพู 4-8 พู ลึกหรือตื้นๆ ปลายใบแหลม โคนใบรูปหัวใจ ขอบใบจักซี่ฟันตื้นๆ ห่างๆ แผ่นใบมีขนกระจาย

ดอก ดอกช่อแบบกระจะออกตามซอกใบหรือปลายกิ่ง แต่ละกระจุกมีประมาณ 4 ดอก ปลายก้านและใบประดับย่อยมีต้อมน้ำต้อยทั่วไป ใบประดับย่อยหุ้มกลีบเลี้ยง รูปขอบขนาน มีขนสั้นนุ่ม กลีบเลี้ยงรูปถ้วยขนาดเล็ก ขอบเกือบเรียบ ดอกรูปแตรสีม่วงอมน้ำเงินหรือสีขาว ขาวภายในหลอดกลีบมีสีครีมหรือเหลือง กลีบดอก 5 กลีบ ขนาดเท่าๆ กัน กลีบกลมหรือรูปไข่กว้าง เกสรเพศผู้ 4 อัน ติดที่โคนหลอดกลีบ สั้น 2 เกสร ยาว 2 เกสร

ผล แบบผลแห้งแตก กลมๆ ปลายมีจะงอย เมล็ด 2 เมล็ดในแต่ละซีก

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ในไทยพบกระจายห่างๆ แทบทุกภาคยกเว้นภาคใต้ ขึ้นตามชายป่าเบญจพรรณและป่าดิบแล้งจนถึงระดับความสูงประมาณ 800 เมตร

ประโยชน์ทางยา

รากและเถา ใช้พอกแก้ฟกช้ำ ตำพอกแผลแก้อักเสบ

ใบ ชงดื่มแก้ปวดท้อง

(สง่า, 2541)

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW072

รูปที่ 79 ต้นสร้อยอินทนิล (*Thunbergia grandiflora* (Roxb. ex Rottler) Roxb.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้เลื้อย ข. ดอก ค. ใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thunbergia hossei* C. B. Clarke
ชื่อท้องถิ่น : น้ำแน่ดง
ชื่ออื่น : -
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
ไม้เลื้อย ไม้เถาล้มลุก
ใบ ใบเดี่ยว ออกคู่ตรงข้าม ขอบใบเป็นหยักซี่เลื่อย
ดอก ออกดอกเป็นช่อห้อยลง ดอกย่อยมีใบประดับสีเข้มอมม่วง ขนาดใหญ่ประกบ 2 อัน กลีบเลี้ยงมีขนาดเล็กเชื่อมติดกันคล้ายวงแหวน กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดค่อนข้างแบน ปลายแยก 5 กลีบ สีส้มเหลือง เกสรเพศผู้ 4 อัน ติดกับโคนดอก ยาว 2 อัน สั้น 2 อัน
ผล ค่อนข้างกลม มีจะงอยขนาดใหญ่ เมื่อแก่แล้วแตกตามยาว
ถิ่นที่พบในประเทศไทย : พบทางภาคเหนือของไทยที่ความสูง 100-1,000 เมตร
หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : PW049

รูปที่ 80 ต้นน้ำแน่ดง (*Thunbergia hossei* C. B. Clarke)
ก.-ข. ดอก ค. ดอกและใบ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thunbergia laurifolia* Lindl.

ชื่อท้องถิ่น : รางจืด

ชื่ออื่น : ชื่ออื่น กำลังช้างเผือก ขอบชะนาง เครือเขาเขียว ยาเขียว คาย รางเย็น ดุเหว่า ทิดพุด น้ำนอง ย่ำแย้ แอดแอ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้เถาล้มลุก ลำต้นมีเนื้อไม้

ใบ รูปรี รูปไข่ รูปขอบขนาน หรือรูปใบหอก ปลายใบแหลม หรือแหลมยาว โคนใบกลม ตัด รูปหัวใจหรือคล้ายลูกศร ขอบใบเรียบ จักซี่ฟันตื้นๆ ห่างๆ แผ่นใบเกลี้ยง

ดอก ดอกช่อแบบช่อกระจะออกตามซอกใบหรือปลายกิ่ง แต่ละกระจุกมีประมาณ 4 ดอกหรือมากกว่า ใบประดับย่อยหุ้มกลีบเลี้ยง รูปขอบขนาน กลีบเลี้ยงรูปถ้วยขนาดเล็ก ขอบเกือบเรียบ มีต่อมน้ำต้อยตามขอบ ดอกรูปแตรสีม่วงอมน้ำเงินหรือสีขาว ภายในหลอดกลีบมีสีครีมหรือเหลือง กลีบดอก 5 กลีบ ขนาดเท่าๆ กัน กลีบกลมหรือรูปไข่กว้าง เกสรเพศผู้ 4 เกสร ติดที่โคนหลอดกลีบ แยกเป็น 2 คู่ ไม่ยื่นเลยปากหลอดกลีบดอก

ผล แบบผลแห้งแตก กลมๆ ปลายมีจงอย เมล็ด 2 เมล็ดในแต่ละซีก

ถิ่นที่พบในประเทศไทย : ในไทยพบกระจายห่างๆ ทุกภูมิภาค พบมากทางภาคตะวันตกเฉียงใต้ ขึ้นตามชายป่าเบญจพรรณและป่าดิบแล้ง จนถึงระดับความสูงประมาณ 800 เมตร

ประโยชน์ทางยา

รากและเถา รับประทานแก้ร้อนใน กระหายน้ำ

ใบและราก ใช้ปรุงเป็นยาถอนพิษไข้ เป็นยาพอกบาดแผล น้ำร้อนลวก ไฟไหม้ ทำลายพิษยาฆ่าแมลง พิษจากสตริกนินให้เป็นกลาง พิษจากดื่มเหล้ามากเกินไป หรือยาเบื่อชนิดต่างๆ

(สง่า, 2541)

หมายเลขพรรณไม้อ้างอิง : BKF189449

รูปที่ 81 ต้นรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Lindl.)
ก. ลักษณะวิสัย ไม้เลื้อย ข. ดอก ค. ใบ

ภาคผนวก ข : ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอบาร์โค้ดตำแหน่ง ITS2, *psb*A-*trn*H และ *trn*L-*trn*F integenic spacers

ในที่นี้จะแสดงตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอสกุล *Thunbergia* จำนวน 8 ชนิด ทั้งนี้ข้อมูลเหล่านี้รวมถึงข้อมูลของพืชอื่นในงานวิจัยนี้ได้นำฝากไว้ในฐานข้อมูล GenBank โดยมี accession number แสดงในตารางที่ 13

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของ แววตา (*Thunbergia alata* Boj. ex Sims.)

ตำแหน่ง ITS2

```
LOCUS       KT004498                403 bp    DNA     linear   PLN 10-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia alata voucher BKF189462 5.8S ribosomal RNA gene, partial
            sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   KT004498
VERSION     KT004498.1  GI:948275627
KEYWORDS    .
SOURCE      Thunbergia alata (black-eyed Susan vine)
  ORGANISM  Thunbergia alata
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 403)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 403)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (01-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: Bioedit v. 7.0.8.0
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..403
                     /organism="Thunbergia alata"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189462"
                     /db_xref="taxon:32198"
     rRNA            <1..69
                     /product="5.8S ribosomal RNA"
     misc_RNA        70..297
                     /product="internal transcribed spacer 2"
     rRNA            298..>403
```

```
                     /product="26S ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 gttgcgcccg aagccattag gccgagggca cgtctgcctg ggcgtcacgc atcgcgtcgc
       61 ccccctccat cgcccgcaac gccgggcgct cggggtgggg gcggagattg gcctcccgtg
      121 tgcgcgagcg cgcggacggc ccaaattgga tccccccggcg gcgcaagtca cggccagtgg
      181 tggttgagca catcaactct cgtgctgaca gtcgtgcacg cctacgcgtc gtcgtccggg
      241 aaccgagaac gacccaacgg cgcaccgcgc cttcgaccgc gaccccaggt caggcgggat
      301 cacccgctga gtttaagcat atcaataagc ggaggaaaag aaacttacaa ggattcccct
      361 agtaacggcg agcgaaccgg gaatagccca actgagaatc ggc
//
```

ตำแหน่ง *psb*A-*trn*H

```
LOCUS       KT161355                571 bp    DNA     linear   PLN 06-DEC-2015
DEFINITION  Thunbergia alata voucher BKF189462 photosystem II protein D1 (psbA)
            gene, partial cds; psbA-trnH intergenic spacer, complete sequence;
            and tRNA-His (trnH) gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT161355
VERSION     KT161355.1  GI:957742363
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia alata (black-eyed Susan vine)
  ORGANISM  Thunbergia alata
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 571)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 571)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (05-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..571
                     /organism="Thunbergia alata"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189462"
                     /db_xref="taxon:32198"
                     /note="authority: Thunbergia alata Boj. ex Sims."
     gene            <1..71
```

```
                     /gene="psbA"
     CDS             <1..71
                     /gene="psbA"
                     /codon_start=3
                     /transl_table=11
                     /product="photosystem II protein D1"
                     /protein_id="ALQ12304.1"
                     /db_xref="GI:957742364"
                     /translation="MHERNAHNFPLDLAAVEAPTNG"
     misc feature    72..517
                     /note="psbA-trnH intergenic spacer"
     gene            complement(518..>571)
                     /gene="trnH"
     tRNA            complement(518..>571)
                     /gene="trnH"
                     /product="tRNA-His"
ORIGIN
        1 ttatgcatga acgtaatgct cataacttcc ctctagacct agctgctgtt gaagctccaa
       61 caaacggata agacttagtc tttagtctag ttcataggag tttttgaaaa gaaaattaaa
      121 aatataaggg gcaatagccc ttcttgatag aacaagaagg aggttattgc tccttaattt
      181 tcttttgaat taggagtatt ttttagaaat attgtactcc cagattttta ttctttgcat
      241 tacagaataa agaaagacaa gggattttga agtgttaatt aacgattcag tattattctt
      301 tccttttcca taaattatga atttttttgca tccgtctaac ttcttcccaa aggattggga
      361 catttttta acgttttaaa gataagataa aaaaaatatc tcagaacaaa aaaaagaaga
      421 taaatgaaat gattggaatt caacctttg tcttataatt tcatttctaa caaaaatgga
      481 attctatttt ttagccaatt aaaaraaaag agtaaggggc ggatgtagcc aagtggatca
      541 aggcagtgga ttgtgaatcc accatgcgcg a
//
```

ตำแหน่ง *trn*L-*trn*F

```
LOCUS       KT075029                417 bp    DNA     linear   PLN 22-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia alata tRNA-Leu (trnL) gene, partial sequence; trnL-trnF
            intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Phe (trnF) gene,
            partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT075029
VERSION     KT075029.1  GI:952984672
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia alata (black-eyed Susan vine)
  ORGANISM  Thunbergia alata
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 417)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 417)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
```

```
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (09-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..417
                     /organism="Thunbergia alata"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol type="genomic DNA"
                     /specimen voucher="BKF189462"
                     /db_xref="taxon:32198"
                     /note="authority: Thunbergia alata Boj. ex Sims."
     gene            <1..22
                     /gene="trnL"
     tRNA            <1..22
                     /gene="trnL"
                     /product="tRNA-Leu"
     misc feature    23..365
                     /note="trnL-trnF intergenic spacer"
     gene            complement(366..>417)
                     /gene="trnF"
     tRNA            complement(366..>417)
                     /gene="trnF"
                     /product="tRNA-Phe"
ORIGIN
        1 ggttcaagtc cctctatccc caaaaaagct tatttgactc ccaattatgc tatccccctt
       61 tttcgttagc gggtccaaat tcttttactt attctttgac aaacgtattt gggcataata
      121 cataatattt gggcataata aatgattctc tcttatcgca tgtgatatag aatacacatc
      181 caaataaagc aaggaatccc gattcacaat caatagcatt actcatactg agacttagaa
      241 agtcgtcttt ttccaaaaac ttacaagact tggagaaaaa cccctcttgt ctctttaatt
      301 gacatagacc ccagccacct cataaaatga gggggggggat gctacattgg gaatggtcgg
      361 gatagctcag ctggtanagc agaggactga aaatcctcgt gtcacagttc aaataat
//
```

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของ หนามแน่แดง (*Thunbergia coccinea* Wall. ex D.Don)

ตำแหน่ง ITS2

```
LOCUS       KT004499                472 bp    DNA     linear   PLN 10-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia coccinea voucher PW062 5.8S ribosomal RNA gene, partial
            sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   KT004499
VERSION     KT004499.1  GI:948275628
KEYWORDS    .
SOURCE      Thunbergia coccinea
  ORGANISM  Thunbergia coccinea
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 472)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 472)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (01-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: Bioedit v. 7.0.8.0
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..472
                     /organism="Thunbergia coccinea"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="PW062"
                     /db_xref="taxon:85288"
     rRNA            <1..67
                     /product="5.8S ribosomal RNA"
     misc_RNA        68..294
                     /product="internal transcribed spacer 2"
     rRNA            295..>472
                     /product="26S ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 aattgcagga tcccgtgaac catcgagtct ttgaacgcaa gttgcgccng aagccattag
       61 gccgagggca cgtctgcctg ggcgtcacgc atcgcgtcgc ccccctcca tcgcccgcac
      121 ggccgggcgg tgggagcggg ggcggagatt ggcctcccgt gagcacgagc gcgcggacgg
      181 cccaaatcgg atcccccggc ggcgcaagtc acggccagtg gtggttgagg acatcaactc
      241 tcgtgctgac agccgtgcgc taccgcgtcg cctttcgggc accgaaaayg acccaacggc
      301 gcactcgcgc cttcgaccgc gaccccaggt caggcgggat cacccgctga gtttaagcat
      361 atcaataagc ggaggaaaag aaacttacaa ggattcccct agtaacggcg agcgaaccgg
```

```
      421 gaatagccca acttgagaat cgggcggcca cgccgttcga attgtagtct ga
//
```

ตำแหน่ง *psb*A-*trn*H

```
LOCUS       KT161356                567 bp    DNA     linear   PLN 06-DEC-2015
DEFINITION  Thunbergia coccinea voucher PW062 photosystem II protein D1 (psbA)
            gene, partial cds; psbA-trnH intergenic spacer, complete sequence;
            and tRNA-His (trnH) gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT161356
VERSION     KT161356.1  GI:957742365
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia coccinea
  ORGANISM  Thunbergia coccinea
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 567)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 567)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (05-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..567
                     /organism="Thunbergia coccinea"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="PW062"
                     /db_xref="taxon:85288"
                     /note="authority: Thunbergia coccinea Wall. ex D.Don"
     gene            <1..73
                     /gene="psbA"
     CDS             <1..73
                     /gene="psbA"
                     /codon_start=2
                     /transl_table=11
                     /product="photosystem II protein D1"
                     /protein_id="ALQ12305.1"
                     /db_xref="GI:957742366"
```

```
                     /translation="XMHERNAHNFPLDLAVLEAPTNG"
     misc feature    74..513
                     /note="psbA-trnH intergenic spacer"
     gene            complement(514..>567)
                     /gene="trnH"
     tRNA            complement(514..>567)
                     /gene="trnH"
                     /product="tRNA-His"
ORIGIN
        1 tnttatgcat gaacgtaatg ctcataactt ccctctagac ctagctgttc ttgaagctcc
       61 aacaaatgga taagacttag tctataggag tttttgaaaa gaaaattaaa aatataaggg
      121 gcaataaccc ttcttgatag aacaagaagg gggttattgc tccttaattt tatttttaat
      181 taatagtctt ttttagaaaa tattgtactc ccagactttt cttctttcca ttacagaata
      241 aagacagaca aggagttttg aagtgttaat taatgattaa gtattattct ttccttcttc
      301 atgaattatg aatttttgc atccgtctaa cttcttccca aaagattggg acatttttt
      361 tgttttgaac gttttaaaga taagataaaa aaatatctca aaacaaaaaa aagaagagaa
      421 atgattggaa ttcaaccttt tgtcttacaa tttcatttct aaaaaraaaa atanaattct
      481 attttttagc caattaaaan aaacanagta aggggcggat gtagccaagt ggatcaaggc
      541 agtggattgt gaatccacca tgcgcga
//
```

ตำแหน่ง *trn*L-*trn*F

```
LOCUS       KT075030                427 bp    DNA     linear   PLN 22-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia coccinea tRNA-Leu (trnL) gene, partial sequence;
            trnL-trnF intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Phe (trnF)
            gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT075030
VERSION     KT075030.1  GI:952984673
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia coccinea
  ORGANISM  Thunbergia coccinea
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 427)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 427)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (09-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
```

```
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..427
                     /organism="Thunbergia coccinea"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="PW062"
                     /db_xref="taxon:85288"
                     /note="authority: Thunbergia coccinea Wall. ex D.Don"
     gene            <1..23
                     /gene="trnL"
     tRNA            <1..23
                     /gene="trnL"
                     /product="tRNA-Leu"
     misc feature    24..373
                     /note="trnL-trnF intergenic spacer"
     gene            complement(374..>427)
                     /gene="trnF"
     tRNA            complement(374..>427)
                     /gene="trnF"
                     /product="tRNA-Phe"
ORIGIN
        1 tggttcaagt ccctctatcc ccaaaaaagc ttatttgact cccaattatc ctatacccct
       61 ttttcgttag cggttccaaa ttcctttatc tttctgattc tttgacaaac gtgtttgagc
      121 gtaaatgact ttctcttatg gcatgtgata tagaatgcac atccaaatta agcgaggaat
      181 ccctatttga atgagaatga ttcacaatca atagcattac tcatactgaa acttagaaag
      241 tcgtcttttt gaagatctaa gaaattacag tacttggaac tttgtaatcc tccccttggc
      301 cctttaattg acatagaccc cagtcatacc ataaaatgag catgggacgc ttcattggga
      361 atggtcggga tagctcagct ggtagagcag aggactgaaa atcctcgtgt caccagttca
      421 aataaag
//
```

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของ รางจืดต้นภูคา (*Thunbergia colpifera* B. Hansen)

ตำแหน่ง ITS2

```
LOCUS       KT004500                474 bp    DNA     linear   PLN 10-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia colpifera voucher BKF189465 5.8S ribosomal RNA gene,
            partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence;
            and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   KT004500
VERSION     KT004500.1  GI:948275629
KEYWORDS    .
SOURCE      Thunbergia colpifera
  ORGANISM  Thunbergia colpifera
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 474)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 474)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (01-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: Bioedit v. 7.0.8.0
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..474
                     /organism="Thunbergia colpifera"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189465"
                     /db_xref="taxon:1749377"
     rRNA            <1..97
                     /product="5.8S ribosomal RNA"
     misc_RNA        98..321
                     /product="internal transcribed spacer 2"
     rRNA            322..>474
                     /product="26S ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 tggtgtgaat tgcagaatcc cgtgaaccat cgagtctttg aacgcaagtt gcgcccgaag
       61 ccattaggcc gagggcacgt ctgcctgggc gtcacgcatc gcgtcgcccc cctccaccgc
      121 tccctcgagc gggcgcttgg ggggcggaga ttggcctccc gtgcgcacga gcgcgcggcc
      181 ggcccaaatg cgatccctcg gcgacgcacg tcacgaccag tggtggttga ggaatatcaa
      241 ctcgcgtgct gacagtcgtg caccacggcg tcgtccgttc gggcatcacg aacgacccaa
      301 cagcgcgagg cgctttcgac cgcgacccca ggtcaggcgg gatcacccgc tgagtttaag
      361 catatcaata agcggaggaa aagaaactta caaggattcc cctagtaacg gcgagcgaac
```

```
      421 cgggaatagc ccaacttgag aatcgggcgg cttcgccgtc cgaattgtag tctg
//
```

ตำแหน่ง *psb*A-*trn*H

```
LOCUS       KT161357                533 bp    DNA     linear   PLN 06-DEC-2015
DEFINITION  Thunbergia colpifera voucher BKF189465 photosystem II protein D1
            (psbA) gene, partial cds; psbA-trnH intergenic spacer, complete
            sequence; and tRNA-His (trnH) gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT161357
VERSION     KT161357.1  GI:957742367
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia colpifera
  ORGANISM  Thunbergia colpifera
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 533)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 533)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (05-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..533
                     /organism="Thunbergia colpifera"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189465"
                     /db_xref="taxon:1749377"
                     /note="authority: Thunbergia colpifera B.Hansen"
     gene            <1..73
                     /gene="psbA"
     CDS             <1..73
                     /gene="psbA"
                     /codon_start=2
                     /transl_table=11
                     /product="photosystem II protein D1"
                     /protein_id="ALQ12306.1"
                     /db_xref="GI:957742368"
```

```
                     /translation="VMHERNAHNFPLDLAAVEAPTNG"
     misc feature    74..480
                     /note="psbA-trnH intergenic spacer"
     gene            complement(481..>533)
                     /gene="trnH"
     tRNA            complement(481..>533)
                     /gene="trnH"
                     /product="tRNA-His"
ORIGIN
        1 tgttatgcat gaacgtaatg ctcataactt ccctctagac ctagctgctg ttgaagctcc
       61 cacaaatgga taagacttag tctataggag ttttttaaaa tagaatcgaa aaatataagg
      121 agcaataacc tacttcttgt tctatcaaga aaggttattg ctccttaatt ttcttttcaa
      181 ttagtagtat ttttttagaa atattgtact tccccatatc ttctttccat tacagaaaaa
      241 gaaagacaag ggattctgaa gtgttaatta atggttgagt attattattt cgttctccat
      301 tcatttttg catctatcta acttcttccc aaaagattgg gaaatttttt ttaacgttga
      361 agataaatca aatgattgga attcaacctt ttgtcttaca atttctaaaa aatataaatt
      421 gaaaaatcga attaaataat attaatattg tcaagtaaat taaaagaaaa tagtaagggg
      481 gcggatgtag ccaagtggat caaggcagtg gattgtgaat ccaccatgcg cga
//
```

ตำแหน่ง *trn*L-*trn*F

```
LOCUS       KT075031                399 bp    DNA     linear   PLN 22-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia colpifera tRNA-Leu (trnL) gene, partial sequence;
            trnL-trnF intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Phe (trnF)
            gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT075031
VERSION     KT075031.1  GI:952984674
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia colpifera
  ORGANISM  Thunbergia colpifera
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 399)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 399)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (09-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
```

```
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..399
                     /organism="Thunbergia colpifera"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189465"
                     /db_xref="taxon:1749377"
     gene            <1..24
                     /gene="trnL"
     tRNA            <1..24
                     /gene="trnL"
                     /product="tRNA-Leu"
     misc_feature    25..362
                     /note="trnL-trnF intergenic spacer"
     gene            complement(363..>399)
                     /gene="trnF"
     tRNA            complement(363..>399)
                     /gene="trnF"
                     /product="tRNA-Phe"
ORIGIN
        1 tgggttcaag atcctctatc cccaaaaagg cttgtttgac tcccaattat cctatcccct
       61 tttttcgtta gcggttccaa attcctttat ctttctgatt ctttgacaaa cgtatttggg
      121 cgtaaatgac tttctcttgg ggcatgtgat atagaatgcc catccaaatt aagtgaggaa
      181 tccctatttg aatgattcac aatcaataca tactgaaact tagaaagtcg tctttttgaa
      241 gatctaagaa attacaggac ttggaacttt gtaatcctcc ccttgtccct ttaattgaca
      301 tagaccccag tcatcccata aaatgaggat gggacgctgc attgggaatg gtcgggatag
      361 ctcagctggt agagcagagg actgaaaatc ctcgtgtca
//
```

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของ ช้องนาง (*Thunbergia erecta* (Benth.) T. Anderson)

ตำแหน่ง ITS2

```
LOCUS          Thunbergia     385 bp    DNA     linear       04-JUN-2015
DEFINITION     Thunbergia erecta (Benth.) T.Anderson 5.8S ribosomal RNA gene, partial
               sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S
               ribosomal RNA partial sequence.
SOURCE         chloroplast Thunbergia erecta (Benth.) T.Anderson
  ORGANISM     Thunbergia erecta (Benth.) T.Anderson
                       Unclassified.
REFERENCE      1  (bases 1 to 385)
  AUTHORS      Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
               Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE        DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
               the DNA Barcode Database
  JOURNAL      Unpublished
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..385
                     /organism=" Thunbergia erecta (Benth.) T.Anderson "
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189465"
                     /note="[intergenic wizard]"
     rRNA            <1..178
                     /product="5.8S ribosomal RNA"
     misc_RNA       179..<385
                     /product="internal transcribed spacer 2"
     ORIGIN

      1 ctcccaaaat gtcaaaaacg actctcgaca acggatatct cggctctcgc atcgatgaag
      61 aacgtagcga aatgcgatac ttggtgtgaa ttgcagaatc ccgtgaacca tcgagtcttt
      121 gaacgcaagt tgcgcccgaa gccatcaggc cgaaggcacg tctgcctggg cgtcacgcat
      181 cgcgtcgccc ccctccaccg cccgcaaact cgggccgtcg gggtgggggc ggagattggc
      241 ctcccgtgcg cactggcgcg cggacggccc aaatgggatc ccccggcggc gcaattcacg
      301 gccagtggtg gttgaagaca tcaactcgcg tgctgtcagc cgtgcacaac cgcttcgcgt
      361 ccgggcaccg tcaacaacca tcggc

//
```

ตำแหน่ง *psb*A-*trn*H

```
LOCUS       KT161358                555 bp    DNA     linear   PLN 06-DEC-2015
DEFINITION  Thunbergia erecta voucher BKF188899 photosystem II protein D1
            (psbA) gene, partial cds; psbA-trnH intergenic spacer, complete
            sequence; and tRNA-His (trnH) gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT161358
VERSION     KT161358.1  GI:957742369
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia erecta
  ORGANISM  Thunbergia erecta
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 555)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 555)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
```

```
  JOURNAL   Submitted (05-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..555
                     /organism="Thunbergia erecta"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF188899"
                     /db_xref="taxon:76287"
                     /note="authority: Thunbergia erecta (Benth.) T.Anderson"
     gene            <1..67
                     /gene="psbA"
     CDS             <1..67
                     /gene="psbA"
                     /codon_start=2
                     /transl_table=11
                     /product="photosystem II protein D1"
                     /protein_id="ALQ12307.1"
                     /db_xref="GI:957742370"
                     /translation="ERNAHNFPLDLAAIEAPSTNG"
     misc_feature    68..501
                     /note="psbA-trnH intergenic spacer"
     gene            complement(502..>555)
                     /gene="trnH"
     tRNA            complement(502..>555)
                     /gene="trnH"
                     /product="tRNA-His"
ORIGIN
        1 tgaacgtaat gctcacaact tccctctaga cctagctgct atcgaagctc catctacaaa
       61 tggataagat ccagtctagt ctataggacg ttttgaaaat aaaataaagg agcaatagca
      121 ccctcttgat agaacaagaa agtgattatt gctcctttat ttattctttt tatttatttt
      181 atttactagt attttatagt attttactta catagacttt tttttacatt atagaataga
      241 aaaaggagga gagggcttgc atttattcat gattgagtat tctattttga ttttctattg
      301 attcaaattt aaaatttgta gaaatcaaac ttgttcttct tgttgctaat gctactatat
      361 ctttttgatt ttgattttaa aacaaaaaaa tcgaaatttt acttcatatt tttatctttg
      421 aaataagaaa gaagagaaat attcgaactt aaacctttg ttttcttttc taatgtaaaa
      481 atgggattaa gtaggcgagg gggcggatgt agccaagtgg atcaaggcag tggattgtga
      541 atccaccatg cgcga
//
```

ตำแหน่ง *trn*L-*trn*F

```
LOCUS       KT075032                415 bp    DNA     linear   PLN 22-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia erecta tRNA-Leu (trnL) gene, partial sequence; trnL-trnF
            intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Phe (trnF) gene,
            partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT075032
VERSION     KT075032.1  GI:952984675
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia erecta
  ORGANISM  Thunbergia erecta
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 415)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 415)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (09-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..415
                     /organism="Thunbergia erecta"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF188899"
                     /db_xref="taxon:76287"
                     /note="authority: Thunbergia erecta (Benth.) T.Anderson"
     gene            <1..12
                     /gene="trnL"
     tRNA            <1..12
                     /gene="trnL"
                     /product="tRNA-Leu"
     misc feature    13..360
                     /note="trnL-trnF intergenic spacer"
     gene            complement(361..>415)
                     /gene="trnF"
     tRNA            complement(361..>415)
                     /gene="trnF"
                     /product="tRNA-Phe"
```

```
ORIGIN
        1 gttggttcaa gtccctctat ccccaaaaaa gcttatttga ctcccaatta tcctatcccc
       61 ttttttcgtt agcggttcca aattccttta tctttctgat tctttgacaa acgtatttgg
      121 gcgtaaatga ctttctctta tggcatgtga tatagaatgc acatccaaat taagtgagga
      181 atctctattt gaatgagaat gattcacaat caatagcatt actcatactg aaacttagaa
      241 agtcgtcttt ttgaagatct aagaaattac agtacttgga actttgtaat cctccccttg
      301 gccctttaat tgacatagac cccagtcata ccataaaatg aggatgggac gctgcattgg
      361 gaatggtcgg gatagctcag ctggtagagc agaggactga aaatcctcgt gtcac
//
```

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของ หูปากกา (*Thunbergia fragrans* Roxb.)

ตำแหน่ง ITS2

```
LOCUS       KT004501                418 bp    DNA     linear   PLN 10-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia fragrans voucher BKF189466 5.8S ribosomal RNA gene,
            partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence;
            and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   KT004501
VERSION     KT004501.1  GI:948275630
KEYWORDS    .
SOURCE      Thunbergia fragrans
  ORGANISM  Thunbergia fragrans
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 418)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 418)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (01-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: Bioedit v. 7.0.8.0
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..418
                     /organism="Thunbergia fragrans"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189466"
                     /db xref="taxon:504047"
     rRNA            <1..71
                     /product="5.8S ribosomal RNA"
     misc RNA        72..300
                     /product="internal transcribed spacer 2"
     rRNA            301..>418
                     /product="26S ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 acccactcga gtttgaagtc aagttgcgcc cgaagcctta ggccgagggc acgtctgcct
       61 gggcgtcacg catcgcgtcg ccccccctcc atagcccgca ccgccgggcg ctcggggcgg
      121 gggcggatat tggcctcccg tgcgcgcgag cgtgcggccg gcccaaattg gatccctcgg
      181 cggcgcacgt cacggccagt ggtggttgag cacatcaact atcgtgctga cagccgtgcg
      241 cgcgaccgcg tcgccgtccg ggaaccggga acgacccaat ggcgcgttgc gccttcgacc
      301 gcgaccccag gtcaggcggg atcacccgct gagtttaagc atatcaataa gcggaggaaa
      361 agaaacttac aaggattccc ctagtaacgg cgagcgaacc gggaatagcc caactgag
```

ตำแหน่ง *psb*A-*trn*H

```
LOCUS       KT161375                425 bp    DNA     linear   PLN 06-DEC-2015
DEFINITION  Thunbergia fragrans voucher BKF189466 psbA-trnH intergenic spacer
            and tRNA-His (trnH) gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT161375
VERSION     KT161375.1  GI:957742402
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia fragrans
  ORGANISM  Thunbergia fragrans
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 425)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 425)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (15-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..425
                     /organism="Thunbergia fragrans"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189466"
                     /db_xref="taxon:504047"
                     /note="authority: Thunbergia fragrans Roxb."
     misc feature    <1..420
                     /note="psbA-trnH intergenic spacer"
     gene            complement(421..>425)
                     /gene="trnH"
     tRNA            complement(421..>425)
                     /gene="trnH"
                     /product="tRNA-His"
ORIGIN
        1 ggagtttttg aaaagaaaat gaaaaataga aggggcaata gcccttcttg atagaacaag
       61 aaggaggtta ttgctccttc attttctttt gaattaggag tatttttttа gaaatattgt
      121 actcccagac ttttcttctt tccattacag aataaagaaa gacaagggat tttgaagtgt
      181 taattaacga ttcagtatta ttattttctt ctccatgaat tatgaatttt ttgcatccgt
      241 ctaacttctt cccaaaggat tgggacattt ttttttaac gttttaaaga taagagaaaa
```

```
      301 aaatatctca gaacaaaaaa aaagaagata aatgattgga attcaacctt ttgtcttaca
      361 atttcatttt ttttataaat gaaattccat tttttagcca attaaaagaa aagagtaatg
      421 ggcgg
//
```

ตำแหน่ง *trn*L-*trn*F

```
LOCUS       KT075033                428 bp    DNA     linear   PLN 22-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia fragrans tRNA-Leu (trnL) gene, partial sequence;
            trnL-trnF intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Phe (trnF)
            gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT075033
VERSION     KT075033.1  GI:952984676
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia fragrans
  ORGANISM  Thunbergia fragrans
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 428)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 428)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (09-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..428
                     /organism="Thunbergia fragrans"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189466"
                     /db_xref="taxon:504047"
                     /note="authority: Thunbergia fragrans Roxb."
     gene            <1..25
                     /gene="trnL"
     tRNA            <1..25
                     /gene="trnL"
                     /product="tRNA-Leu"
     misc feature    26..375
                     /note="trnL-trnF intergenic spacer"
```

```
     gene            complement(376..>428)
                     /gene="trnF"
     tRNA            complement(376..>428)
                     /gene="trnF"
                     /product="tRNA-Phe"
ORIGIN
        1 ttggttcaag gtccctctat ccccaaaaaa gcttatttga ctcccaatta tcctaccccc
       61 ctttttcgtt agcggttcca aattccttta tctttctgat tctttgacaa acgtgtttgg
      121 gcgtaaatga ctttctctta tggcatatga tatagaacgc acatccaaat taagcgagga
      181 atccctattt gaatgagaat gattcacaat caatagcatt actcatactg aaacttagaa
      241 agtcgtcttt ttgaagatct aagaaattac agtacttgga actttgtaat cctccccttg
      301 gccctttaat tgacatagac cccagtcata ctataaaatg aggatgggac gctgcattgg
      361 gaatggtcgg gatagctcag ctggtagagc agaggactga aaatcctcgt gtcacagttc
      421 aaataatg
//
```

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของ สร้อยอินทนิล (*Thunbergia grandiflora* (Roxb. ex Rottler) Roxb.)

ตำแหน่ง ITS2

```
LOCUS       KT004502                486 bp    DNA     linear   PLN 10-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia grandiflora voucher PW072 5.8S ribosomal RNA gene,
            partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence;
            and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   KT004502
VERSION     KT004502.1  GI:948275631
KEYWORDS    .
SOURCE      Thunbergia grandiflora
  ORGANISM  Thunbergia grandiflora
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 486)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 486)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (01-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: Bioedit v. 7.0.8.0
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..486
                     /organism="Thunbergia grandiflora"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="PW072"
                     /db_xref="taxon:504049"
     rRNA            <1..107
                     /product="5.8S ribosomal RNA"
     misc_RNA        108..333
                     /product="internal transcribed spacer 2"
     rRNA            334..>486
                     /product="26S ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 atgcgatact tggtgtgaat tgcaggatcc cgtgaaccat cgagtctttg aacgcaagtt
       61 gcgcccgaag ccattaggcc gagggcacgt ctgcctgggc gtcacgcatc gcgtcgcccc
      121 ccctccatcg cccgcgcggc cgggcggtgg gagcggggcg gagattggcc tcccgtgagc
      181 gcgagcgcgc ggacggccca aatcggatcc cccggcggcg caagtcacgg ccagtggtgg
      241 ttgaggacat caactctcgt gctgacagcc gtgcgccacc gcgtcgcctt cgggcatcgg
      301 aaacgaccca acggcgcact cgcgccttcg accgcgaccc caggtcaggc gggatcaccc
      361 gctgagttta agcatatcaa taagcggagg aaaagaaact tacaaggatt cccctagtaa
```

```
      421 cggcgagcga accgggaata gcccaacttg agaatcgggc ggccacgccg ttcgaattgt
      481 agtctg
//
```

ตำแหน่ง *psb*A-*trn*H

```
LOCUS       KT161359                567 bp    DNA     linear   PLN 06-DEC-2015
DEFINITION  Thunbergia grandiflora voucher PW072 photosystem II protein D1
            (psbA) gene, partial cds; psbA-trnH intergenic spacer, complete
            sequence; and tRNA-His (trnH) gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT161359
VERSION     KT161359.1  GI:957742371
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia grandiflora
  ORGANISM  Thunbergia grandiflora
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 567)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 567)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (05-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..567
                     /organism="Thunbergia grandiflora"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="PW072"
                     /db_xref="taxon:504049"
     gene            <1..73
                     /gene="psbA"
     CDS             <1..73
                     /gene="psbA"
                     /codon_start=2
                     /transl_table=11
                     /product="photosystem II protein D1"
                     /protein_id="ALQ12308.1"
                     /db_xref="GI:957742372"
                     /translation="XMHERNAHNFPLDLAVLEAPTNG"
```

```
     misc feature    74..513
                     /note="psbA-trnH intergenic spacer"
     gene            complement(514..>567)
                     /gene="trnH"
     tRNA            complement(514..>567)
                     /gene="trnH"
                     /product="tRNA-His"
ORIGIN
        1 tnttatgcat gaacgtaatg ctcataactt ccctctagac ctagctgttc ttgaagctcc
       61 aacaaatgga taagacttag tctataggag tttttgaaaa taaaattaaa aatataaggg
      121 gcaataaccc ttcttgatag aacaagaagg gggttattgc tccttaattt tcttttgaat
      181 taatagtctt tttttagaaa tattgtactc ccagactttt nttctttcca ttacagaata
      241 aagacagaca aggagttttg aagtgttaat taatgattaa gtattattct ttccttcttc
      301 atgaattatg aatttttttgc atccgtctaa cttcttccca aaagattggg acatttttttt
      361 tgttttgaac gttttaaaga taagataaaa aaatatctca aaacaaaaaa aagaagagaa
      421 atgattggaa ttcaaccttt tgtcttacaa tttcatttct aaaaanaaaa attgaattct
      481 attttttagc caattaaaan aaacanagta aggggcggat gtagccaagt ggatcaaggc
      541 agtggattgt gaatccacca tgcgcga
//
```

ตำแหน่ง *trn*L-*trn*F

```
LOCUS       KT075034                422 bp    DNA     linear   PLN 22-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia grandiflora tRNA-Leu (trnL) gene, partial sequence;
            trnL-trnF intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Phe (trnF)
            gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT075034
VERSION     KT075034.1  GI:952984677
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia grandiflora
  ORGANISM  Thunbergia grandiflora
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 422)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 422)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (09-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
```

```
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..422
                     /organism="Thunbergia grandiflora"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="PW072"
                     /db_xref="taxon:504049"
     gene            <1..22
                     /gene="trnL"
     tRNA            <1..22
                     /gene="trnL"
                     /product="tRNA-Leu"
     misc_feature    23..372
                     /note="trnL-trnF intergenic spacer"
     gene            complement(373..>422)
                     /gene="trnF"
     tRNA            complement(373..>422)
                     /gene="trnF"
                     /product="tRNA-Phe"
ORIGIN
        1 tggttcaant cctctatccc caaaaaagct tatttgactc ccaattatcc tatacccttt
       61 tttcgttagc ggttccaaat tcctttatct ttctgattct ttgacaaacg tgtttgagcg
      121 taaatgactt tctcttatgg catgtgatat agaatgcaca tccaaattaa gcgaggaatc
      181 cctatttgaa tgagaatgat tcacaatcaa tagcattact catactgaaa cttagaaagt
      241 cgtctttttg aagatctaag aaattacagt acttggaact ttgtaatcct ccccttggcc
      301 ctttaattga catagacccc agtcatacca taaaatgagc atgggacgct tcattgggaa
      361 tggtcgggat agctcagctg gtagagcaga ggactgaaaa tcctcgtgtc acaggttcaa
      421 aa
//
```

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของ น้ำแน่ดง (*Thunbergia hossei* C.B.Clarke)

ตำแหน่ง ITS2

```
LOCUS       KT004503                481 bp    DNA     linear   PLN 10-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia hossei voucher PW049 5.8S ribosomal RNA gene, partial
            sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   KT004503
VERSION     KT004503.1  GI:948275632
KEYWORDS    .
SOURCE      Thunbergia hossei
  ORGANISM  Thunbergia hossei
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 481)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 481)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (01-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: Bioedit v. 7.0.8.0
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..481
                     /organism="Thunbergia hossei"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="PW049"
                     /db_xref="taxon:1749378"
     rRNA            <1..99
                     /product="5.8S ribosomal RNA"
     misc_RNA        100..327
                     /product="internal transcribed spacer 2"
     rRNA            328..>481
                     /product="26S ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 actggtgtga attgcaggat cccgtgaacc atcgagtctt tgaacgcaag ttgcgcccga
       61 agccattagg ccgagggcac gtctgcctgg gcgtcacgca tcgcgtcgcc cccctcccac
      121 gcccgcacgg ccgggcggcg ggagcggggg cggagattgg cctcccgtgc gcacgagcgc
      181 gcggacggcc caaatcggat cccccggcgg cgcaagtcac ggccagtggt ggttgaggac
      241 atcgactctc gtgctgacag ccgtgcacaa ccgcgtcgcc tctcgggaac cgggaacgac
      301 ccatcggcgc actcgcgcct tcgacggcga ccccaggtca ggcgggatca cccgctgagt
      361 ttaagcatat caataagcgg aggaaaagaa acttacaagg attcccctag taacggcgag
```

```
      421 cgaaccggga atagcccaac ttgagaatcg ggcggccacg ccgttcgaat tgtagtctgg
      481 a
//
```

ตำแหน่ง *psb*A-*trn*H

```
LOCUS       KT161376                482 bp    DNA     linear   PLN 06-DEC-2015
DEFINITION  UNVERIFIED: Thunbergia hossei voucher PW049 photosystem II protein
            D1-like (psbA) gene, partial sequence; psbA-trnH intergenic spacer,
            complete sequence; and tRNA-His (trnH) gene, partial sequence;
            chloroplast.
ACCESSION   KT161376
VERSION     KT161376.1  GI:957742403
KEYWORDS    UNVERIFIED.
SOURCE      chloroplast Thunbergia hossei
  ORGANISM  Thunbergia hossei
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 482)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 482)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (15-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation
            provided by the submitter.

            ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..482
                     /organism="Thunbergia hossei"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="PW049"
                     /db_xref="taxon:1749378"
                     /note="authority: Thunbergia hossei C.B.Clarke"
     gene            <1..28
                     /gene="psbA"
     misc feature    <1..28
                     /gene="psbA"
```

```
                     /note="similar to photosystem II protein D1"
     misc feature    29..476
                     /note="psbA-trnH intergenic spacer"
     gene            complement(477..>482)
                     /gene="trnH"
     tRNA            complement(477..>482)
                     /gene="trnH"
                     /product="tRNA-His"
ORIGIN
        1 gctgctgttg agctccacaa atggataaga cttagtctag tctataggag tttttgaaaa
       61 gaaaatcaaa aatataaggg gcaatagccc ttcttgatag aacaagaagg aggttattgc
      121 tccttaattt tcttttgaat taatagtctt tttttagaaa tattgtactc ccagactttt
      181 cttctttcca ttacagaata aagacagaca aggagttttg aagtgttaat taatgattaa
      241 gtattattct ttccttcttc atgaattatg aatttttttgc atccgtctaa cttcttccca
      301 aaagattggg acatttttttt ttgttttgag atatttttttt atcttatctt taaaacgttc
      361 aaaacaaaaa aaaaagaaga gaaatgaatg gaattcaacc ttttgtctta caatttcatt
      421 tctaaaaaga aaaatttaat tctatttttt agccaattaa aagaaacaga gtaaggggcg
      481 ga
//
```

ตำแหน่ง *trn*L-*trn*F

```
LOCUS       KT075035                397 bp    DNA     linear   PLN 22-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia hossei tRNA-Leu (trnL) gene, partial sequence; trnL-trnF
            intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Phe (trnF) gene,
            partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT075035
VERSION     KT075035.1  GI:952984678
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia hossei
  ORGANISM  Thunbergia hossei
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 397)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 397)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (09-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
```

```
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..397
                     /organism="Thunbergia hossei"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="PW049"
                     /db_xref="taxon:1749378"
     gene            <1..12
                     /gene="trnL"
     tRNA            <1..12
                     /gene="trnL"
                     /product="tRNA-Leu"
     misc_feature    13..357
                     /note="trnL-trnF intergenic spacer"
     gene            complement(358..>397)
                     /gene="trnF"
     tRNA            complement(358..>397)
                     /gene="trnF"
                     /product="tRNA-Phe"
ORIGIN
        1 cctctatccc cagcttattt gactcccaat tatcctatac ccttttttcg ttagcggttc
       61 caaattcctt tatctttctg attctttgac aaacgtgttt gagcgtaaat gactttctct
      121 tatggcatgt gatatagaat gcacatccaa attaagcgag gaatccctat ttgaatgaga
      181 atgattcaca atcaatagca ttactcatac tgaaacttag aaagtcgtct ttttgaagat
      241 ctaagaaatt acagtacttg gaactttgta atcctcccct tggcccttta attgacatag
      301 accccagtca taccataaaa tgagcatggg acgcttcatt gggaatggtc gggatagctc
      361 agctggtaga gcagaggact gaaaatcctc gtgtcac
//
```

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของ รางจืด (*Thunbergia laurifolia* Lindl.)

ตำแหน่ง ITS2

```
LOCUS       KT004504                488 bp    DNA     linear   PLN 10-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia laurifolia voucher BKF189449 5.8S ribosomal RNA gene,
            partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence;
            and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   KT004504
VERSION     KT004504.1  GI:948275633
KEYWORDS    .
SOURCE      Thunbergia laurifolia
  ORGANISM  Thunbergia laurifolia
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 488)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 488)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (01-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: Bioedit v. 7.0.8.0
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..488
                     /organism="Thunbergia laurifolia"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189449"
                     /db xref="taxon:504053"
     rRNA            <1..108
                     /product="5.8S ribosomal RNA"
     misc RNA        109..334
                     /product="internal transcribed spacer 2"
     rRNA            335..>488
                     /product="26S ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 ttatgcgata cttggtgtga attgcaggat cccgtgaacc atcgagtctt tgacgcaagt
       61 tgcgcccgaa gccattaggc cgagggcacg tctgcctggg cgtcacgcat cgcgtcgccc
      121 cccctccatc gcccgcacgg ccgggcggtg ggagcggggc ggagattggc ctcccgtgag
      181 cacgagcgcg cggacggccc aaatcggatc ccccggcggc gcaagtcacg gccagtggtg
      241 gttgaggaca tcaactctcg tgctgacagc cgtgcgccac cgcgtcgcct tcgggcatcg
      301 aaaacgaccc aacggcgcac tcgcgccttc gaccgggacc ccaggtcagg cgggatcacc
      361 cgctgagttt aagcatatca ataagcggag gaaaagaaac ttacaaggat tcccctagta
```

```
      421 acggcgagcg aaccgggaat agcccaactt gagaatcggg cggccacgcc gttcgaattg
      481 tagtctga
//
```

ตำแหน่ง *psb*A-*trn*H

```
LOCUS       KT161377                535 bp    DNA     linear   PLN 06-DEC-2015
DEFINITION  Thunbergia laurifolia voucher BKF189449 photosystem II protein D1
            (psbA) gene, partial cds; psbA-trnH intergenic spacer, complete
            sequence; and tRNA-His (trnH) gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT161377
VERSION     KT161377.1  GI:957742404
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia laurifolia
  ORGANISM  Thunbergia laurifolia
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 535)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 535)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (15-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..535
                     /organism="Thunbergia laurifolia"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189449"
                     /db_xref="taxon:504053"
     gene            <1..61
                     /gene="psbA"
     CDS             <1..61
                     /gene="psbA"
                     /codon_start=2
                     /transl_table=11
                     /product="photosystem II protein D1"
                     /protein_id="ALQ12323.1"
                     /db_xref="GI:957742405"
                     /translation="RNAHNFPLDLAVLEAPTNG"
```

```
     misc feature    62..493
                     /note="psbA-trnH intergenic spacer"
     gene            complement(494..>535)
                     /gene="trnH"
     tRNA            complement(494..>535)
                     /gene="trnH"
                     /product="tRNA-His"
ORIGIN
        1 acgtaatgct cataacttcc ctctagacct agctgttctt gaagctccaa caaatggata
       61 agacttaatc tataggagtt tttgaaaaga aaattaaggg gaaaaaaccc ttcttgatag
      121 aacaagaagg gggttattgc tccttaattt tcttttcaat taatagtctt tttttagaaa
      181 tattgtactc ccagactttt cttctttcca ttacagaata aagacagaca aggagttttg
      241 aagtgttaat taatgattaa gtattattct ttccttcttc atgaattatg aatttttttgc
      301 atccgtctaa cttcttccca aaagattggg acatttttttt tgttttgaac gttttaaaga
      361 taagataaaa aaatatctca aaacaaaaaa aagaagagaa atgattggaa ttcaacctttt
      421 tgtcttacaa tttcatttct aaaaagaaaa atagaattct atttttttagc caattaaaag
      481 aaacagagta aagggcggat gtagccaagt ggatcaaggc agtggattgt gaatc
//
```

ตำแหน่ง *trn*L-*trn*F

```
LOCUS       KT075036                413 bp    DNA     linear   PLN 22-NOV-2015
DEFINITION  Thunbergia laurifolia tRNA-Leu (trnL) gene, partial sequence;
            trnL-trnF intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Phe (trnF)
            gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION   KT075036
VERSION     KT075036.1  GI:952984679
KEYWORDS    .
SOURCE      chloroplast Thunbergia laurifolia
  ORGANISM  Thunbergia laurifolia
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
            Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Acanthaceae;
            Thunbergioideae; Thunbergia.
REFERENCE   1  (bases 1 to 413)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     DNA Barcoding of Medicinal Plants in Thailand and Development of
            the DNA Barcode Database
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 413)
  AUTHORS   Wongakson,P., Prommanee,W., Powthongchin,B., Pamonsinlapatham,P.,
            Lertnatee,V., Chomya,S. and Rungpragayphan,S.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (09-JUN-2015) Faculty of Pharmacy, Silpakorn University,
            6, Rajamankha Nai Rd., Amphoe Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Assembly Method       :: bioedit v. 7.0.8.0
            Coverage              :: alignment
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
```

```
     source          1..413
                     /organism="Thunbergia laurifolia"
                     /organelle="plastid:chloroplast"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /specimen_voucher="BKF189449"
                     /db_xref="taxon:504053"
     gene            <1..23
                     /gene="trnL"
     tRNA            <1..23
                     /gene="trnL"
                     /product="tRNA-Leu"
     misc feature    24..373
                     /note="trnL-trnF intergenic spacer"
     gene            complement(374..>413)
                     /gene="trnF"
     tRNA            complement(374..>413)
                     /gene="trnF"
                     /product="tRNA-Phe"
ORIGIN
        1 tggttcaagc tcctctatcc ccaaaaaagc ttatttgact cccaattatc ctatacccct
       61 ttttcgttag cggttccaaa ttcctttatc tttctgattc tttgacaaac gtgtttgagc
      121 gtaaatgact ttctcttatg gcatgtgata tagaatgcac atccaaatta agcgaggaat
      181 ccctatttga atgagaatga ttcacaatca atagcattac tcatattgaa acttagaaag
      241 tcgtcttttt gaagatctaa gaaattacag tacttggaac tttgtaatcc tccccttggc
      301 cctttaattg acatagaccc cagtcatacc ataaaatgag catgggacgc ttcattggga
      361 atggtcggga tagctcagct ggtagagcag aggactgaaa atcctcgtgt cac
//
```

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 13 แสดง GenBank accession numbers ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในฐานข้อมูล GenBank

	สกุล (Genus)	ชนิด (Species)	GenBank accession numbers		
			ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
1	*Acanthus*	*Acanthus ebracteatus* Vahl	-	KT161333	KT074993
		A. mollis L.	KT004468	KT161334	KT074994
2	*Andrographis*	*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees	-	KT161335	KT074995
3	*Asystasia*	*Asystasia gangetica* (L.) T.Anderson	-	KT161336	KT074996
		A. newmorum Nees	KT004469	KT161337	KT074997
4	*Avicennia*	*Avicennia marina* (Forssk.) Vierh.	KT004470	KT161361	KT074998
		A. officinalis L.	KT004471	KT161360	KT074999
5	*Barleria*	*Barleria cristata* L.	KT004472	KT161338	KT075000
		B. lupulina Lindl.	KT004473	KT161362	KT075001
		B. prionitis L.	KT004474	KT161339	KT075002
		B.repens Nees	KT004475	KT161363	KT075003
		B. strigosa Willd.	KT004476	KT161364	KT075004
6	*Clinacanthus*	*Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau	KT004477	KT161340	KT075005
		C. siamensis Bremek.	-	KT161341	KT075006
7	*Crossandra*	*Crossandra infundibuliformis* Nees	-	-	KT075007
8	*Eranthemum*	*Eranthemum tetragonum* A. Dietr ex Nees	KT004478	-	KT075008

ตารางที่ 13 แสดง GenBank accession numbers ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในฐานข้อมูล GenBank (ต่อ)

	สกุล (Genus)	ชนิด (Species)	GenBank accession numbers		
			ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
9	*Graptophyllum*	*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.	KT004479	KT161365	-
10	*Hemigraphis*	*Hemigraphis repanda* Hallier f.	-	KT161366	KT075009
		H. reptans T. Anderson ex Hemsl.	-	-	KT075010
11	*Justicia*	*Justicia betonica* L.	KT004480	KT161367	KT075011
		J. candicans (Nees) L.D.Benson	KT004481	KT161342	KT075012
		J. gendarussa Burm. f.	KT004482	KT161343	KT075013
		J. valida Ridl. var. *glandulosa* Fisch.	KT004483	KT161368	KT075014
12	*Lepidagathis*	*Lepidagathis incurva* Buch.-Ham. ex D.Don	KT004484	-	-
13	*Megaskepasma*	*Megaskepasma erythrochlamys* Lindau	KT004485	KT161344	-
14	*Peristrophe*	*Peristrophe hyssopifolia* Merr.	KT004487	KT161346	KT075016
		P. lanceolaria (Roxb.) Nees	-	KT161347	KT075017
15	*Phlogacanthus*	*Phlogacanthus curviflorus* Nees	KT004488	KT161369	KT075018
16	*Pseuderanthemum*	*Pseuderanthemum atropurpureum* Radlk.	-	KT161348	-
		P. graciliflorum (Nees) Ridl.	KT004489	KT161349	KT075019
		P. reticulatum (Hook. f.) Radlk.	KT004490	KT161350	KT075020
17	*Rhinacanthus*	*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz	-	KT161351	-

ตารางที่ 13 แสดง GenBank accession numbers ของพืชวงศ์เหงือกปลาหมอในฐานข้อมูล GenBank (ต่อ)

	สกุล (Genus)	ชนิด (Species)	GenBank accession numbers		
			ITS2	*psb*A-*trn*H	*trn*L-*trn*F
18	*Ruellia*	*Ruellia amoena* L.	KT004491	KT161370	KT075021
		R. repens L.	KT004492	KT161352	KT075022
		R. simplex C.Wright	-	-	KT075023
		R. tuberosa L.	KT004493	KT161353	KT075024
19	*Rungia*	*Rungia pectinata* Nees	KT004494	KT161371	-
20	*Ruttyruspolia*	*× Ruttyruspolia* A.Meeuse & de Wet	KT004505	-	KT075037
21	*Strobilanthes*	*Strobilanthes auriculata* Bremek.	KT004495	KT161372	KT075025
		S. cusia (Nees) Kuntze	KT004496	KT161373	KT075026
		S. hamiltoniana (Steud.) Bosser & Heine	KT004497	KT161354	KT075027
		S. persicifolia (Lindl.) J. R. I.Wood	-	KT161374	KT075028
22	*Thunbergia*	*Thunbergia alata* Boj. ex Sims.	KT004498	KT161355	KT075029
		T. coccinea Wall. ex D. Don	KT004499	KT161356	KT075030
		T. colpifera B. Hansen	KT004500	KT161357	KT075031
		T. erecta (Benth.)	-	KT161358	KT075032
		T. fragrans Roxb.	KT004501	KT161375	KT075033
		T. grandiflora (Roxb. ex Rottler) Roxb.	KT004502	KT161359	KT075034
		T. hossei C. B. Clarke	KT004503	KT161376	KT075035

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล นางสาวปิยาภรณ์ วงศ์อักษร

ที่อยู่ 57 หมู่ 13 ตำบลสระพัฒนา อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2553 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม

พ.ศ. 2555 ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม

การนำเสนอผลงาน

1. **ปิยาภรณ์ วงศ์อักษร** บุษบา พลภักดี สรวง รุ่งประกายพรรณ “การวิเคราะห์ลำดับเบสส่วน ITS2 ของสกุลรางจืดเพื่อประโยชน์ในการพิสูจน์เอกลักษณ์” การประชุมวิชาการประจำปีการแพทย์แผนไทย การแพทย์พื้นบ้านไทย และการแพทย์ทางเลือกแห่งชาติ ครั้งที่ 10 ระหว่างวันที่ 4-6 กันยายน 2556 ณ ศูนย์แสดงสินค้าและการประชุมอิมแพ็ค เมืองทองธานี จังหวัดนนทบุรี.
   (รางวัลชมเชย การนำเสนอผลงานทางวิชาการแบบโปสเตอร์ กลุ่มผลงานวิชาการทั่วไป)
2. **Piyaporn wongakson** “Evaluation of Potential DNA Barcodes for Identifying *Thunbergia* spp.” The 1st Internationnal Conference on Herbal and Traditional Medicine”, January 28-30, 2015, Pullman Khon Kaen Raja Orchid Hotel, Khon Kaen, Thailand.
   (The Best Poster Presentation)
3. **Piyaporn Wongakson**, Suang Rungpragayphan, Busaba Powthongchin. (2015). Evaluation of Potential DNA Barcodes for Identifying *Thunbergia* spp.. **Isan Journal of Pharmaceutical Sciences.** 10 (Supplement): 147-159.