รายงานการวิจัย

การศึกษาคุณสมบัติทางยาสมุนไพรของพืชสกุลพริกไทยในประเทศไทย

Study on Traditional Medicine Properties of the Genus *Piper* in Thailand

รศ.ดร.อรุณรัตน์ ฉวีราช

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554

(โครงการวิจัยต่อเนื่อง 2 ปี ปีนี้เป็นปีที่ 1)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนโครงการวิจัย ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 จากมหาวิทยาลัยขอนแกน

อรุณรัตน์ ฉวีราช, รุ่งลาวัลย์ สุดมูล, ธวัดชัย ธานี, โกวิท น้อยโคตร และฉัตรทอง เจือจันทร์. 2554. การศึกษาคุณสมบัติทางยาสมุนไพรของพืชสกุลพริกไทยในประเทศไทย. รายงานการวิจัย. ทุนอุดหนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บทคัดย่อ

พืชสกุลพริกไทย (genus *Piper*) ชนิดที่เกิดในป่าหรือไม่ระบุชนิด มักมีชื่อเรียกทั่วไปว่า สะค้าน จะค่าน หรือตะค้าน ซึ่งมีการนำมาใช้ประโยชน์หลายประการ รับประทานเป็นผัก นำมาปรุงอาหาร ใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้าน ปลูกเป็นไม้ประดับ และใช้ในพิธีกรรมต่างๆ การนำมาใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้านในตำรับยาต่างๆ นั้น จำเป็นอย่างยิ่งต้องระบุชนิดให้ชัดเจน งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาชนิดและการใช้ประโยชน์ของพืชสกุลพริกไทยในท้องถิ่นทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยการสังเกต สำรวจ และสัมภาษณ์ชาวบ้าน หมอยาพื้นบ้านและผู้จำหน่ายยาแผนโบราณ แล้วจึงเก็บตัวอย่างพืชทั้งจากป่า ชุมชน และร้านขายยามาระบุชนิด เพื่อบันทึกข้อมูลเหล่านี้ไว้และเผยแพร่ให้เป็นประโยชน์ต่อสาธารณชน ในช่วงปีแรกของงานวิจัยได้ศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้อง และเดินทางสำรวจบางส่วนในทุกภูมิภาค ได้ 14 จังหวัด รวมทั้งหมด 19 แหล่ง พร้อมกับเก็บตัวอย่างพืชจากป่าและจากร้านขายยามาระบุชนิด พบว่าชนิดที่มีการใช้ในทางยาสมุนไพร ได้แก่ พลู (*P. betle* L.) พริกไทย (*P. nigrum* L.) ชะพลู (*P. sarmentosum* Roxb.) ดีปลี (*P. retrofractum* Vahl) พริกหาง (*P. longum* L.) พลูป่า (*P. rubroglandulosum* Chaveer. & Mokkamul) และสะค้านลูกใหญ่ (*P. protrusum* Chaveer. & Tanee) โดยมีสรรพคุณหลายประการ เช่น แก้ปวดฟัน แก้ปวดท้อง แก้ลมพิษ ขับลม ขับเสมหะ บำรุงธาตุ บำรุงหัวใจ และบำรุงโลหิต นอกจากนี้ยังได้สร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดสำหรับบางตัวอย่างที่สำคัญไว้ด้วย ข้อมูลทุกอย่างได้นำมาประมวลผลและรวบรวมเขียนเป็นงานวิจัยเพื่อส่งตีพิมพ์

Arunrat Chaveerach, Runglawan Sudmoon, Tawatchai Tanee, Kowit Noikotr and Chattong Chuachan. 2011. Study on traditional medicine properties of the genus *Piper* in Thailand. Research. Khon Kaen University Research Fund.

Abstract

Several wild or unidentified species in the genus *Piper* are usually called *sakhan*, *jakhan* or *takhan*. They are widely used as vegetables, spices, decoration, traditional medicines and ceremonially. It is important to accurate identified the species, especially in case traditional medicinal usages. This research focusses on species and usages of the plants throughout Thailand. These will be achieved by investigation, observation, and interviewing with locals, traditional healers and the sellers. The plant samples from forest, community and pharmacies were collected for identification. All these valuable data will be compiled and disseminated for public benefit. In early stage of the research, literature reviews have been done. In the early stage of the project, investigations in 14 provinces, 19 sources have been performed. Usage information has been recorded and the plant samples are also collected for species identification. The species that have been used for medicinal purposes are *P. betle* L., *P. nigrum* L., *P. sarmentosum* Roxb., *P. retrofractum* Vahl, *P. longum* L., *P. rubroglandulosum* Chaveer. & Mokkamul, and *P. protrusum* Chaveer. & Tanee). The obvious medicinal properties are relieve of toothache and stomachache, heal of urticarial, carminative, expectative, and nourish of thatu, heart and blood. All data are compiled and evaluated for a manuscript preparation.

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	**1**
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
วัตถุประสงค์การวิจัย	6
ขอบเขตการวิจัย	7
สรุปวิธีดำเนินการวิจัยและแนวคิดในการวิจัย	7
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	7
วิธีดำเนินการวิจัย	**9**
แผนการดำเนินงานโครงการวิจัย	9
การเก็บข้อมูลแบบพฤกษศาสตร์พื้นบ้าน	10
การเก็บตัวอย่างและการระบุชนิด	11
การสกัดดีเอ็นเอ	11
เทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอเรซีส	12
การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ	13
การสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ด	14
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์	15
การเผยแพร่ผลงานการวิจัย	15
ผลการวิจัย	**16**
การใช้ประโยชน์จากพืชสกุลพริกไทยในแหล่งต่างๆ	19
พืชสกุลพริกไทยที่มีการนำมาใช้ประโยชน์	23
สมุนไพรสกุลพริกไทย	37
อภิปรายผลการวิจัย	**39**
สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัย	**40**
เอกสารอ้างอิง	**41**
ภาคผนวก	
บทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ	45

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการในระยะเวลา 2 ปี 10
ตารางที่ 2 ไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสเพื่อสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ด 14
ตารางที่ 3 แหล่งข้อมูลการใช้ประโยชน์รวมทั้งเก็บตัวอย่างพืชสกุลพริกไทย 17

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 แผนที่แบ่งภูมิภาคตามกรมทางหลวงเป็นภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ แสดงพื้นที่ที่ได้เก็บข้อมูลแล้ว 18
รูปที่ 2 พลูเพศเมีย *Piper betle* L. 24
รูปที่ 3 พลูเพศผู้ *Piper betle* L. 25
รูปที่ 4 พริกไทย *Piper nigrum* L. 26
รูปที่ 5 ชะพลู *Piper sarmentosum* Roxb. 27
รูปที่ 6 ดีปลี *Piper retrofractum* Vahl 29
รูปที่ 7 สะค้านเนื้อ *Piper pendulispicum* C.DC. 30
รูปที่ 8 พริกหาง *Piper longum* L. 32
รูปที่ 9 พลูป่า *Piper rubroglandulosum* Chaveer. & Mokkamul 33
รูปที่ 10 พริกไทยตัวผู้ *Piper colubrinum* Link. 35
รูปที่ 11 พลูดิน *Piper sylvaticum* Roxb. 36
รูปที่ 12 สะค้านลูกใหญ่ *Piper protrusum* Chaveer. & Tanee 37
รูปที่ 13 รูปท่อนสะค้านซึ่งชาวบ้านนำมาขายเพื่อให้ใช้ประกอบอาหารหรือเป็นยา และสะค้านในรูปแว่นและผงยา 38

บทนำ

พรรณพฤกษชาติสกุลพริกไทย (genus *Piper*) นั้น เป็นพืชกลุ่มหนึ่งที่มีความน่าสนใจยิ่ง เนื่องจากหลายชนิดสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน ชนิดที่เป็นที่รู้จักกันดี ได้แก่ พริกไทย พลู ช้าพลู ดีปลี และชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในป่า พืชสกุลพริกไทยที่เกิดตามป่าส่วนใหญ่ชาวบ้านมักเรียกว่า “สะค้าน” และมีชื่อต่อท้ายต่างๆ เช่น สะค้านดูก สะค้านเนื้อ สะค้านแดง และสะค้านหนู ไม่ว่าชนิดที่เป็นพืชป่าหรือพืชปลูกก็มีศักยภาพ ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย อาทิเช่น ส่วนลำต้นของสะค้านแดงใช้เป็นสมุนไพรนำมาเข้าเครื่องยาร่วมกับสมุนไพรอื่นช่วยให้ระบบหมุนเวียนเลือดดี แก้อาการวิงเวียนและบำรุงกำลัง ลำต้นของสะค้านเนื้อก็เป็นส่วนประกอบในอาหารที่ชาวบ้านทางภาคเหนือนิยมรับประทานกันแพร่หลาย นอกจากประโยชน์ดังกล่าวแล้ว พืชกลุ่มนี้ยังมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญและสามารถพัฒนาเพื่อประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมได้อย่างดี อันได้แก่ อุตสาหกรรมน้ำมันหอมระเหยที่กำลังได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ชนิดที่พิสูจน์แล้วว่าให้น้ำมันหอมระเหย ได้แก่ พลู ประกอบด้วยสารสำคัญต่างๆ เช่น คาวิคอล (chavicol) ซีนิออล (cineol) และยูจีนอล (eugenol) ซึ่งมีคุณสมบัติออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทให้ความรู้สึกชา หรือใช้ทาภายนอกเพื่อบรรเทาอาการคันและลดการอักเสบ ในต่างประเทศก็มีหลายชนิดที่มีความสำคัญ พืชที่มีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *P. hispidinervium* มีสารซาฟรอล (safrole) ในปริมาณสูง มีความสำคัญในอุตสาหกรรมเคมีหลายอย่าง สารนี้ประกอบด้วยสารอนุพันธ์ 2 ชนิด คือ เฮลิโอโทรพิน (heliotropin) ใช้เป็นสารให้กลิ่นหรือรส และสารไพเพอโรนอลบิวท็อกไซด์ (piperonal butoxide) ใช้เป็นสารประกอบที่สำคัญของยาฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ (pyretroid) และเป็นสารแต่งกลิ่นของผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านหลายชนิด เช่น น้ำยาขัดพื้น สบู่ ผงซักฟอก (อรุณรัตน์ ฉวีราช และคณะ, 2552; Rocha and Ming, 1999) มายริสทิซิน (myristicin) เป็นส่วนประกอบในน้ำหอม สบู่ แชมพู ครีมโกนหนวด เนย ยาฆ่าแมลง (Srivastava et al., 2001) เป็นต้น ยูจีนอลเป็นสารแต่งกลิ่น มีฤทธิ์ลดการอักเสบ ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ปวดฟัน คาวิคอลเป็นยาฆ่าเชื้อรา ยาชาเฉพาะที่ มีฤทธิ์ระงับอาการคัน

พืชสกุลพริกไทยหลายชนิดน่าจะเป็นแหล่งของสารซาฟรอลแหล่งใหม่ที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมน้ำมันหอมระเหยที่ทั่วโลกกำลังให้ความสนใจ สารนี้เดิมเคยสกัดได้จากพรรณไม้ในวงศ์ Lauraceae หลายชนิด เช่น *Cinnamomum petrophilum* และ *Ocotea pretios* แต่ปัจจุบันพรรณไม้ดังกล่าวอยู่ในภาวะใกล้สูญพันธุ์

การศึกษาพฤกษศาสตร์พื้นบ้าน (Ethnobotany) โดยการสำรวจ สังเกต และสัมภาษณ์ เพื่อรวบรวมข้อมูลการใช้ประโยชน์จากพืช เป็นวิธีการหนึ่งที่นำไปสู่ข้อมูลสำคัญอันจะเกิดประโยชน์มหาศาลต่อมวลมนุษยชาติงานวิจัยนี้ได้ศึกษาคุณสมบัติทางยาสมุนไพรของพืชสกุลพริกไทยในประเทศไทย รวมทั้งการใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ ของพืชกลุ่มนี้ด้วยหลักการพฤกษศาสตร์พื้นบ้าน อีกทั้งยังได้รวบรวมตัวอย่างพืชซึ่งใช้ประโยชน์ได้

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

พืชสกุลพริกไทยสามารถใช้ประโยชน์ได้มากมายทั้งด้านอาหาร ได้แก่ ชะพลู ดีปลี พริกไทย เป็นต้น และด้านเป็นยาสมุนไพรอีกหลายชนิดดังที่ได้กล่าวมา ดังนั้นจึงควรศึกษาคุณสมบัติที่นำไปใช้ประโยชน์ทางด้านต่างๆ รวมทั้งทางยาตามตำราการแพทย์แผนโบราณและการแพทย์พื้นบ้านของพืชสมุนไพรสกุลพริกไทยชนิดอื่นๆ ด้วย เพื่อสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งเป็นการศึกษาให้ครบวงจร โดยการศึกษา

เริ่มแรกได้เสร็จสิ้นไปแล้วคือการสำรวจชนิด ตรวจสอบชนิดที่ถูกต้อง (Chaveerach et al., 2008) และกำลังดำเนินการเก็บรวบรวมอีกครั้งหนึ่งเพื่อทำเครื่องหมายพันธุกรรมประจำชนิดที่พบในประเทศไทย ขณะเดียวกันจึงต้องการศึกษาชนิด และคุณสมบัติทางด้านต่างๆ ที่ชาวบ้านหรือชุมชนต่างๆ นำไปใช้ประโยชน์ เพื่อประโยชน์สำหรับการหาสารออกฤทธิ์ต่อไป ซึ่งเป็นวิธีการที่ย่นระยะเวลา ดั่งเช่นเป็นที่รู้กันว่าบริษัทซานเคียว (Sankyo) ประเทศญี่ปุ่นประสบความสำเร็จในการค้นพบเพลาโนทอล (plaunotol) จากต้นเปล้าน้อย (*Croton sublyratus* Kurz.) ด้วยการได้ข้อมูลของต้นเปล้าน้อยจากการซื้อคัมภีร์ใบลานจากจังหวัดปราจีนบุรี บริษัทซานเคียวจึงสกัดสารเพลาโนทอลเพื่อใช้เป็นยารักษาแผลในกระเพาะอาหาร (ชยันต์ พิเชียรสุนทร, 2540) นอกจากนี้ยังเป็นการเก็บรวบรวมชนิดที่มีในประเทศไทย ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ถูกต้อง มีเครื่องหมายพันธุกรรมประจำชนิด พร้อมคุณสมบัติทางการแพทย์แผนโบราณและการแพทย์พื้นบ้านแล้วไว้ที่องค์การสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ เนื่องจากภูมิประเทศและภูมิอากาศเหมาะสม จัดแบ่งหมวดหมู่พืชไว้เป็นวงศ์พร้อมทั้งมีการดูแลที่ดี เพื่อการอนุรักษ์และเป็นแหล่งพันธุกรรม และเป็นแหล่งวัตถุดิบให้นักวิจัยได้ศึกษาในระดับลึกต่อไป

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อนุกรมวิธานของพืชสกุลพริกไทยในประเทศไทย

มีรายงานการศึกษาความหลากชนิดและซิสเทแมทิคส์ (systematics) ของพืชสกุลพริกไทยในประเทศไทยมากว่า 10 ปี Chaveerach et al. (2002) ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและรูปแบบดีเอ็นเอด้วยวิธี Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) โดยใช้ไพรเมอร์ 14 แบบ เพื่อเปรียบเทียบหรือบอกความแตกต่างระหว่าง *P. chaba* ของประเทศไทย กับ *P. retrofractum* ของประเทศญี่ปุ่น พบว่าดัชนีความเหมือน (Similarity index) ระหว่าง *P. chaba* - *P. retrofractum*, *P. chaba* - *P. kadsura*, *P. retrofractum* - *P. kadsura* จากข้อมูลสัณฐานวิทยา คือ 71.4%, 38.5%, 46.0% ตามลำดับ จากข้อมูลความหลากหลายของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ คือ 9.4%, 9.3%, 22% ตามลำดับ แสดงว่า *P. retrofractum* และ *P. kadsura* นั้นมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากกว่า *P. chaba* และ *P. retrofractum* ซึ่งมีสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกันมาก จึงสรุปได้ว่า *P. chaba* ของประเทศไทยเป็นคนละชนิดกับ *P. retrofractum* ของประเทศญี่ปุ่น

Chaveerach et al. (2006a) รายงานพืชชนิดใหม่ของโลก 3 ชนิด คือ *P. dominantinervium* Chaveer. & Mokkamul, *P. pilobracteatum* Chaveer. & Sudmoon และ *P. phuwuaense* Chaveer. & Tanee และในปีเดียวกันได้รายงานการใช้ประโยชน์ของพืชสมุนไพรสกุลพริกไทยไว้ทั้งหมด 8 ชนิด ทั้งในแง่ของการเป็นอาหาร เครื่องเทศ สมุนไพร ใช้ในพิธีกรรมต่างๆ และใช้เป็นพืชประดับ (Chaveerach et al., 2006b) ปีต่อมา Chaveerach et al. (2007) พบพืชชนิดใหม่ของโลก 1 ชนิด คือ *P. betloides* Chaveer. & Tanomtong และอีก 2 สายพันธุ์ คือ *P. thomsonii* C.DC. var. *trichostigma* Chaveer. & Sudmoon และ *P. pedicellatum* C.DC. var. *eglandulatum* Chaveer. & Mokkamul ต่อมาจึงได้รายงานความหลากชนิดของพืชสกุลพริกไทยในประเทศไทย โดยได้รวบรวมทั้งพืชสกุลพริกไทยชนิดใหม่ของโลกที่พบครั้งแรก 3 ชนิด พบครั้งที่สองอีก 1 ชนิด และ 2 สายพันธุ์ และยังมีการรายงานชนิดใหม่ของโลกเพิ่มขึ้นอีก 2 ชนิด ด้วย คือ *P. maculaphyllum* Chaveer. & Sudmoon และ *P. rubroglandulosum* Chaveer. & Mokkamul (Chaveerach et al., 2008, 2010) ดังนั้น

ปัจจุบันนี้จึงมีพืชสกุลพริกไทยในประเทศไทยทั้งสิ้น 42 ชนิด และอีก 1 ตัวอย่าง ที่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ (อรุณรัตน์ ฉวีราช และคณะ, 2552)

สารสำคัญที่พบและประโยชน์ของพืชสกุลพริกไทย

Rocha and Ming (1999) พบว่าในใบของ *P. hispidinervium* มีปริมาณของสารซาฟรอลสูงถึง 83-93% ของน้ำมันหอมระเหย สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งทดแทนจากอดีตจนถึงปัจจุบันที่ได้จากพืชใกล้สูญพันธุ์ *Ocotea pretiosa* Benth, *Cinnamomum petrophilum*, *C. mollissimum* และ *Sassa albidum* Nutt. สารซาฟรอลเป็นวัตถุดิบที่จะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารอนุพันธ์ 2 ชนิดโดยโรงงานอุตสาหกรรมคือสารเฮลิโอโทรพินและสารไพเพอโรนอลบิวท็อกไซด์ โดยสารเฮลิโอโทรพินนั้นใช้เป็นสารแต่งกลิ่นและรสในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น น้ำยาขัดพื้น น้ำยาขัดเงา แชมพู สบู่ โลชัน ผงซักฟอก รวมทั้งน้ำยาทำความสะอาดทั้งหลาย สารชนิดนี้ถ้าได้จากธรรมชาติมีราคาแพงเกินไปสามารถใช้สารสังเคราะห์ได้ ส่วนสารไพเพอโรนอลบิวท็อกไซด์นั้นใช้เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของยาฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ ซึ่งถึงแม้ว่าจะมีราคาแพงเมื่อสกัดจากธรรมชาติแต่ยังไม่สามารถใช้สารสังเคราะห์มาทดแทนได้

Huang et al. (2001) ศึกษาพบว่าสารสกัดจาก *P. kadsura* ประกอบด้วยสาร 7 ชนิด ซึ่งในจำนวนนี้มี 3 ชนิด คือ futoquinol, galbelgin และ meso-galgravin มีผลยับยั้งทั้ง hepatitis B virus และการสร้าง e antigen ส่วน piperenone สามารถยับยั้งเฉพาะ hepatitis B virus e antigen ในขณะที่ piperlactam S มีพิษต่อเซลล์

Amusan and Okorie (2002) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันที่สกัดจากผลของ *P. guineense* ในการรักษาปลาแห้ง (*Charias* spp.) ไม่ให้แมลง *Desmestes maculates* (Degeer) ทำลาย ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้สารนี้ 5-6 µL ต่อน้ำหนักปลา 1 กรัม สามารถควบคุมการเจริญของแมลงได้ทั้งในระยะที่เป็นตัวอ่อนและตัวเต็มวัยอย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงได้เสนอว่าน้ำมันจากพืชชนิดนี้เหมาะสมที่จะนำมาใช้ป้องกันปลาแห้งไม่ให้แมลงรบกวน

Luger et al. (2002) ได้ศึกษาโครงสร้างผลึกของสาร 3-(4′-methoxyphenyl) propanol pyrrole ซึ่งเป็นสารประกอบหลักที่สกัดได้จากไรโซมของ *P. lolot* ในประเทศเวียดนาม สารนี้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โมเลกุลของสารประกอบด้วย propanoyl pyrrole อยู่ในแนวระนาบและส่วนของ methoxyphenyl อยู่ในแนวขวางระนาบ มีมุมกาง 93.8(3)° และมีขนาดใหญ่กว่าที่เคยรายงานไว้จากอนุพันธ์ของ dimethoxy ในพืชสกุลเดียวกันถึง 30°

Samuel et al. (2002) สกัดสารจากใบพริกไทย (*P. nigrum*) และพืชป่า 7 ชนิด ได้แก่ *P. argyrophyllum*, *P. attenuatum*, *P. chuvya*, *P. thwaitessii*, *P. trinueron*, *P. zeylanicum* และชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศศรีลังกาคือ *P. longum* รวมทั้งชนิดที่เป็นพืชปลูกคือ *P. nigrum* และ *P. chaba* ด้วยเมทิลแอลกอฮอล์และวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีแบบกระดาษ (paper chromatography) ผลโครมาโตแกรมที่ได้พบฟีโนลิก (phenolic) จำนวน 20 จุด โดยมี 1 จุด ที่พบในพืชทุกชนิดซึ่งสามารถใช้เป็นเครื่องหมายในการตรวจสอบและจำแนกที่มีประโยชน์สำหรับพืชสกุลนี้ และยังพบว่าพริกไทยที่เจริญในท้องถิ่นมีแนวโน้มมีร้อยละของน้ำมัน โอลีโอเรซิน (oleoresin) และพิเพอรีน (piperine) สูงกว่าพริกไทยที่นำมาจากแหล่งอื่นและชนิดอื่นๆ ที่ศึกษา

Scott et al. (2002, 2004) ศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชสกุลพริกไทย 3 ชนิด คือ พริกไทย *P. guineense* และ *P. tuberculatum* ต่อการกำจัดแมลง พบว่าพืชทั้ง 3 ชนิด มีสารพิเพอรีนซึ่งเป็นสาร

ในกลุ่ม isobutyl amides มีฤทธิ์เป็น neurotoxins ต่อแมลง โดยสารสกัดจากพริกไทยที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ สามารถฆ่าแมลงในสวนและในบ้านเรือนได้ ความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพเริ่มตั้งแต่ 0.01% สามารถกำจัดหนอนผีเสื้อและแมลงในตระกูล Tenthredinidea ถึง 0.1% สามารถกำจัดแมลงปีกแข็งศัตรูของลิลลี่และมันฝรั่ง พบว่ามีผลทำให้แมลงศัตรูพืชจากแคนาดาและอเมริกาเหนือตายได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสูตรสารสกัดจากพืชสกุลนี้มีผลไล่แมลงได้ด้วยจึงป้องกันใบพืชจากการกัดกิน และป้องกันแมลงพวกที่เจาะลำต้น สารสกัดจากพริกไทยให้ผลในระดับเหมาะสมในการควบคุมแมลงกลุ่มผีเสื้อและตัวอ่อนของ sawfly และยังยับยั้งการกัดกินได้ในระยะสั้นด้วย นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์อื่นๆ ที่เกิดขึ้นจากการเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกันกับสารอื่นในสารสกัดนั้น ข้อดีที่สำคัญของสารสกัดนี้คือช่วงครึ่งชีวิตในธรรมชาติสั้น จึงไม่เป็นพิษกับสิ่งแวดล้อม และปลอดภัยสำหรับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมเพราะพืชสกุลนี้ได้ใช้เป็นเครื่องเทศและยามาหลายร้อยปีแล้ว งานวิจัยนี้แนะนำให้ใช้สารสกัดจากพืชเหล่านี้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชในพื้นที่เล็กๆ ในสวนครัว ปีต่อมา Scott et al. (2005) ได้ศึกษาการใช้ยาฆ่าแมลงที่สกัดได้จากผลพริกไทยในการควบคุมแมลงที่ทำลายหญ้า European chafer (*Rhizotrogus majalis*) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดที่มีความเข้มข้น 2.5% สามารถทำลายตัวอ่อนในระยะที่ 3 ของแมลงได้ ในภาคสนาม ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 2% สามารถกำจัดหนอนระยะที่ 3 และ 4 ได้ และที่ 4% สามารถกำจัดหนอนระยะที่ 3 ตอนปลายได้ และยังสามารถกำจัดประชากรไส้เดือนได้ เมื่อศึกษาถึงระยะเวลาครึ่งชีวิตพบว่าเป็น 1-2.6 วัน สรุปได้ว่าสารสกัดนี้ตกค้างอยู่ในสภาพธรรมชาตินิ้อยกว่ายาฆ่าแมลงที่ใช้อยู่คือ diazonon ดังนั้นถ้ามีความหนาแน่นประชากรแมลงรบกวนอยู่เป็นบริเวณควรใช้สารสกัดนี้จะให้ผลดีกว่าบริเวณที่มีประชากรแมลงรบกวนอยู่ในพื้นที่เป็นบริเวณกว้าง ซึ่งจะช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายและไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตอื่น

Luz et al. (2003) ศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากใบและกิ่งอ่อนของ *P. reticulatum* และ *P. crassinervium* จากภาคเหนือของประเทศบราซิล โดยการกลั่นด้วยไอน้ำแล้ววิเคราะห์ส่วนประกอบด้วยวิธี GC/MS พบว่าน้ำมันหอมระเหยของ *P. reticulatum* มี β-elemene ถึง 24.6% และ β-caryophyllene มี 16.7% ส่วน *P. crassinervium* มีส่วนประกอบที่สำคัญคือ β-caryophyllene 17.7%, γ-elemene และ β-elemene 10.9%

Anuradha et al. (2004) สกัดสารจากผลแห้งของ *P. longum* ด้วยเฮกเซน พบสารที่มีคุณสมบัติห้ามการทำงานของเอนไซม์ glucosidase โดยสารนี้ประกอบด้วย pipataline 2, sesamin, oellitorine, guineensine, brachystamide β, 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-propanoic acid-Me-ester, piperlomguminine และพิเพอรีน นอกเหนือจากสารประกอบเหล่านี้แล้วยังพบสารชนิดใหม่จากพืชชนิดนี้คือ isodihydropiperlonguminine ส่วนสารที่มีคุณสมบัติห้ามการทำงานของเอนไซม์ glucosidase คือ pipataline, sesamin, pellitorine, guineensine และ brachystamide β ซึ่งสารประกอบกลุ่มนี้น่าจะมีคุณสมบัติต้านไวรัส เบาหวาน และโรคหลอดลมอักเสบ

Dyer et al. (2004) ศึกษาการสกัด การสังเคราะห์ และนิเวศวิทยาวิวัฒนาการของสารเอไมด์ในพืชสกุลพริกไทย จำนวน 1,000 ชนิด ที่ทั่วโลกรู้จัก พบว่าพืช 112 ชนิด มีสารประกอบที่แตกต่างกัน 667 ชนิด ได้แก่ อัลคาลอยด์/เอไมด์ 190 ชนิด ลิกแนน 49 ชนิด นีโอลิกแนน 70 ชนิด เทอร์พีน (terpene) 97 ชนิด โพรเพนิลฟีนอล (propenylphenol) 39 ชนิด สเตียรอยด์ 15 ชนิด คาวาไพโรน (kavapyrone) 18 ชนิด ชาลโคน/ไดไฮโดรชาลโคน (chalcone/dihydrochalcone) 17 ชนิด ฟลาโวน (flavone) 16 ชนิด ฟลาวาโนน (flavanone) 6 ชนิด ไพเพอโรไลด์ (piperolide) 4 ชนิด และสารประกอบอื่นอีก 146 ชนิดที่ไม่สามารถจัดเข้ากลุ่มใดๆ เลย โดยพบสารประกอบเหล่านี้จากทุกส่วนของพืชได้แก่ ราก ลำต้น ใบ และดอก ตัวอย่างสารประกอบโพรเพนิลฟีนอลที่เป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ ยูจีนอล ซาฟรอล และ มาย

ริสทิซิน สารที่สำคัญที่สุดในกลุ่มเอไมด์ คือ พิเพอรีน ซึ่งสกัดได้จากพืช 20 ชนิด สารในกลุ่มเอไมด์อื่นๆ ที่พบ เช่น pipericide, piplartine, 4′-desmethyl pipartine และ cenocladamide, 4′-desmethyl pipartine และ cenocladamide และพบว่ามีเอไมด์หลายชนิดที่ออกฤทธิ์ร่วมกันกลายเป็นยาฆ่าแมลงที่มีฤทธิ์รุนแรงตรงกับการรายงานของ Scott et al. (2002)

นอกจากนี้ยังมีการรายงานคุณสมบัติการต้านทางต่อโรคที่เกิดจากเชื้อรา ใน *P. colubrinum* และมีการพยายามโคลนจีนดังกล่าวซึ่งมีลำดับเบสคล้ายออสโมทิน (osmotin) ได้ (Dicto and Munjula, 2005) ด้วยคุณสมบัตินี้ทำให้มีการนำ *P. colubrinum* มาใช้เป็นต้นตอในการปลูกพริกไทย

ในประเทศไทย ผศ.ดร.จินตนาภรณ์ วัฒนธร หัวหน้าภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ และ รศ.ดร.อรุณศรี ปรีเปรม อาจารย์ประจำคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้นำเสนอผลงานการวิจัยเรื่อง “การผลิตสารสกัดพริกไทยหยอดจมูก สำหรับป้องกันภาวะความจำบกพร่องและกรรมวิธีในการผลิต” (ผ่านรายการเวทีชุมชน ทางสถานีวิทยุโทรทัศน์ NBT ขอนแก่น เมื่อวันที่ 24 เมษายน 2551) โดยอาจารย์ทั้งสองท่านร่วมนำเสนอสาระสำคัญของงานวิจัยว่า เนื่องจากทีมวิจัยได้ค้นพบ “สารพิเพอริน” ในพริกไทยดำ ซึ่งมีสรรพคุณในการป้องกันภาวะความจำบกพร่อง โดยปัจจุบันวงการแพทย์ได้ตระหนักถึงความสำคัญในการชะลอการเสื่อมของระบบประสาท และพยายามที่จะป้องกันเซลล์ประสาทในสมองเพื่อลดความเสี่ยงในการเกิดโรคสมองเสื่อม มีรายงานทางการศึกษาพบว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันโรคอัลไซเมอร์ได้ สารพิเพอรีนเป็นสารสำคัญที่สกัดจากพริกไทยดำ มีคุณสมบัติในการป้องกันโรคอัลไซเมอร์ จากจุดนี้เอง จึงทำให้ ทีมนักวิจัยซึ่งประกอบด้วย รศ.ดร.อรุณศรี ปรีเปรม สาขาวิชาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ รศ.ดร.สมเดช กนกเมธากุล ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ และ ผศ.ดร.จินตนาภรณ์ วัฒนธร หัวหน้าภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สนใจศึกษาวิธีการนำสารพิเพอรินบรรจุในอนุภาคนาโนแล้วพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบสเปรย์หยอดจมูกเพื่อป้องกันโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งพบมากในกลุ่มผู้สูงอายุและคนวัยทำงานที่มีภาวะความเครียดสูง สารพิเพอรีนเป็นสารอัลคาลอยด์ที่สกัดได้จากพริกไทยดำซึ่งเป็นสารที่มีรสเผ็ด แสบร้อน และทำให้จามเมื่อสัมผัสกับเยื่อบุอ่อนต่างๆ ซึ่งจะระคายเคืองอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากสูดลมหายใจเอาผงพริกไทย หรือผงสมุนไพรที่มีสารพิเพอรินเป็นส่วนประกอบ ร่างกายจะเกิดปฏิกิริยาต่อต้านเพื่อป้องกันตนเองด้วยการจาม ดังนั้น นักวิจัยจึงได้มีการปรับโครงสร้างทางกายภาพของสารพิเพอรีนให้เป็นอนุภาคไลโปโซมที่มีขนาดเล็กระดับนาโนเมตร เพื่อลดการระคายเคืองต่อเยื่อบุ และมีการตรวจสอบปริมาณการเพิ่มของเซลล์สมองต่อการออกฤทธิ์ของสารพิเพอรีนจากพริกไทยดำด้วยเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ เพื่อยืนยันผลที่แน่นอนและน่าเชื่อถือ การศึกษาวิจัยนี้นอกจากจะส่งผลดีต่อกลุ่มผู้สูงอายุและกลุ่มคนวัยทำงานที่มีภาวะความจำบกพร่องแล้ว ยังนับเป็นความสำเร็จของแวดวงวิชาการไทยที่สามารถค้นพบสรรพคุณของพริกไทยดำทำให้สามารถนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อผู้ป่วยได้อย่างสูงสุด ซึ่งเป็นการชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของการศึกษาวิจัยที่มีผลต่อการพัฒนาประเทศในระยะยาว

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อให้ทราบคุณสมบัติทางยาตามตำรายาการแพทย์แผนโบราณและการแพทย์พื้นบ้านของพืชสมุนไพรสกุลพริกไทย ในเขตพื้นที่ที่มีแหล่งกระจายพันธุ์
2. เพื่อตรวจสอบชนิดที่ถูกต้องของพืชที่นำมาใช้กับชนิดของโรค เนื่องจากหมอยาแผนโบราณและหมอยาพื้นบ้านใช้ชื่อท้องถิ่นของพืชสมุนไพร เช่น ที่บ้านนามน อำเภอโคกศรีสุพรรณ จังหวัดสกลนครใช้

สะค้านหนู เป็นตัวยาหนึ่งประกอบในตำรับยารักษาโรคมะเร็ง หรือที่ จังหวัดพังงาใช้สะค้านลูกใหญ่ในการรักษาโรคเริม และงูสวัด เป็นต้น

3. เพื่อเก็บรวบรวมชนิดพืชไว้ทุกชนิดที่องค์การสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งมีสภาพภูมิประเทศและสภาพอากาศเหมาะแก่การเจริญ มีเจ้าหน้าที่ดูแล และจัดไว้เป็นพื้นที่ของแต่ละวงศ์อย่างชัดเจนหลังจากที่รู้จำนวนชนิดในประเทศไทย ทำเครื่องหมายพันธุกรรมของแต่ละชนิดไว้แล้ว พร้อมทั้งทราบคุณสมบัติทางยาตามตำรับยาการแพทย์แผนโบราณและการแพทย์พื้นบ้าน

4. เพื่อเป็นแหล่งอนุรักษ์ทรัพยากรชนิดที่ถูกต้อง และเป็นแหล่งค้นคว้าสำหรับนักวิจัยหรือผู้สนใจ ที่ต้องการทำวิจัยในระดับลึกต่อไป

ขอบเขตการวิจัย

สำรวจและเก็บรวบรวมชิ้นตัวอย่างของพืชสกุลพริกไทยที่ใช้เป็นยาสมุนไพรในท้องถิ่น บันทึกข้อมูลคุณสมบัติของยา ตรวจสอบชนิดด้วยข้อมูลระดับพันธุกรรม และสัณฐานวิทยา (ถ้ามี) เก็บรวบรวมชนิดไปปลูกไว้ที่องค์การสวนพฤกษศาสตร์ฯ

สรุปวิธีดำเนินการวิจัยและแนวคิดในการวิจัย

แนวคิดในการวิจัย คือ พืชสกุลพริกไทยหลายชนิดใช้ประโยชน์ได้ทั้งเป็นอาหาร ได้แก่ ชะพลู พริกไทย ดีปลี เป็นต้น ใช้เป็นยาสมุนไพร ได้แก่ พริกไทย ดีปลี ชะพลู พลู สะค้านลูกใหญ่ สะค้านหนู เป็นต้น นำมาสกัดสารใช้ในอุตสาหกรรมยา ได้แก่ พลู ดังนั้นพืชสกุลนี้จึงมีความเป็นไปได้ที่จะมีสารสำคัญที่ใช้ประโยชน์ได้หลากหลายโดยเฉพาะทางยาสมุนไพร จึงควรมีการสำรวจชนิดที่ใช้เป็นยาสมุนไพรกับชนิดของโรคที่รักษาตามท้องถิ่นต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่จะนำไปสู่การหาสารสำคัญ หรือการวิจัยในเชิงลึกเพื่อใช้ประโยชน์ต่อมวลมนุษย์ในอนาคต สิ่งที่ต้องคำนึงอีกประการคือพืชสกุลนี้หลายชนิดมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก ผู้ที่ไม่คุ้นเคยอาจตรวจสอบชนิดได้ยาก จึงควรมีการรวบรวมชนิดที่ได้รับการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องแล้วไว้เพื่อเป็นการอนุรักษ์ชนิดและแหล่งพันธุกรรมเพื่อการศึกษาต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัยโดยสรุป เริ่มจากการตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง เพื่อคัดเลือกสถานที่ที่จะไปศึกษาการใช้ยาสมุนไพรจากพืชกลุ่มนี้ จากนั้นจึงเดินทางสำรวจ เก็บข้อมูล สัมภาษณ์ เก็บตัวอย่างพืชมาเพื่อการระบุชนิด และสร้างเครื่องหมายพันธุกรรมที่จำเพาะชนิด สุดท้ายคือการเผยแพร่ข้อมูลโดยการตีพิมพ์งานวิจัยระดับนานาชาติ พร้อมทั้งโฆษณาผลงานสู่สาธารณะในรูปแบบเอกสารหรือสื่อออนไลน์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบคุณสมบัติทางยาตามตำรายาการแพทย์แผนโบราณและการแพทย์พื้นบ้านของพืช
2. สมุนไพรสกุลพริกไทยในจังหวัดต่างๆ หรือในเขตพื้นที่ต่างๆที่มีแหล่งกระจายพันธุ์
3. ทราบชนิดที่ถูกต้องของพืชที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางยากับชนิดของโรค
4. ได้พืชสกุลพริกไทยทุกชนิดเก็บไว้ที่องค์การสวนพฤกษศาสตร์ฯ ซึ่งมีสภาพภูมิประเทศและสภาพอากาศเหมาะแก่การเจริญ มีเจ้าหน้าที่ดูแล และจัดไว้เป็นพื้นที่ของแต่ละวงศ์อย่างชัดเจนหลังจากที่รู้จำนวนชนิดในประเทศไทย ทำเครื่องหมายพันธุกรรมของแต่ละชนิดไว้แล้ว พร้อมทั้งทราบคุณสมบัติทางยาตามตำรับยาการแพทย์แผนโบราณและการแพทย์พื้นบ้าน

5. ได้แหล่งอนุรักษ์ทรัพยากรชนิดที่ถูกต้อง และเป็นแหล่งค้นคว้าสำหรับนักวิจัยหรือผู้สนใจ ที่ต้องการทำวิจัยในระดับลึกต่อไปโดยเฉพาะคุณสมบัติทางยาสมุนไพร ซึ่งอาจจะพบสารออกฤทธิ์ใหม่ที่เป็นประโยชน์กับมวลมนุษยชาติ

6. ได้เผยแพร่ผลงานวิจัยในวารสารระดับนานาชาติ

วิธีดำเนินการวิจัย

แผนการดำเนินงานโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้เป็นโครงการวิจัยต่อเนื่อง 2 ปี ซึ่งมีแผนการดำเนินงานตลอดโครงการดังตารางที่ 1 โดยเริ่มจากสำรวจ เก็บข้อมูลชนิดพืชและการใช้ประโยชน์ รวบรวมชนิดทั้งเพื่อการปลูกที่องค์การสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อการระบุชนิดด้วยข้อมูลสัณฐานวิทยาและระดับดีเอ็นเอ ทำพร้อมกันไปภายในเวลา 1 ปี 6 เดือน ส่วนอีก 6 เดือนหลังจะวิเคราะห์และสรุปผลการวิจัย ส่งรายงานการวิจัย และเผยแพร่ผลงานการวิจัยทั้งในรูปแบบงานตีพิมพ์ การนำเสนอในที่ประชุมวิชาการ และการโฆษณาผ่านเอกสารหรือสื่อออนไลน์ สามารถสรุปแผนการดำเนินงานได้ดังนี้

1) เลือกสถานที่ที่จะไปศึกษาการใช้ยาสมุนไพรนี้ เริ่มการเลือกจากระดับภาคได้แก่ ภาคเหนือ กลาง ใต้ และตะวันออกเฉียงเหนือ เลือกจำนวนจังหวัดที่มีการใช้สมุนไพรสกุลพริกไทยนี้ ประมาณ 5 จังหวัดต่อภาค จังหวัดละ 3 จุด ได้พื้นที่ศึกษาทั้งหมดใน 4 ภาคประมาณ 45 จุด

2) เก็บตัวอย่างทั้งเพื่อการระบุชนิดด้วยข้อมูลระดับดีเอ็นเอ และสัณฐานวิทยา บันทึกข้อมูลคุณสมบัติทางยาสมุนไพรต่อโรคจากการสอบถามผู้ใช้ หมอยาพื้นบ้าน

3) เก็บรวบรวมชนิดตัวอย่างในพื้นที่ที่ไปทำวิจัย หรือพื้นที่ที่ผ่านเพื่อส่งไปปลูกที่องค์การสวนพฤกษศาสตร์ฯ

4) ระบุชนิดด้วยลักษณะสัณฐานวิทยา กรณีที่มีตัวอย่างครบทุกส่วน ระบุชนิดด้วยวิธีการลายพิมพ์ดีเอ็นเอหรือเครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ด ในกรณีที่เก็บตัวอย่างได้เป็นท่อน ชิ้น หรือเป็นแว่น ทั้งตัวอย่างสดและแห้ง

5) กรณีที่มีค่าเดินทางพอ อาจไปเก็บท่อน ชิ้นสะค้านที่มีใช้ตามบ้าน ขายตามตลาดสด และสอบถามการนำไปใช้ทั้งทางด้านการเป็นอาหาร เป็นสมุนไพร และอื่นๆ ที่ตลาดเวียงจันทน์ ประเทศสาธารณะรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว เพื่อศึกษาข้อมูลเพิ่มเติม เนื่องจากทราบว่ายังมีการใช้ และซื้อ-ขายพืชสกุลนี้อยู่มากโดยเรียกชื่อรวมทุกชนิดว่า จะค่าน สะค้าน จะข่าน สะข่าน ฯลฯ

6) วิเคราะห์และสรุปผลการวิจัย ส่งรายงานการวิจัย และเผยแพร่ผลงานวิจัยในรูปแบบการตีพิมพ์ การนำเสนอในที่ประชุมวิชาการ หรือการโฆษณา

ตารางที่ 1 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการในระยะเวลา 2 ปี

ขั้นตอน/กิจกรรม	ปีที่ 1		ปีที่ 2		ผลที่คาดว่าจะได้รับ
	เดือนที่ 1-6	เดือนที่ 7-12	เดือนที่ 1-6	เดือนที่ 7-12	
1. ศึกษาเอกสารเพื่อวางแผนการเก็บข้อมูล	▬				-ได้ตัวอย่างพืชที่ต้องการ
2. สำรวจ เก็บข้อมูลสัมภาษณ์การใช้ประโยชน์จากพืช พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างพืช	▬	▬	▬		-ทราบสรรพคุณและการใช้ประโยชน์พืชสกุลพริกไทย
3. ระบุชนิดด้วยข้อมูลสัณฐานวิทยาและระดับโมเลกุล		▬	▬		-ทราบชนิดที่นำมาใช้ประโยชน์
4. เขียนรายงานผลการวิจัยและเผยแพร่ผลงานวิจัย				▬	-ได้ผลงานวิจัยตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ -ได้เผยแพร่และโฆษณาผลงาน

การเก็บข้อมูลแบบพฤกษศาสตร์พื้นบ้าน

พฤกษศาสตร์พื้นบ้าน (Ethnobotany) คือการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพืชกับมนุษย์ เพื่อบันทึกข้อมูล บรรยายและอธิบายความสัมพันธ์ดังกล่าว โดยเริ่มจากศึกษาการนำพืชมาใช้เพื่อประโยชน์ด้านต่างๆ เช่น อาหาร เครื่องนุ่งห่ม ยารักษาโรค ที่อยู่อาศัย รวมทั้งการประดับตกแต่ง โดยวิธีการศึกษาจะใช้การสำรวจ สังเกต และสอบถามจากประชาชนหรือผู้รู้ในชุมชน ซึ่งบุคคลเป้าหมายมักเป็นหมอยาพื้นบ้าน ปราชญ์ชาวบ้าน หรือผู้ที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคด้วยพืชสมุนไพร ทั้งนี้ไม่ใช่จะสอบถามข้อมูลประโยชน์ด้านสมุนไพรเท่านั้น แต่บุคคลกลุ่มนี้มักเป็นผู้ที่รู้จักพืชเป็นอย่างดี และรู้จักมากกว่าประชาชนทั่วไป จึงเป็นกลุ่มเป้าหมายที่จะเลือกมาสัมภาษณ์ก่อน หากหาไม่ได้จึงจะหาประชาชนทั่วไป โดยในบางครั้งก็อาจได้ข้อมูลที่ดีพอจากประชาชนเหล่านั้น ข้อมูลที่ได้มักเป็นชื่อท้องถิ่นของพืชซึ่งจะต้องเก็บตัวอย่างมาเพื่อระบุชนิด จึงจะเกิดความเข้าใจตรงกันในการนำพืชชนิดใดมาใช้ประโยชน์ด้วยวัตถุประสงค์ใด เพื่อให้การนำเสนอข้อมูลเกิดประโยชน์ต่อสาธารณะ

การเก็บตัวอย่างและการระบุชนิด

เก็บตัวอย่างพืชสกุลพริกไทยจากป่าหรือชุมชนตามที่มีการใช้ประโยชน์ รวมทั้งซื้อตัวอย่างจากร้านขายยาแผนโบราณหรือร้านขายยาจีนมาเพื่อระบุชนิด ตัวอย่างที่เก็บเป็นต้นพืชนอกจากจะนำมาระบุชนิดแล้วยังเก็บเพื่อการรวบรวมพรรณพืชด้วย

ระบุชนิดด้วยข้อมูลสัณฐานวิทยาตามเอกสารอ้างอิงใน Chaveerach et al. (2008) และ อรุณรัตน์ ฉวีราช และคณะ (2552) หรือระบุชนิดด้วยข้อมูลดีเอ็นเอตามวิธีการใน Sudmoon et al. (2011) ดังรายละเอียดในหัวข้อต่อไป

การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อพืชตามวิธีการที่รายงานไว้โดย Porebski et al. (1997) ซึ่งมีสารเคมีและขั้นตอนดังต่อไปนี้

สารสกัดดีเอ็นเอ ประกอบด้วย

100 mM Tris pH 8.0

1.4 M NaCl

20 mM EDTA

2% Cetyl trimethylammonium bromide (CTAB)

ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ

1) ดูด extraction buffer ซึ่งอุ่นแล้วที่ 65 °C ปริมาตร 600 µL ลงในโกร่ง เติม PVP ปริมาณ 0.03 g และ 2-mercaptoethanol ปริมาตร 3 µL

2) ใส่เนื้อเยื่อพืชที่เตรียมไว้บดจนละเอียดแล้วย้ายใส่หลอดทดลองขนาด 1.5 ml

3) เติม 10 mg/ml RNase A ปริมาตร 5 µL แล้วบ่มที่ 65 °C 30 นาที กลับหลอดไปมาทุก 5 นาที

4) เติม Chloroform: isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 1 เท่าของปริมาตรสารในข้อ 3 (ประมาณ 600 µL) กลับหลอดไปมาให้เข้ากัน

5) Centrifuge ที่ 6,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ดูดส่วนใสชั้นบนไปใส่หลอดใหม่

6) เติม 2-propanol (-20 °C) ปริมาตร 1 เท่าของปริมาตรสารที่ได้จากข้อ 5. กลับหลอดไปมาให้เข้ากัน แล้วแช่ไว้ที่ -20 °C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ

7) Centrifuge ที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนน้ำทิ้งแล้วเติม 70% Ethanol ปริมาตร 500 µL

8) Centrifuge ที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที เทส่วนน้ำทิ้ง แล้วรอให้ตะกอนแห้ง

9) เติม (65 °C) 10 mM Tris-HCl pH 8.0 ปริมาตร 100 µL แล้วแช่ที่ 4 °C ข้ามคืน ก่อนนำไปเก็บที่ -20 °C

10) วัดปริมาณและตรวจคุณภาพดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอเรซีส (agarose gel electrophoresis)

เทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอเรซีส (agarose gel electrophoresis)

เทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอเรซีสใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ มีสารเคมีและขั้นตอนดังต่อไปนี้

สารอิเล็กโทรฟอเรซีสเข้มข้น (electrophoresis stock solution: 50X TAE buffer)
สำหรับการเตรียมสาร 1000 ml ประกอบด้วยสารต่างๆ ดังนี้
242 g Tris
18.61 g EDTA
57.1 ml Glacial acetic acid
เมื่อจะใช้งานต้องนำสารนี้มาเจือจาง 100 เท่า เป็น 0.5X TAE buffer (working solution)

วิธีการเตรียมเจล (agarose gel preparation)

1) ตวง 0.5X TAE buffer ปริมาตร 30 ml ใส่ใน flask ขนาด 250 ml
2) ชั่งผง Agarose ปริมาณ 0.24 g (=0.8% agarose) หรือ 0.36 g (=1.2% agarose) ตามที่ต้องการใส่ลงในข้อ 1 แล้วแกว่ง flask ให้ผงวุ้นเข้ากับ buffer
3) นำไป microwave สลับกับการแกว่ง flask จนกระทั่งผงวุ้นจะละลายหมด ตั้งไว้ให้อุ่นที่ประมาณ 60 °C คือให้มือจับได้
4) ใส่กระบะเจลลงในบล็อกและใส่โคมลงไปให้เข้าล็อค ค่อยๆ เทสารในข้อ 3 ลงในกระบะเจล
5) ทิ้งไว้ 20 นาที ก่อนนำเจลไปใช้

วิธีการอิเล็กโทรฟอเรซีส (agarose gel electrophoresis)

1) ใส่เจลที่เตรียมไว้ลงในกระบะ electrophoresis เติม 0.5X TAE buffer ให้ท่วมผิวเจล
2) ใช้กระแสไฟฟ้า 100 volts เป็นเวลา 30 นาที
3) ย้อมเจลใน 0.001% Ethidium bromide 10 นาที ล้างด้วยน้ำเปล่า 3 รอบ แล้วนำไปถ่ายรูปเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprinting)

สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี random amplified polymorphic DNA (RAPD) โดยทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลีเมอเรส (polymerase chain reaction) ในปริมาตรรวม 25 µL ซึ่งประกอบด้วยสารต่างๆ ดังนี้

1) sterile H_2O	11.25 µL
2) 2XGoTaq master mix (Promega)	12.50 µL
3) 50 µM primer	0.25 µL
4) DNA (10 ng/µL)	1.00 µL

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากันดีแล้วนำไปเข้าเครื่องทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR machine) แล้วกำหนดเวลาและอุณหภูมิตามขั้นตอนต่อไปนี้

1) Predenaturation 3 นาที ที่ 94 °C
2) ทำปฏิกิริยา 35 รอบ ดังนี้
   2.1) Denaturation 30 วินาที ที่ 94 °C
   2.2) Annealing 30 วินาที ที่ 40 °C
   2.3) Extension 2 นาที ที่ 72 °C
3) Final extension 5 นาที ที่ 72 °C
4) เก็บ ที่ 4 °C จนกว่าจะตรวจผล

ตรวจผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลีเมอเรสด้วยเทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอเรซีส โดยใช้อะกาโรสความเข้มข้น 1.2% ทำตามขั้นตอนที่ได้อธิบายแล้ว

วิเคราะห์ผลและสร้างเดนโดรแกรมด้วยโปรแกรมการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เช่น Fingerprinting II (Bio-Rad), GelQuest and ClusterVis (SeqeuntiX software)

การสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ด (DNA Barcoding)

การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสเพื่อสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดใช้ไพรเมอร์ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ดังตารางที่ 2 โดยได้ข้อมูลจาก http://www.kew.org/barcoding/update.html

ทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลีเมอเรสในปริมาตรรวม 30 µL ซึ่งประกอบด้วยสารต่างๆ ดังนี้

1) sterile H_2O	11.4 µL
2) 2XGoTaq master mix (Promega)	15.0 µL
3) 50 µM primer F	0.3 µL
4) 50 µM primer R	0.3 µL
5) DNA (10 ng/µL)	3.0 µL

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากันดีแล้วนำไปเข้าเครื่องทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR machine) แล้วกำหนดเวลาและอุณหภูมิตามขั้นตอนต่อไปนี้

1) Predenaturation 3 นาที ที่ 94 °C
2) ทำปฏิกิริยา 35 รอบ ดังนี้
   2.1) Denaturation 30 วินาที ที่ 94 °C
   2.2) Annealing 30 วินาที ที่ 55 °C
   2.3) Extension 2 นาที ที่ 72 °C
3) Final extension 5 นาที ที่ 72 °C
4) เก็บที่ 4 °C จนกว่าจะตรวจผล

ตารางที่ 2 ไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสเพื่อสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ด

ชื่อไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์	บริเวณเป้าหมาย
RB-F2	ATGCAACGTCAAGCAGTTCC	*rpo*B gene
RB-R2	GATCCCAGCATCACAATTCC	
RC-F1	GTGGATACACTTCTTGATAATGG	*rpo*C1 gene
RC-R1	TGAGAAAACATAAGTAAACGGGC	
TP-F	GTTATGCATGAACGTAATGCTC	*psb*A-*trn*H spacer
TP-R	CGCGCATGGTGGATTCACAATCC	

ตรวจผลผลิตด้วยเทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโทรฟอเรซีสดังรายละเอียดข้างต้น โดยใช้อะกาโรสความเข้มข้น 1% เมื่อได้ผลผลิตที่ต้องการแล้วส่งไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งหาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้ Mega BACE 1000 and ALF express sequencers โดยเทคนิค dye terminator

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จะนำมาวิเคราะห์ตามขั้นตอนต่อไปนี้

1) วิเคราะห์ความถูกต้องด้วยโปรแกรม FinchTV (http://www.geospiza.com/finchtv/index.htm) และ BioEdit (http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html)

2) ใช้เครื่องมือ Blast (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) เปรียบเทียบความเหมือน (alignment) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากสิ่งมีชีวิตอื่นซึ่งมีอยู่ในฐานข้อมูล GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) วิเคราะห์ทิศทาง (annotation) และตำแหน่งเริ่มการแปลรหัส (reading frame)

3) แปลรหัส (translate) ด้วย ExPASy (http://www.expasy.org/tools/dna.html)

4) บันทึก (submit) ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้วิเคราะห์แล้วไว้ในฐานข้อมูล GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/submit.html) เพื่อใช้อ้างอิงและนักวิจัยจากทั่วโลกสามารถเข้าถึงได้

การเผยแพร่ผลงานการวิจัย

ข้อมูลการใช้ประโยชน์และสรรพคุณทางสมุนไพรของพืชสกุลพริกไทย ที่มีการระบุชนิดอย่างถูกต้องจะนำไปเผยแพร่ต่อสาธารณชนด้วยเอกสารและด้วยสื่อออนไลน์เพื่อให้เข้าถึงได้ง่ายและกว้างขวาง ทั้งนี้ต้องมีการตีพิมพ์ผลงานการวิจัยอย่างเป็นทางการก่อน

ผลการวิจัย

จากการศึกษาข้อมูลการใช้ประโยชน์จากพืชสกุลพริกไทย โดยสอบถามจากผู้รู้ในท้องถิ่น เช่น หมอยาพื้นบ้าน เจ้าของร้านขายยาแผนโบราณหรือร้านขายยาจีน และปราชญ์ชาวบ้าน รวมทั้งตรวจเอกสารและค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องในแหล่งข้อมูลที่มีการใช้พืชสกุลพริกไทย ทั้งในแง่เป็นอาหาร ยารักษาโรค ปลูกประดับ และใช้ในประเพณีหรือพิธีกรรมต่างๆ ได้เดินทางไปศึกษาการใช้พืชสกุลนี้ในภูมิภาคต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3 และ รูปที่ 1 ในช่วงปีแรกของโครงการวิจัยนี้สามารถเก็บข้อมูลการใช้ประโยชน์จากพืชสกุลพริกไทยทั้งสิ้น 19 แหล่ง อยู่ในจังหวัดต่างๆ ทั่วทุกภูมิภาคของไทย

ได้บันทึกข้อมูลการใช้ประโยชน์ รวมทั้งเก็บตัวอย่างทั้งตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งซึ่งเป็นลักษณะท่อนไม้ เป็นแว่น หรือเป็นผง ที่หมอยาพื้นบ้านเก็บมาใช้หรือนำมาขายในตลาดชุมชน หรือตัวอย่างที่มีขายในร้านขายยา เพื่อการระบุชนิดด้วยสัณฐานวิทยาและข้อมูลระดับดีเอ็นเอ รวมทั้งได้เก็บรวบรวมตัวอย่างเพาะชำไว้เพื่อส่งไปปลูกที่องค์การสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ต่อไป

ตารางที่ 3 แหล่งข้อมูลการใช้ประโยชน์รวมทั้งเก็บตัวอย่างพืชสกุลพริกไทย

ภูมิภาค	จังหวัด	อำเภอ	จำนวนแหล่งข้อมูล
ภาคเหนือ	เชียงใหม่	แม่ริม	1
	พิษณุโลก	เมืองพิษณุโลก	1
		นครไทย	1
ภาคกลาง	กาญจนบุรี	ท่ามะกา	1
		ท่าม่วง	1
	ราชบุรี	เมืองราชบุรี	1
		จอมบึง	1
	สระแก้ว	เขาฉกรรจ์	1
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	เลย	ท่าลี่	1
	อุดรธานี	เมืองอุดร	1
	สกลนคร	เมืองสกลนคร	1
	ขอนแก่น	เมืองขอนแก่น	1
	มหาสารคาม	โกสุมพิสัย	1
	ศรีสะเกษ	กันทรลักษ์	1
		ภูสิงห์	1
ภาคใต้	ระนอง	เมืองระนอง	1
	พังงา	คุระบุรี	1
		ตะกั่วป่า	1
	ภูเก็ต	ถลาง	1
รวม	14	19	19

รูปที่ 1 แผนที่แบ่งภูมิภาคตามกรมทางหลวงเป็นภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ แสดงพื้นที่ที่ได้เก็บข้อมูลแล้ว (พื้นที่ที่แรเงา)

การใช้ประโยชน์จากพืชสกุลพริกไทยในแหล่งต่างๆ

พืชสกุลพริกไทยบางชนิดมีชื่อท้องถิ่นแตกต่างกัน ดังนั้นรายละเอียดในการใช้ประโยชน์จึงเขียนชื่อท้องถิ่นพร้อมกับวงเล็บชื่อวิทยาศาสตร์ในกรณีที่ระบุชนิดได้แล้ว ส่วนตัวอย่างที่แปรรูปเป็นท่อนหรือเป็นผงยาซึ่งยังไม่ได้ระบุชนิดจะไม่มีวงเล็บชื่อวิทยาศาสตร์ รายละเอียดการใช้ประโยชน์พืชสกุลพริกไทยในแต่ละแหล่งข้อมูลดังต่อไปนี้

1. ชาวบ้านตำบลแม่แรม อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

สะค้านดูกหรือสะค้านหิน (*P. argiritis*) ใช้ร่วมกับฝาง ต้มน้ำดื่มเหมือนชา ขับเลือด แก้เส้นเลือดตีบตัน

จะค่านจิ้น (*P. pendulispicum*) ใช้ใส่แกง ตัดขายเป็นท่อนๆ โดยมีคนมารับซื้อ

2. ร้านขายยาสมุนไพร วัดพระศรีรัตนมหาธาตุวรมหาวิหาร (พระพุทธชินราช) อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

สะค้านแดงหรือจะค่านแดง (ส่งมาจากเชียงใหม่และเชียงรายในรูปผงและท่อน) ใช้ต้มแล้วกรองดื่มน้ำเหมือนน้ำชา แก้ปวดหลังปวดเอว

ดีปลี (อยู่ในรูปท่อนแห้งและช่อดอกหรือช่อผลแห้ง) ใช้เข้าตำหรับยาร้อน ละลายไขมัน

3. ชาวบ้านตำบลเนินเพิ่ม อำเภอนครไทย จังหวัดพิษณุโลก

สะค้านหิน (*P. mullesua* และ *P. pendulispicum*) โดยทั้งสองชนิดเรียกชื่อแบบเดียวกัน นำมาใส่แกงได้เช่นเดียวกัน แต่ชาวบ้านก็ทราบว่าเป็นพืชต่างชนิดกัน เพียงแต่สามารถใช้ทดแทนกันได้

4. หมอยาสวนสมุนไพรวัดดงสัก ตำบลพงตึก อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี

หมอยาอบสมุนไพรและนวดคลายเส้นเพื่อแก้อัมพฤกษ์-อัมพาต โดยในตัวยาที่ใช้อบไม่มีส่วนประกอบของพืชสกุลพริกไทย แต่ผู้ที่เป็นหมอยานั้นได้กินหมากเป็นประจำและให้ข้อมูลว่าชาวบ้านในละแวกนี้ไม่นิยมกินกันแล้ว

5. ร้านขายยาสมุนไพรรักษากูล ตำบลท่าม่วง อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

ให้ข้อมูลว่า มีผู้สั่งซื้อยาหลายตำรับซึ่งเกี่ยวกับการรักษาธาตุได้สั่ง ชะพลู (*P. sarmentosum*) ดีปลี (*P. retrofractum*) และสะค้าน

6. ราชบุรีโอสถ ร้านขายยาสมุนไพร อำเภอเมือง จังหวัดราชบุรี

ขายยาสมุนไพรตามใบสั่งแพทย์แผนโบราณ กล่าวว่ามีการใช้ พริกไทย (*P. nigrum*) ดีปลี (*P. retrofractum*) ชะพลู (*P. sarmentosum*) และจะค่าน ในตำหรับเบญจกูล ใช้รักษาธาตุ

7. สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคกลาง เขตห้ามล่าสัตว์ป่าเขาประทับช้าง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี

ช้าพลู (*P. sarmentosum*) อยู่ในกลุ่มสมุนไพรรักษาธาตุ บำรุงหัวใจ บำรุงโลหิต ซึ่งประกอบด้วย ช้าพลู ไพลดำ สุพรรณิการ์ โดยใช้ รากบำรุงธาตุ รากและลำต้นแก้ปัสสาวะรดที่นอน ใบลดระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยเจริญอาหาร ทั้ง 5 ขับเสมหะ แก้ปวดท้อง

ดีปลี (*P. retrofractum*) ใช้ ลำต้นแก้ปวดฟัน ปวดเมื่อย ปวดท้อง ผลแก้ท้องเสีย ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับเสมหะ รากรักษาโรคหืด แก้ปวดท้อง ขับเสมหะ

พลู (*P. betle*) แก้ปวดฟัน รำมะนาด ดับกลิ่นปาก รักษากลาก น้ำกัดเท้า แก้ลมพิษ แก้อาการอักเสบของเยื่อจมูก แก้เล็บขบ

8. ชาวบ้าน ใกล้แยกสระขวัญ อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว

พลูเหลือง (*P. betle*) ใช้กินมากกว่าพลูสายพันธุ์อื่นๆ เพราะเผ็ดน้อยกว่า นอกจากนี้ใช้ใบตำผสมกับปูนขาว ปิดที่แผล

9. หมอยาพื้นบ้าน ตำบลอาฮี อำเภอท่าลี่ จังหวัดเลย

สะค้านนา (เป็นท่อน) ใช้ใส่แกงไก่ แกงเป็ด ผสมกับตัวยาอื่น ใช้ยาปัน แก้ผิดกรรม ให้มดลูกแห้ง (เข้าอู่)

พลูเขียว (*P. betle*) แก้อาการขาบวม อาจเนื่องมาจากไปลุยน้ำมาแล้วติดเชื้อ ใช้ใบพลูเขียวแก่ 7 ใบ เสกคาถากวาดให้หาย ถูไปตามขาหลายๆ รอบ เปลี่ยนใบใหม่

พลูขี้ไก่ (เป็นท่อน) กระดันขาไคเวลาเป็นแผล (ต่อมน้ำเหลืองโต เมื่อเป็นแผลอักเสบ) ใช้ใบที่อยู่ติดดิน ตามดิน ย่างไฟพออุ่นแล้วแปะตรงกระดันขา (บริเวณที่บวม)

10. อำเภอเมืองอุดร จังหวัดอุดรธานี

ชาวบ้านรู้จักและนำมาใช้ประโยชน์เฉพาะชนิดที่เป็นพืชปลูก ได้แก่ ชะพลูและพริกไทย นำมาประกอบอาหารหรือรับประทานเป็นผัก ส่วนพลูนำมาประกอบในพิธีกรรมต่างๆ เช่น งานแต่งงาน งานบวช และงานขึ้นบ้านใหม่

11. หมอยาสมุนไพร อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร

สะค้าน (*P. longum* และชนิดอื่นๆ ที่นำมาใช้แบบแปรรูป) ใช้เครือหรือลำต้น ต้มแล้วดื่มน้ำ รักษาภูมิแพ้ ริดสีดวงทวาร ริดสีดวงจมูก ท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องไม่ระบาย ไขมันอุดตันเส้นเลือดในสมอง เบาหวาน ลดความดัน แก้ปวดศีรษะ ลดไข้ ระหว่างรักษาห้ามรับประทานอาหารทะเลและของหมักดอง

12. บ้านเหล่านาดี ตำบลบ้านหว้า อำเภอเมืองขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

ชาวบ้านรู้จักและนำมาใช้ประโยชน์เฉพาะชนิดที่เป็นพืชปลูก ได้แก่ ชะพลูและพริกไทย นำมาประกอบอาหารหรือรับประทานเป็นผัก ส่วนพลูนำมาประกอบในพิธีกรรมต่างๆ เช่น งานแต่งงาน งานบวช และงานขึ้นบ้านใหม่

นอกจากนี้ยังพบว่าชาวสวนได้นำพริกไทยตัวผู้ (*P. colubrinum*) มาใช้เป็นต้นตอสำหรับการชำพริกไทย (*P. nigrum*) เพื่อให้โตเร็วและทนต่อโรครากเน่า

13. ชาวบ้าน ตำบลหนองเหล็ก อำเภอโกสุมพิสัย จังหวัดมหาสารคาม

ไม่พบการใช้พืชสกุลพริกไทยที่เป็นพันธุ์ป่า เนื่องจากป่าในท้องถิ่นนั้นไม่มีพืชสกุลนี้ พบเพียงการใช้พืชปลูก ได้แก่ พลู ชะพลู พริกไทย

พลู (*P. betle*) ใช้รักษาอาการปวดฟันโดยนำมาเคี้ยวและอมไว้แล้วจึงคายทิ้ง นิยมใช้พลูเพศเมียกินหมากอย่างแพร่หลายในประชากรที่มีอายุมากกว่า 65 ปี ขึ้นไป ส่วนประชากรที่อายุน้อยกว่านี้ไม่ค่อยกินหมากแล้ว

ผักอีเลิด (*P. sarmentosum*) นิยมนำมารับประทานเป็นผักกับอาหารอีสานจำพวกลาบ และนิยมนำมาใส่แกงโดยเฉพาะแกงหอย

พริกไทย (*P. nigrum*) ไม่มีการปลูกในท้องถิ่นแต่ซื้อมาจากท้องตลาด นิยมนำมาเป็นเครื่องเทศลดกลิ่นคาวของอาหาร โดยเฉพาะอาหารประเภทนึ่ง

14. ชาวบ้านตำบลชำ อำเภอกันทรลักษ์ จังหวัดศรีสะเกษ

ฮลู (*P. betle*) ใช้กินหมากโดยได้รับความนิยมทั้งพลูเพศผู้และพลูเพศเมีย โดยชาวบ้านบางคนชอบกินพลูเพศผู้เพราะมีรสเผ็ดกว่า

จาวพลู (*P. sarmentosum*) ใช้ใส่แกงและรับประทานเป็นผัก

15. หมอยาบ้านตำบลตะเคียนราม อำเภอภูสิงห์ จังหวัดศรีสะเกษ

จาวพลู (*P. sarmentosum*) ใช้แก้ธาตุน้ำพิการ บำรุงธาตุ ขับเสมหะในลำคอ

เดยเปลย (*P. retrofractum*) ใช้แก้พิษอัมพฤกษ์อัมพาต แก้ตัวร้อน แก้ท้องร่วง แก้พิษงู แก้ปวดฟัน ปวดท้อง ขับลม ขับเสมหะ

ฮลู (*P. betle*) รสเผ็ดเมา แก้ปวดฟัน แก้รำมะนาด แก้ท้องอืดเฟ้อ แก้ปวดท้อง แก้ท้องเสีย แก้ลมพิษ แก้คัน ลดกลิ่นปาก ขับลม

พริกไทย (*P. nigrum*) บำรุงธาตุ ช่วยเจริญอาหาร ลดอาการท้องอืดเฟ้อ แน่นจุกเสียด ขับลม ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ แก้ตาแดง

16. ชาวบ้านตำบลบางนอน ใกล้น้ำตกปุญญบาล อำเภอเมือง จังหวัดระนอง

พลูดิน (*P. sylvaticum*) นำใบอ่อนมาใส่แกงเช่นเดียวกับชะพลู (*P. sarmentosum*) เนื่องจากเจริญได้ตามธรรมชาติเป็นจำนวนมาก โดยอาหารหนึ่งที่ได้รับความนิยมของชาวภาคใต้คือแกงหอยใส่กะทิและชะพลูหรือพลูดิน

17. ชาวบ้านตำบลคุระ อำเภอคุระบุรี จังหวัดพังงา

สะค้านลูกใหญ่ (*P. protrusum*) ใช้แก้ลมวิงเวียน โดยนำผลมาบดผสมผักแว่นชงน้ำดื่ม

18. ชาวบ้านตำบลบางนายสี อำเภอตะกั่วป่า จังหวัดพังงา

ใช้พืชที่ปลูกทั่วไปได้แก่ ชะพลูและพริกไทยในการประกอบอาหาร นอกจากนี้ยังใช้สะค้าน (*P. protrusum*) ซึ่งพบได้ทั่วไปใส่แกง

19. ชาวบ้าน ตำบลเทพกระษัตรี อำเภอถลาง จังหวัดภูเก็ต

พลู (*P. betle*) ใช้กินหมาก

พลูป่า (*P. rubroglandulosum*) ใช้กินแทนพลูในฤดูที่พลูไม่มีใบ แต่เผ็ดกว่าจึงไม่นิยม หมอยาพื้นบ้านนำมาเคี้ยวเป่ารักษาโรคเริมและงูสวัด

การกินหมาก

เป็นวัฒนธรรมของชาวไทยมาช้านาน โดยมีความเชื่อว่าจะช่วยให้ฟันแข็งแรง ส่วนประกอบและวิธีการกินหมากอาจแตกต่างกันเล็กน้อยในแต่ละท้องถิ่น แต่โดยทั่วไปดงรายละเอียดต่อไปนี้

ส่วนประกอบ ได้แก่ ใบพลูสดหรือนึ่ง ผลหมาก แก่นต้นคูนสับเป็นชิ้นเล็กๆ ปูนขาวหรือปูนแดง ใบยาเส้นที่ใช้ทำยาสูบ

วิธีกินหมาก ทาปูนลงใบบนพลูแล้วนำส่วนประกอบทั้งหมดมาห่อไว้ในใบพลูหนึ่งใบจากนั้นม้วนให้แน่นแล้วนำมาเคี้ยวถือเป็นหนึ่งคำ คายน้ำทิ้งเป็นระยะน้ำจะมีสีแดง จนกระทั่งน้ำที่คายทิ้งมีสีจางลงจึงเปลี่ยนคำใหม่

พืชสกุลพริกไทยที่มีการนำมาใช้ประโยชน์

ได้ระบุชนิดพืชสกุลพริกไทยที่มีการใช้ประโยชน์ในแหล่งข้อมูลต่างๆ และรวบรวมการใช้ประโยชน์ได้ดังนี้

พลู *Piper betle* L. (รูปที่ 2-3)

ไม้เถาเลื้อย ดอกแยกเพศอยู่แยกต้นกัน ลำต้นอวบอ้วน ข้อโป่งออกและมีรากแตกออกมาแม้แต่ข้ออ่อน ลำต้นมีแถบสีชมพูอ่อนตามแนวยาว ก้านใบยาว 2-2.5 ซม. เนื้อใบหนา เหนียวหรือกรอบ ผิวใบเกลี้ยง สีเขียวหรือเขียวอมเหลือง แผ่นใบรูปไข่กว้าง ขนาด 7-8.5x9-11 ซม. ฐานใบเว้ารูปหัวใจ ปลายใบเรียวแหลม เส้นใบมีจำนวน 7-9 เส้น มี 2-3 คู่ออกจากฐานใบ อีก 1 คู่ออกจากเส้นกลางใบ ช่อดอกห้อยลง ช่อดอกเพศผู้ ขนาด 0.3-0.5x3-12 ซม. ก้านช่อดอกยาว 2-3 ซม. ใบประดับรูปกลม มีก้าน เกสรเพศผู้ 2 อัน ช่อดอกเพศเมีย ขนาด 0.3-0.5x2.5-4 ซม. ก้านช่อดอกยาว 2-3 ซม. ใบประดับรูปกลม มีก้าน ยอดเกสรเพศเมีย 4-6 อัน ผลไม่มีก้าน เชื่อมติดบนแกน ออกดอกและติดผลตลอดปี

ชื่อพื้นเมือง: พลู ฮลู

การใช้ประโยชน์: คนไทยมีความผูกพันกับพลูมาแต่โบราณกาล มีการนำมาใช้ประโยชน์หลายประการ เช่น การกินหมาก และการประกอบพิธีกรรมต่างๆ แก้อาการขาบวมเนื่องจากไปลุยน้ำมาแล้วติดเชื้อ ใช้ใบพลูเขียวแก่ 7 ใบ เสกคาถากวาดให้หาย ถูไปตามขาหลายๆ รอบ เปลี่ยนใบใหม่

คุณสมบัติทางยา: แก้ปวดฟัน แก้รำมะนาด ลดกลิ่นปาก รักษากลาก น้ำกัดเท้า แก้ลมพิษ แก้อาการอักเสบของเยื่อจมูก แก้เล็บขบ รักษาแผล แก้คัน แก้ท้องอืดเฟ้อ แก้ปวดท้อง แก้ท้องเสีย ขับลม

พริกไทย *Piper nigrum* L. (รูปที่ 4)

ไม้เถาเลื้อย ดอกแยกเพศอยู่ร่วมต้นกัน ลำต้นอวบอ้วน ข้อโป่งออก มักพบแตกรากตามข้อ ก้านใบยาว 0.8-1.5 ซม. เป็นร่อง เนื้อใบหนาและเหนียว แผ่นใบรูปไข่ถึงรูปรี ขนาด 4-6x9-11 ซม. ฐานใบมนหรือเบี้ยว ปลายใบเรียวแหลม เส้นใบมีจำนวน 7 เส้น มี 2 คู่ออกจากฐานใบ อีก 1 คู่อยู่เหนือฐานใบ 1-2 ซม. เรียงตรงข้ามกันหรือเรียงสลับออกจากเส้นกลางใบ ปลายเส้นใบจรดปลายใบ ดอกเพศผู้และดอกเพศเมียเกิดบนช่อเดียวกัน ช่อดอกขนาด 0.3-0.5x5-13 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1-1.5 ซม. เกสรเพศผู้ 2 อัน ยอดเกสรเพศเมีย 3 อัน ช่อผลยาว 7-10 ซม. ผลรูปกลม ไม่มีก้าน ติดบนแกนห่างๆ ออกดอกและติดผลตลอดปี

ชื่อพื้นเมือง: พริกไทย

การใช้ประโยชน์: เป็นพืชเศรษฐกิจ ใช้ผลเป็นเครื่องเทศ และยาสมุนไพร

คุณสมบัติทางยา: บำรุงธาตุ ช่วยเจริญอาหาร ลดอาการท้องอืดเฟ้อ แน่นจุกเสียด ขับลม ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ แก้ตาแดง ใช้ประกอบในตำหรับเบญจกูลรักษาธาตุ

รูปที่ 2 พลูเพศเมีย *Piper betle* L.

รูปที่ 3 พลูเพศผู้ *Piper betle* L.

รูปที่ 4 พริกไทย *Piper nigrum* L.

ชะพลู *Piper sarmentosum* Roxb. (รูปที่ 5)

ไม้พุ่มขนาดเล็ก ดอกแยกเพศอยู่ร่วมต้นกัน ลำต้นตั้งตรง สูงประมาณ 30 ซม. หรือพบเป็นไม้เถาเลื้อยในพื้นที่ทางภาคใต้ ทุกส่วนเกลี้ยง ก้านใบยาว 1-2.5 ซม. เนื้อใบบางถึงหนา ผิวเป็นมัน เหนียวหรือกรอบคล้ายกระดาษ สีเขียวอ่อนถึงเขียวเข้ม แผ่นใบรูปไข่กว้างถึงรูปรี ขนาด 4.5-6x7.5-9.5 ซม. ใบบนลำต้นฐานใบเว้าลึกรูปหัวใจหรือเกือบตัดตรง ใบบนกิ่งฐานใบรูปลิ่มหรือเกือบตัดตรง ปลายใบแหลม เส้นใบมีจำนวน 7 เส้น ออกจากฐานใบ ช่อดอกรูปทรงกระบอกตั้งขึ้น ช่อดอกที่มีทั้งดอกเพศผู้และดอกเพศเมียขนาด 0.3-0.5x1-1.5 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1.5 ซม. ใบประดับรูปกลม เกสรเพศผู้ 1 อัน ยอดเกสรเพศเมีย 3-4 อัน ช่อดอกที่มีเฉพาะดอกเพศเมียมีดอกเรียงซ้อนกันแน่น ส่วนอื่นๆ มีลักษณะเช่นเดียวกับช่อดอกที่มีทั้งดอกเพศผู้และดอกเพศเมีย ออกดอกและติดผลตลอดปีแต่พบมากในฤดูฝน

ชื่อพื้นเมือง: ชะพลู ช้าพลู ผักอีเลิด จาวพลู

การใช้ประโยชน์: ใช้รับประทานเป็นผัก และประกอบอาหารประเภทแกง

คุณสมบัติทางยา: บำรุงธาตุ บำรุงหัวใจ บำรุงโลหิต ช่วยเจริญอาหาร ลดระดับน้ำตาลในเลือด แก้ปัสสาวะรดที่นอน แก้ปวดท้อง ขับเสมหะ ใช้ประกอบในตำหรับเบญจกูลรักษาธาตุ

รูปที่ 5 ชะพลู *Piper sarmentosum* Roxb.

ดีปลี *Piper retrofractum* Vahl (รูปที่ 6)

ไม้เถาเลื้อย ดอกแยกเพศอยู่ร่วมต้นกัน ลำต้นอวบอ้วน ข้อโป่ง แตกรากตามข้อ ก้านใบยาว 0.8-1.2 ซม. เนื้อใบหนาและเหนียว ผิวใบเรียบ แผ่นใบรูปขอบขนาน รูปไข่หรือรูปใบหอก ขนาด 4-6x10-17 ซม.

ฐานใบเว้ารูปหัวใจ มนหรือเบี้ยว ปลายใบเรียวแหลม เส้นใบ 1-2 คู่ออกจากฐานใบ เส้นอื่นๆ เรียงสลับออกจากเส้นกลางใบ ดอกเพศผู้และดอกเพศเมียอยู่บนช่อเดียวกัน ช่อดอกตั้งขึ้น ขนาด 0.5-0.7x3-5 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1.0-1.2 ซม. ใบประดับรูปกลม เกสรเพศผู้ 2 อัน ยอดเกสรเพศเมีย 3 อัน ช่อผลป้อมสั้น รูปกรวยแกมรูปทรงกระบอก ผลกลม เชื่อมติดกับแกน สีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจนสุกจึงมีสีแดง ออกดอกตลอดปี

ชื่อพื้นเมือง: ดีปลี ดีปลีเชือก

การใช้ประโยชน์: ใช้เป็นยาสมุนไพรและเครื่องเทศ ปัจจุบันนิยมนำมาปลูกประดับ เนื่องจากลักษณะการแตกกิ่งและสีของผลสุกที่สวยงาม

คุณสมบัติทางยา: ใช้แก้พิษอัมพฤกษ์อัมพาต แก้ตัวร้อน แก้ท้องร่วง แก้พิษงู แก้ปวดฟัน แก้ปวดท้อง แก้ท้องเสีย แก้ท้องอืด แก้ท้องเฟ้อ ขับลม ขับเสมหะ รักษาโรคหืด ใช้ประกอบในตำหรับเบญจกูล รักษาธาตุ

สะค้านเนื้อ *Piper pendulispicum* C.DC. (รูปที่ 7)

ไม้เถาเลื้อย ดอกแยกเพศอยู่แยกต้นกัน ลำต้นอวบอ้วนผิวเป็นตุ่มเล็กๆ แตกกิ่งได้มาก ข้อโป่งนูน ก้านใบยาว 0.5-1 ซม. เนื้อใบบางและเหนียว สีเขียวอ่อน ถึงหนาและกรอบ สีเขียวเข้ม เมื่อแห้งแผ่นใบและเส้นใบมีสีแดงคล้ายสีอิฐโดยเส้นใบสีเข้มกว่า แผ่นใบรูปไข่ รูปไข่แกมรูปใบหอกหรือรูปรี ขนาด 7.8-14x14-20 ซม. ฐานใบรูปลิ่มกว้างหรือเบี้ยว ปลายใบแหลมหรือเรียวแหลม เส้นใบนูนด้านท้องใบ มีจำนวน 6-7 เส้น คู่บนสุดอยู่เหนือฐานใบ 1.5-2 ซม. เรียงแบบสลับออกจากเส้นกลางใบ อีก 2 คู่ออกจากฐานใบ หรือ 1 ใน 2 คู่ออกใกล้กับฐานใบ ใบบนกิ่งที่อยู่ในระยะสร้างดอกมักมีจำนวนเส้นใบสองข้างของเส้นกลางใบไม่เท่ากัน คือด้านหนึ่งมี 2 เส้น อีกด้านหนึ่งมี 3 เส้น ช่อดอกห้อยลง ช่อดอกเพศผู้สีเหลือง ขนาด 0.3-0.5x7-15 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1-2 ซม. แกนช่อดอกมีขน ใบประดับรูปกลม ด้านล่างมีขน เกสรเพศผู้ 2 อัน แก่ไม่พร้อมกัน ก้านชูยาวไม่เท่ากัน ช่อดอกเพศเมียขนาด 0.3-0.5x10-20 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1-2 ซม. แกนช่อดอกมีขน ใบประดับรูปกลม ไม่มีก้าน ยอดเกสรเพศเมีย 3-4 อัน ช่อผลยาว 15-30 ซม. ผลรูปไข่หรือรูปรี ไม่มีก้าน ออกดอกและติดผลตลอดปี แต่พบมากในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงมีนาคม

ชื่อพื้นเมือง: สะค้าน สะค้านเนื้อ จะค่านจิ้น

การใช้ประโยชน์: ต้นเพศเมียซึ่งติดผลมีชื่อเรียกว่าสะค้าน สะค้านเนื้อหรือจะค่านจิ้น ใช้ลำต้นมาประกอบอาหาร ส่วนต้นเพศผู้มีชื่อเรียกว่าสะค้านแดง ใช้ลำต้นที่มีเนื้อไม้สีแดงเรื่อเป็นยาสมุนไพร

คุณสมบัติทางยา: ไม่มีข้อมูลการใช้เป็นยา

รูปที่ 6 ดีปลี *Piper retrofractum* Vahl

รูปที่ 7 สะค้านเนื้อ *Piper pendulispicum* C.DC.

พริกหาง *Piper longum* L. (รูปที่ 8)

ไม้เถาเลื้อย ดอกแยกเพศอยู่ร่วมต้นกัน หลายๆ ส่วนที่ยังอ่อนมักพบผงแป้งสีขาวและมีขนอ่อนนุ่มปกคลุม ลำต้นมักคดงอ ก้านใบยาว 1-3 ซม. เนื้อใบบาง สีเขียวเข้ม ใบบนลำต้นแผ่นใบรูปไข่หรือรูปรี ใบบนกิ่งแผ่นใบรูปไข่หรือรูปไข่แกมรูปขอบขนาน ขนาด 3-5x7-10.5 ซม. ฐานใบเว้ารูปหัวใจหรือเบี้ยว ปลายใบเรียวแหลม เส้นใบมีจำนวน 5 เส้น มี 2 เส้นออกจากฐานใบ อีก 2 เส้นออกจากเส้นกลางใบเหนือฐานใบประมาณ 1.5 ซม. ช่อดอกตั้งขึ้น ช่อดอกเพศผู้ขนาด 0.3-0.7x5-8 ซม. ก้านช่อดอกยาว 0.5 ซม. ใบประดับรูปกลม มีก้าน เกสรเพศผู้ 2 อัน ช่อดอกเพศเมียขนาด 0.2x0.6-2 ซม. ก้านช่อดอกยาว 0.5 ซม. ใบประดับรูปกลม มีก้าน ยอดเกสรเพศเมีย 3 อัน ช่อผลยาว 0.7-2.5 ซม. ผลรูปกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2-0.3 ซม. ไม่มีก้าน ออกดอกและติดผลมากเดือนพฤษภาคมถึงกันยายน

ชื่อพื้นเมือง: ดีปลี พริกหาง สะค้าน

การใช้ประโยชน์: ใช้เครือหรือลำต้น ต้มแล้วดื่มน้ำ เป็นยาสมุนไพร

คุณสมบัติทางยา: รักษาภูมิแพ้ ริดสีดวงทวาร ริดสีดวงจมูก แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ลดไขมันอุดตันเส้นเลือดในสมอง ลดความดัน รักษาเบาหวาน แก้ปวดศีรษะ ลดไข้

พลูป่า *Piper rubroglandulosum* Chaveer. & Mokkamul (รูปที่ 9)

ไม้เถาเลื้อย ลำต้นกลม เรียวถึงอวบ มีกลิ่นคล้ายพลูมาก พืชที่สำรวจพบมีบางลักษณะแตกต่างกันเป็น 2 กลุ่มดังนี้ กลุ่มแรกพบได้ทั่วไปหลายพื้นที่ ใบบนลำต้น ก้านใบสีเขียวแกมชมพู แผ่นใบรูปไข่แคบ ด้านหลังใบสีเขียวเข้ม ด้านท้องใบสีชมพูอ่อนและเส้นใบสีชมพูเข้ม กลุ่มที่สอง พบที่ศูนย์พัฒนาและส่งเสริมการอนุรักษ์พันธุ์สัตว์ป่าเขาพระแทว จังหวัดภูเก็ต และอุทยานแห่งชาติคลองพนม จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีขนาดเล็กกว่ากลุ่มแรกซึ่งพบในพื้นที่เดียวกัน ใบบนลำต้น ก้านใบมีแถบสีเขียวอ่อนแกมชมพูหรือไม่มี แผ่นใบรูปไข่กว้าง ด้านหลังใบสีเขียวหรือสีเขียวอ่อนแกมชมพู ด้านท้องใบเส้นใบสีเขียว ลักษณะอื่นๆ ของทั้งสองกลุ่มเหมือนกันดังนี้ ลำต้นกลม แข็ง เรียวถึงอวบอ้วน มักมีแถบตามยาวสีเขียวแกมชมพู เมื่อแห้งสีเกือบดำแกมเหลืองและมีร่อง ก้านใบยาว 0.5-1.5 ซม. มีขนประปราย ใบบนกิ่งด้านหลังใบสีเขียวหรือเขียวเข้ม เมื่อแห้งสีเกือบเหลือง มีต่อมสีแดงอ่อนหนาแน่น แผ่นใบรูปไข่หรือรูปรี ขนาด 4-5x7.5-11 ซม. ฐานใบเว้ารูปหัวใจตื้นและมักไม่สมมาตร ปลายใบแหลมหรือเป็นติ่งแหลม เส้นใบเห็นเด่นชัดด้านหลังใบ มีจำนวน 7 เส้น คู่บนสุดอยู่เหนือฐานใบ 0.5-1.5 ซม. เรียงตรงข้ามกันหรือเรียงสลับออกจากเส้นกลางใบ ปลายเส้นใบจรดปลายใบ เส้นใบย่อยเห็นเด่นชัดสานกันแบบร่างแห ช่อดอกเพศผู้ห้อยลง ขนาด 0.2x5.5-10 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1.2-2 ซม. แกนช่อดอกมีขน ใบประดับรูปเกือบกลม ขอบเปิด ก้านมีขน เกสรเพศผู้ 2 อัน ช่อดอกเพศเมียห้อยลง ขนาด 0.3-0.5x1.5-2.5 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1-1.2 ซม. ใบประดับรูปกลม ไม่มีขน เกสรเพศเมีย 3-5 อัน ช่อผลมีขนทั้งส่วนผลและใบประดับ ขนาด 0.7-1.3x3-7 ซม. ก้านช่อผลยาว 1-1.2 ซม. ผลฝังอยู่ในแกน ต้นที่มีขนาดใหญ่กว่าในพื้นที่ใกล้เคียงกันซึ่งสมบูรณ์กว่าจะออกดอกที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล 100-200 เมตรทางภาคใต้ แต่ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล 300-500 เมตรทางภาคกลาง และ 800-900 เมตรทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือไม่พบต้นที่ออกดอก ออกดอกและติดผลตลอดปี

ชื่อพื้นเมือง: พลูป่า พลูขี้ไก่ พลูเถื่อน

การใช้ประโยชน์: ชาวบ้านอาจนำมากินกับหมากถ้าไม่สามารถหาพลู (*P. betle*) ได้ แต่ไม่ค่อยนิยมเพราะรสเผ็ดมากกว่าพลู หมอยาพื้นบ้านนำมารักษาโรคโดยเคี้ยวแล้วเป่า

คุณสมบัติทางยา: รักษาโรคเริม รักษาโรคงูสวัด

รูปที่ 8 พริกหาง *Piper longum* L.

รูปที่ 9 พลูป่า *Piper rubroglandulosum* Chaveer. & Mokkamul

พริกไทยตัวผู้ *Piper colubrinum* Link. (รูปที่ 10)

ไม้พุ่มรอเลื้อย สูง 3-4 เมตร ลำต้นเป็นข้อปล้องชัดเจน ตรงข้อนูนขึ้นและแตกราก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 ซม. ก้านใบยาว 0.5-1 ซม. เนื้อใบหนา กรอบ ผิวใบเกลี้ยง เป็นมัน สีเขียวอ่อน แผ่นใบรูปไข่หรือรูปใบหอก ขนาด 7-8x17-18 ซม. ฐานใบเบี้ยว ปลายใบแหลม เส้นใบมีจำนวน 9 เส้น มี 1 คู่ออกจากฐานใบ อีก 1 คู่ออกจากเส้นกลางใบเหนือฐานใบประมาณ 0.3-0.5 ซม. เส้นอื่นๆ เรียงสลับออกจากเส้นกลางใบ ปลายเส้นใบคู่บนสุดจรดปลายใบ ช่อดอกเพศผู้รูปทรงกระบอกห้อยลง ขนาด 0.6-0.7x4-5 ซม. ก้านช่อดอกยาวประมาณ 1 ซม. ใบประดับรูปรี มีขนตามขอบ เกสรเพศผู้ 3 อัน จากการสำรวจยังไม่พบต้นที่มีช่อดอกเพศเมีย ออกดอกตลอดปี

ชื่อพื้นเมือง: พริกไทยตัวผู้

การใช้ประโยชน์: พืชชนิดนี้มักนำมาเป็นต้นตอในการปลูกพริกไทยเพื่อให้ทนต่อโรครากเน่า

คุณสมบัติทางยา: ไม่มีข้อมูลการใช้เป็นยา

พลูดิน *Piper sylvaticum* Roxb. (รูปที่ 11)

ไม้เถาเลื้อย ดอกแยกเพศอยู่แยกต้นกัน มักพบเลื้อยตามผิวดินและปลายยอดโค้งตั้งขึ้นมากกว่าเลื้อยขึ้นตามต้นไม้ มีขนเกือบทุกส่วน ลำต้นกลมเรียว ก้านใบยาว 2-5 ซม. มีขน เนื้อใบบาง สีเขียวอ่อนเป็นมัน ถึงเขียวเข้ม ด้านท้องใบมีขนตามเส้นใบ ใบบนลำต้นแผ่นใบรูปไข่กว้างหรือกลม ใบบนกิ่งแผ่นใบรูปไข่ ขนาด 6-8 x 9-11 ซม. ฐานใบเว้ารูปหัวใจพูสองข้างแยกจากกันปลายมน ปลายใบเรียวแหลม เส้นใบมีจำนวน 7 เส้น ทุกเส้นออกจากฐานใบ มี 1 คู่ที่ปลายเส้นใบจรดปลายใบ ช่อดอกเพศเมียตั้งขึ้น ขนาด 0.4-0.5 x 1.2-1.5 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1.4-1.7 ซม. ใบประดับรูปกลม ด้านบนนูนขึ้น ยอดเกสรเพศเมีย 3-4 อัน ช่อผล ยาว 1-2 ซม. ผลไม่มีก้านฝังติดกับแกน ออกดอกและติดผลมากเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคม

แหล่งที่สำรวจพบ: อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น บ้านแม่แมะ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ ริมลำธารหมู่บ้านชาวเขา อุทยานแห่งชาติดอยภูคา จังหวัดน่าน น้ำตกปุญญบาล อุทยานแห่งชาติลำน้ำกระบุรี จังหวัดระนอง ความสูงจากระดับน้ำทะเล 100-300 เมตร

ชื่อพื้นเมือง: พลูดิน

การใช้ประโยชน์: ใบอ่อนใช้ประกอบอาหารจำพวกแกงได้เหมือนชะพลู

คุณสมบัติทางยา: ไม่มีข้อมูลการใช้เป็นยา

(ก)

(ข)

รูปที่ 10 พริกไทยตัวผู้ *Piper colubrinum* Link. ที่เตรียมไว้เป็นต้นตอ (ก) และต้นที่ต่อยอดแล้ว (ข)

รูปที่ 11 พลูดิน *Piper sylvaticum* Roxb.

สะค้านลูกใหญ่ *Piper protrusum* Chaveer. & Tanee (รูปที่ 12)

ไม้เถาเลื้อย กิ่งมีลักษณะโป่งพองตรงข้อ รูปทรงของแผ่นใบหลากหลาย ส่วนที่เลื้อยตามพื้นดิน ลำต้นกลม เรียว มีจุดสีชมพู มีขนหนาแน่น ก้านใบยาว 3.5-4 ซม. มีต่อมขนาดเล็กสีเหลืองแกมน้ำตาลและมีขนปกคลุมมาก เนื้อใบหนาฉ่ำน้ำ เกลี้ยงหรือมีขนเล็กน้อย แผ่นใบรูปไข่กว้าง ขนาด 6-7x7-8.5 ซม. ฐานใบเว้าลึกรูปหัวใจ พูสองข้างแยกจากกัน ปลายใบเรียวแหลม เส้นใบมีจำนวน 7 เส้น คู่บนสุดอยู่เหนือฐานใบ 0.5-0.7 ซม. เรียงแบบตรงข้ามกันออกจากเส้นกลางใบ ปลายเส้นใบจรดปลายใบ คู่อื่นๆ ออกจากฐานใบ เส้นใบย่อยเห็นไม่ชัด ส่วนที่เลื้อยขึ้นต้นไม้ ลำต้นกลม เรียว เหนียว ไม่มีขน ใบบนกิ่งก้านใบยาว 1-1.5 ซม. เนื้อใบหนา เหนียว ไม่มีขน แผ่นใบรูปรี ขนาด 4-6x8.5-11 ซม. ฐานใบเกือบมนถึงรูปลิ่ม ปลายใบเรียวแหลมถึงเป็นติ่งเรียวแหลม เส้นใบมีจำนวน 7 เส้น คู่บนสุดอยู่เหนือฐานใบ 2.5-5 ซม. เรียงแบบสลับ ออกจากเส้นกลางใบ อีก 2 คู่ออกจากฐานใบ ปลายเส้นใบจรดปลายใบ ช่อดอกเพศผู้ห้อยลง ขนาด 0.1-0.2x8.5 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1-1.7 ซม. ช่อดอก ใบประดับรูปครึ่งวงกลม ติดอยู่กับฐานรองดอกซึ่งนูนขึ้นมา ขอบเป็นขน เกสรเพศผู้ 9 อัน ก้านเกสรแบน จากการสำรวจยังไม่พบช่อดอกเพศเมีย

ชื่อพื้นเมือง: สะค้านลูกใหญ่ สะค้านถิ่นใต้

การใช้ประโยชน์: เป็นพืชสมุนไพร โดยนำผลมาบดผสมผักแว่นใช้ชงน้ำดื่ม

คุณสมบัติทางยา: แก้ลมวิงเวียน

รูปที่ 12 สะค้านลูกใหญ่ *Piper protrusum* Chaveer. & Tanee

สมุนไพรสกุลพริกไทย

จากผลการศึกษาพบว่ามีการใช้สะค้านหรือจะค่านอย่างแพร่หลายในทุกภูมิภาค ทั้งการนำพืชทั้งต้นมาใช้แบบดั้งเดิม หรือมีการแปรรูปเช่น ตัดเป็น ท่อน แว่น หรือบดเป็นผง (รูปที่ 13) โดยตัวอย่างเหล่านี้ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ ต้องใช้ข้อมูลระดับดีเอ็นเอประกอบในการระบุชนิดต่อไป

รูปที่ 13 รูปท่อนสะค้านซึ่งชาวบ้านนำมาขายเพื่อให้ใช้ประกอบอาหารหรือเป็นยา และสะค้านในรูปแว่นและผงยา

อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการศึกษาพบว่ามีการใช้สะค้านหรือจะค่านอย่างแพร่หลายในทุกภูมิภาค ทั้งการใช้แบบดั้งเดิมคือเก็บพืชสดมาใช้เลย หรือการนำมาแปรรูป เช่น เป็นท่อน แว่น หรือผงยา โดยชื่อท้องถิ่นที่ใช้เรียกพืชบางชนิดอาจแตกต่างกันไป เช่น *Piper sarmentosum* มีชื่อท้องถิ่น คือ ชะพลู ช้าพลู จาวพลู หรือ ผักอีเลิด โดยหากแหล่งข้อมูลนั้นมีต้นพืชที่นำมาใช้ประโยชน์ให้ดูก็สามารถระบุชนิดพืชได้ด้วยข้อมูลสัณฐานวิทยาตามรายละเอียดที่มีรายงานไว้แล้วโดยอรุณรัตน์ ฉวีราชและคณะ (2552) และ Chaveerach et al. (2008) แต่หากแหล่งข้อมูลนั้นใช้พืชที่แปรรูปแล้วมักจะเรียกชื่อว่าท่อนสะค้านหรือผงสะค้านก็ต้องนำมาระบุชนิดโดยใช้ข้อมูลระดับโมเลกุลประกอบ เมื่อระบุชนิดได้ถูกต้องแล้วก็จะเกิดประโยชน์อย่างมากต่อผู้ที่จะนำไปใช้ในการรักษาโรคต่อไป

อย่างไรก็ตามจากการสำรวจพบว่าพื้นที่ป่าเสี่ยงต่อการถูกทำลาย ทั้งจากการขยายตัวของชุมชน การตัดไม้ ใช้เพื่อเลี้ยงสัตว์มากเกินไป การทำลายแหล่งที่อยู่อาศัย การขาดความเข้าใจ และการนำเข้าพืชต่างถิ่น จากปัญหาเหล่านี้จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องหาวิธีการอนุรักษ์พืชสมุนไพรให้ใช้ได้อย่างยาวนานต่อไป สิ่งที่ควรตระหนักอีกประการหนึ่งซึ่งผู้วิจัยได้ตั้งข้อสังเกตจากการสอบถามข้อมูลการใช้ประโยชน์จากพืชคือ พบว่าประชาชนที่อายุน้อยคือไม่เกิน 35 ปี มักไม่รู้จักพืชหรือประโยชน์จากพืช ผู้ที่รู้และเข้าใจการใช้ประโยชน์จากพืชส่วนใหญ่อายุมากกว่า 40 ปี ดังนั้นนอกจากพืชที่จะนำมาใช้ประโยชน์ได้จะลดจำนวนลงแล้ว ภูมิปัญญาท้องถิ่นยังมีแนวโน้มจะสูญหายไปตามกาลเวลาอีกด้วย ซึ่งเป็นสิ่งที่ควรพิจารณาหาแนวทางในการอนุรักษ์ทั้งพืชและภูมิปัญญา เนื่องจากเหตุผลที่เราทุกคนทราบดีอยู่แล้วว่าสุขภาพของเราขึ้นอยู่กับอาหารการกินเป็นสำคัญ หากเราไม่ได้กินอาหารอย่างถูกสุขลักษณะปัญหาสุขภาพจะตามมาอีกมาก

สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัย

สรุปผลการวิจัย

ได้สำรวจและเก็บข้อมูลการใช้ประโยชน์จากพืชสกุลพริกไทยจากทุกภูมิภาคของไทย ในจังหวัดต่างๆ 14 จังหวัด รวม 19 แหล่งข้อมูล ซึ่งพบว่าพืชสกุลพริกไทยมีประโยชน์ทางสมุนไพร เช่น แก้ปวดฟัน แก้ปวดท้อง แก้ลมพิษ รักษา ขับลม ขับเสมหะ บำรุงธาตุ บำรุงหัวใจ และบำรุงโลหิต เป็นต้น ชนิดที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางสุมนไพร ได้แก่ พลู (*P. betle* L.) พริกไทย (*P. nigrum* L.) ชะพลู (*P. sarmentosum* Roxb.) ดีปลี (*P. retrofractum* Vahl) พริกหาง (*P. longum* L.) พลูป่า (*P. rubroglandulosum* Chaveer. & Mokkamul) และสะค้านลูกใหญ่ (*P. protrusum* Chaveer. & Tanee) ผลการวิจัยจนกระทั่งถึงปัจจุบันนี้ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติแล้ว 1 เรื่อง

เสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นตอนต่อไป

การวิจัยในขั้นตอนต่อไป คือ สำรวจและรวบรวมข้อมูลการใช้ประโยชน์ให้ครบแหล่งข้อมูลตามที่กำหนดไว้ รวมทั้งรวบรวมตัวอย่างชนิดที่เป็นพืชสมุนไพรไปปลูกที่องค์การสวนพฤกษศาสตร์ฯ จากนั้นจึงเรียบเรียงข้อมูลทั้งหมดเพื่อเผยแพร่ในรูปแบบการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติเพิ่มเติม รวมทั้งการเผยแพร่ในสื่อออนไลน์

ประโยชนในทางประยุกต์ของผลการวิจัย

การรวบรวมข้อมูลคุณสมบัติทางยาสมุนไพรของพืชสกุลพริกไทยโดยมีการระบุชนิดที่ถูกต้อง พร้อมทั้งมีภาพประกอบ มีคำบรรยายลักษณะพืช รวมทั้งได้สร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะชนิดพืช แล้วนำข้อมูลดังกล่าวเผยแพร่ในแหล่งที่เข้าถึงได้อย่างกว้างขวางคือการเผยแพร่ในสื่อออนไลน์จะเกิดประโยชน์ต่อสาธารณะ และยังอาจส่งเสริมให้เกิดการตระหนักถึงประโยชน์ของความหลากหลายทางชีวภาพซึ่งนำไปสู่การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ทรัพยากรชีวภาพอย่างยั่งยืนสืบไป

เอกสารอ้างอิง

ชยันต์ พิเชียรสุนทร. 2540. พฤกษศาสตร์พื้นบ้านกับการค้นหายาใหม่. ใน: รายงานการสัมมนาวิชาการเรื่องสมุนไพรไทย เฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงครองสิริราชสมบัติครบ 50 ปี. กรุงเทพฯ: กองวิเคราะห์โครงการและประเมินผล สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

อรุณรัตน์ ฉวีราช, รุ่งลาวัลย์ สุดมูล, ธวัดชัย ธานี, และ ปิยะ โมคมุล. 2552. พืชสกุลพริกไทยในประเทศไทย. ขอนแก่นการพิมพ์, ขอนแก่น.

Amusan, A.A.S. and Okorie, T.G. 2002. The use of *Piper guineense* fruit oil (PFO) as protectant of dried fish against *Dermestes maculates* (Degeer) infestation. Global Journal of Pure and Applied Sciences 8(2): 197-201.

Anuradha, V., Sreelatha, T., Srinivas, P.V., Tivari, A.K. and Rao, J.M. 2004. Isolation and synthesis of new bioactive molecules from *Piper longum*. Natural Product Research 18(3): 247-251.

Chaveerach, A., Mokkamul, P., Sudmoon, R. and Tanee, T. 2006b. Ethnobotany of the genus *Piper* (Piperaceae) in Thailand. Ethnobotany Research and Applications 4: 223-231.

Chaveerach, A., Kunitake, H., Nuchadomrong, S., Sattayasai, N. and Komatsu, H. 2002. RAPD patterns as a useful tool to differentiate Thai *Piper* from morphologically alike Japanese *Piper*. Science Asia 28(3): 197-201.

Chaveerach, A., Sudmoon, R., Tanee, T. and Mokkamul, P. 2006a. Three new species of Piperaceae from Thailand. Acta Phytotaxonomica Sinica 44(4): 447-453.

Chaveerach, A., Sudmoon, R., Tanee, T. and Mokkamul, P. 2008. The species diversity of the genus *Piper* from Thailand. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 59(2): 105-163.

Chaveerach, A., Sudmoon, R., Tanee, T. and Mokkamul, P. 2010. Notes on *Piper rubroglandulosum* (Piperaceae) in Thailand. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 60(3): 175-177.

Chaveerach, A., Tanomtong, A., Sudmoon, R., Tanee, T. and Mokkamul, P. 2007. A new species and two new varieties of *Piper* (Piperaceae) from Thailand. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 58(1): 33-38.

Dicto, J. and Manjula, S. 2005. Identification of elicitor-induced PR5 gene homologue in *Piper colubrinum* Link by suppression subtractive hybridization. Current Science 88(25): 624-627.

Dyer, L.A., Richards, J., Dodson, C.D. 2004. Isolation, synthesis, and evolutionary ecology of *Piper* amides. In: Dyer, L.A. and Palmer, A.N. (eds.) *Piper*: A Model Genus for Studies of Evolution, Chemical Ecology, and Trophic Interactions, Kluwer Academic Publishers, Boston, pp. 117-139.

Huang, R.L., Chen, C.F., Feng, H.Y., and Lin, L.C. 2001. Anti–hepatitis B virus of seven compounds isolated from *Piper kadsura* (Choisy) Ohwi. Journal of Chinese Medicine 12(3): 179–190.

Luger, P., Weber, M., Dung, N.X., Luu, V.T., Rang, D.D., Tuong, D.T., and Ngoc, P.H. 2002. The crystal structure of 3-(4′-methoxyphenyl) propanonoyl pyrrole of *Piper lolot* C.DC. from Vietnam. Crystal Research Technology 37(6): 627–633.

Luz, A.I.R., Zoghbi, M.G.B. and Maia, J.G.S. 2003. The essential oils of *Piper reticulatum* L. and *P. crassinervium* H.B.K. Acta Amazonica 33(2): 341-344.

Porebski, S., Bailey, L.G., and Baum, B.R. 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. Plant Molecular Biology Reporter 15: 8–15.

Rocha, S.F.R. and Ming, L. 1999. *Piper hispidinervium*: a sustainable source of safrole. In: Janick, J. (ed.). Perspective on New Crops and New Uses. Alexandria: ASHS Press. pp. 479-481.

Samuel, M.R.A., Gurusinghe, P.A., Alles, W.S. and Kronole, S.T.W. 2002. Genetic diversity and crop improvement in pepper (*Piper nigrum*). Acta Horticulturae (ISHS) 188: 117–124.

Scott, I.M., Arnason, J.T. and Philogne, B.J.R. 2002. The efficacy of *Piper nigrum* (Piperaceae) extracts: Botanical alternatives for urban pest insect control. Display Presentations, Subsection Fb. Urban Entomology, Do688.

Scott, I.M., Gagnon, N., Lesage, L., Philogene, B.J.R. and Arnason, J.T. 2005. Efficacy of botanical insecticides from *Piper* species (Piperaceae) extracts for control of European chafer (Coleoptera: Scarabaeidae). Journal of Economic Entomology 98(3): 845–855.

Scott, I.M., Jensen, H., Nicol, R., Lesage, L., Bradbury, R., Sánchez-Vindas, P., Poveda, L., Arnason, J.T. and Philogène, B., Jr. 2004. Efficacy of *Piper* (Piperaceae) extracts for control of common home and garden insect pests. Journal of Economic Entomology 97(4): 1390–1403.

Srivastava, S., Gupta, M.M., Prajapati, V., Tripathi, A.K. and Kumer, S. 2001. Insecticidal activity of myristicin from *Piper mullesua*. Pharmaceutical Biology 39(3): 226–229.

Sudmoon, R., Tanee, T., Chaveerach, A. 2011. *Piper protrusum* (Piperaceae), a new species from southern Thailand based on morphological and molecular evidence. Journal of Systematics and Evolution 49(5): 468-475.

ภาคผนวก

สำเนาบทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ (reprint)

Journal of Medicinal Plants Research Vol. 6(7), pp. 1168-1175, 23 February, 2012
Available online at http://www.academicjournals.org/JMPR
DOI: 10.5897/JMPR11.807
ISSN 1996-0875 ©2012 Academic Journals

Full Length Research Paper

Ethnobotany and species specific molecular markers of some medicinal *sakhan* (*Piper*, Piperaceae)

Runglawan Sudmoon[1], Tawatchai Tanee[2], Varima Wongpanich[3], Nat Bletter[4] and Arunrat Chaveerach[1]*

[1]Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand.
[2]Faculty of Environment and Resource Studies, Mahasarakham University, Mahasarakham 44000, Thailand.
[3]Department of Botany and Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand.
[4]Department of Botany, University of Hawaii at Manoa, Hawaii 96822, USA.

Accepted 22 November, 2011

Sakhan, _jakhan_ and _takhan_ are some of Thai common names for _Piper_ species especially for unidentified forest species. They are widely used as vegetables, spices, decoration, traditional medicines and ceremonially. Seven of these species were collected and identified of which the sliced stems are often used as medicinal plants and spices, and are easily preserved as dried powder or slices: _Piper betle_ L. (_phlu_), _Piper colubrinum_ Link. (_prik thai tua phu_), _Piper nigrum_ L. (_prik thai_), _Piper pendulispicum_ C.DC. (_jakhan jin_), _Piper retrofractum_ Vahl. (_dee plee_), _Piper ribesioides_ Wall. (_takhan lek_), and _Piper sarmentosum_ Roxb. (_cha phlu_). Stem slices and a powder of what was called _sakhan_ were brought from pharmacies for analysis. The ethnobotany of these species was studied by literature reviews, traditional healers and interviews with locals. DNA barcoding of the main stem from all wild species and slices and powder from pharmacies was performed to provide specific markers which can be standardized for further identification of medicinal _sakhan_ samples. The barcode marker accession numbers are GQ500612 -GQ500619 for _rpo_C1 gene, GU372746-GU372751 for _mat_K gene, and GQ891994-GQ892001 for _trn_H-_psb_A.

Key words: DNA barcodes, ethnobotany, molecular markers, *Piper*, Thai medicinal *sakhan*.

INTRODUCTION

Sakhan, *jakhan* and *takhan* generic names are supplemented with specific suffixes, such as *sakhan daeng*, *jakhan jin*, and *takhan lek* are the names for *Piper* species growing in the forest. Also, *sakhan* is the name for powders or slices of medicinal *Piper* species sold at drugstores. *Piper* species used in traditional Thai medicine for a long time include well known species such as *Piper betle*, *Piper nigrum*, *Piper sarmentosum*, *Piper retrofractum* and unidentified species just called *sakhan*.

Piper species are commonly used by Thai people as vegetables, spices, decoration, in ceremonies and as traditional medicines. There are presently forty species documented in Thailand (Chaveerach et al., 2008) and some are commonly found cultivated in home gardens, which suggests that Thais have had a long relationship with them and are familiar with their use. *Piper* leaves contain distinctively aromatic and acrid volatile oils such as cadinene, carvacrol, caryophyllene, chavibetol, chavicol, eugenol, terpinyl and acetate (Dyer et al., 2004), piperine, piperlongumine, pyridine aikaloids, sesamin, tannins, oxalic acid and iron (De Waard and Anunciado, 1999; Teo and Banka, 2000).

Several *Piper* species have great economic and cultural importance among Thais and are used in complex spice mixtures and as medicines, stimulants, antiseptics and antioxidants (Chaveerach et al., 2006, 2008). Since *Piper* species are always used for medicinal plants, traditional healers will often take unidentified *sakhan* species as from the nearest forest. Some *Piper* species are made into powders or slices for pharmacies or used as cultivated species in Thailand as spices or

*Corresponding authors. E-mail: raccha@kku.ac.th. Tel: 66 4334-2908, 66 823095690. Fax: 66 4336-4169.

traditional medicines namely *P. betle*, *P. retrofractum* and *P. nigrum*. Therefore, the species of what is called *sakhan* will depend on geographic collection area, the seller, the traditional healer, the illness treated and the form of the final medicine (that is, only common species such as the four mentioned above are abundant enough to be turned into powder, while rarer species are usually just sold as dried slices). This leads us to assert that a better taxonomic understanding of the *Piper* genus and how common names relate to species leads to the benefit of knowing which species most effectively treats each illness.

DNA barcoding is a popular method for species identification and can be used in samples which have only a short region of reliable DNA or even highly degraded DNA found in processed food, fossil remains, and herbarium specimens. However, Taberlet et al. (2007) claimed that this approach only allows the identification to the level of families, but not genera or species in most cases. Conversely, there has been much more research of this approach in plants starting from 2003 by Hebert et al. (2003). Subsequently, there have been many studies testing standard barcoding regions in different plant taxa aiming to provide rapid, accurate and automatable species identification (Hebert and Gregory, 2005). The land plant chloroplast genome has been suitably proposed as a standard region for plant barcoding (Palmer, 1985, 1991; Downie and Palmer, 1991; Katayama and Ogihara, 1993; Downie et al., 1996; Thiede et al., 2007). There is still a lot of DNA barcoding research in progress such as Kress et al. (2005) who identified some flowering plants using certain regions and suggested that the sequences in the pair of loci, the nuclear internal transcribed spacer region and the plastid *trn*H-*psb*A intergenic spacer are potentially usable DNA regions for barcoding flowering plants.

As a standard protocol for barcoding all land plants, Chase et al. (2007) proposed to use two options of three regions each: *rpo*C1, *mat*K, and *trn*H-*psb*A intergenic spacer or *rpo*B, *mat*K and *trn*H-*psb*A. Newmaster et al. (2008) proposed using *mat*K and *trn*H-*psb*A to identify plants solely in Myristicaceae. Finally, Hollingsworth et al. (2009) at the Consortium for the Barcode of Life (CBOL) plant working group, recommended *rbc*L and *mat*K as the core DNA barcode for land plants. Our research aims to study ethnobotany of *sakhan* and make standard barcode markers for automatable identification of many species of the popular Thai medicinal plants named *sakhan*. Powder and slices of unknown species of *Piper* were also barcoded and compared against the known species in order to determine the species of the dried pharmaceutical samples.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials

Fresh plant materials were collected from sites described in Chaveerach et al. (2008). Powder and slices of *sakhan* were bought from pharmacies in Khon Kaen province, northeastern Thailand in 2008.

Procedures

Plant usage information was recorded from observations, market surveys, literature review and interviews with traditional healers and local people. Samples were collected and identified by morphological characters from Chaveerach et al. (2008). All collected samples from fresh plants and pharmacies were analyzed with DNA extraction, DNA barcoding amplification and DNA barcoding sequencing, as described below. DNA barcoding was done following Chase et al. (2007) suggestion of using the *rpo*C1, *trn*H-*psb*A and *mat*K regions. Standard sequence regions of seven known species were aligned and compared with stem slices and powder from pharmacy samples based on DNA barcoding sequence analysis.

DNA extraction

Genomic DNA was extracted in all collected samples using the Plant Genomic DNA Extraction Kit (RBC Bioscience). Extracted DNA was examined by subjecting it to 0.8% agarose gel electrophoresis stained with ethidium bromide and observed. The quality and quantity of DNA were determined by a gel documenting instrument. DNA samples were then diluted to a final concentration of 20 ng/µl, and these dilutions were used as DNA templates in the PCR reaction.

DNA barcoding amplification

Amplifications were performed for DNA barcoding development using forward and reverse primers, 5′-GTGGATACACTTCTTGATAATGG-3′ and 5′-TGAGAAAACATAAGTAAACGGGC-3′ for *rpoC*1 gene, 5′-TAATTTACGATCAATTCATTC-3′ and 5′-GTTCTAGCACAAGAAAGTCG-3′ for *mat*K gene, and 5′-GTTATGCATGAACGTAATGCTC-3′ and 5′-CGCGCATGGTGGATTCACAATCC-3′ for *trn*H-*psb*A (http://www.kew.org/barcoding/update.html; 28 January 2009). The reaction mixture was done in 25 µl consisting of GoTaq Green Master mix (Promega), 0.25 µM each primer, and 10 ng DNA template. The reaction mixture was incubated at 94°C for 1 min and the amplification was performed with the following thermal cycles: 35 cycles of denaturation for 30 s at 94°C, 40 s annealing at 53°C, 40 s extension at 72°C, and 5 min final extension at 72°C. Amplification products were detected by 1.2% agarose gel electrophoresis in TAE buffer and visualized using ethidium bromide staining.

DNA barcode sequencing

The amplified specific fragments of the studied samples were sequenced and the sequences were tested for genetic distances using MEGA software version 4 (Tamura et al., 2007). The sequences were submitted to GenBank database.

RESULTS

Morphological treatment

Collected fresh samples were identified using

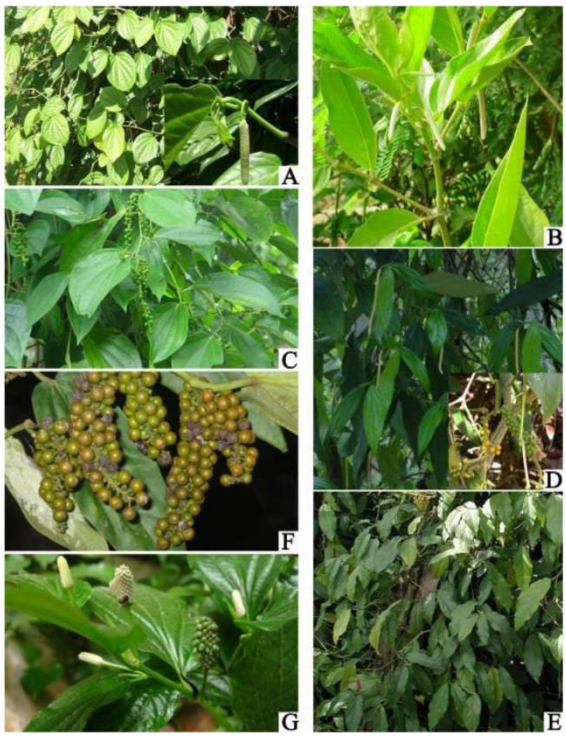

Figure 1. Collected plants, *P. betle* (A), *P. colubrinum* (B), *P. nigrum* (C), *P. pendulispicum* (D), *P. retrofractum* (E), *P. ribesioides* (F), and *P. sarmentosum* (G).

morphological characters from Chaveerach et al. (2008) for which the major distinguishing characters are stamen and stigma numbers and characters, floral bract morphology, leaf shape, and leaf venation. The collected fresh samples were identified as *P. betle* L. (*phlu*), *P. colubrinum* Link. (*prik thai tua phu*), *P. nigrum* L. (*prik thai*), *P. pendulispicum* C.DC. (*jakhan jin*), *P. retrofractum* Vahl. (*dee plee*), *P. ribesioides* Wall. (*takhan lek*), and *P. sarmentosum* Roxb. (*cha phlu*) as shown in Figure 1. Powder and slices of *sakhan* from pharmacies in Khon Kaen province are shown in Figure 2.

Ethnobotany treatment

The five species including *P. betle*, *P. nigrum*, *P. pendulispicum*, *P. retrofractum* and *P. sarmentosum* have long been used in traditional Thai medicine as mentioned in Chaveerach et al. (2006). The two most commonly used species are *P. colubrinum* and *P. ribesioides* and their uses are described subsequently.

P. colubrinum is cultivated in lowland gardens usually used as a rootstock for grafting *P. nigrum*, which is the most important economic plant in Thailand. *P. nigrum* are cultivated largely in eastern Thailand especially Chanthaburi province, but bacterial sensitivity has usually caused root rot. Therefore, agriculturalists currently use *P. colubrinum* as the rootstocks for *P. nigrum* in plantations (Figure 3). *P. colubrinum* is locally called "*prik thai tua phu*" which derives from its usage as a rootstock and the fact that it has only a male flower. *Prik thai* is the local name of *P. nigrum* and *tua phu* means "male plant". Stems of *P. ribesioides* have long been used to flavor food giving its spicy, peppery taste, as well as being a traditional medicine in Thailand. For food, *P. ribesioides* greatly improves the flavor and smell of *kaeng* (a Northeastern Thai food resembling a curry), such as in Loei province (a province at the Northeast Thai border with Laos) where it is used in *kaeng naw mai* (curry with bamboo shoot), *kaeng om* (curry with many kinds of

Figure 2. Sliced *sakhan* (A) and powdered *sakhan* (B) bought from pharmacies in Khon Kaen province, northeastern Thailand.

Figure 3. *Piper colubrinum* prepared as rootstocks (A) and the grafted plants of *P. nigrum* (B).

vegetables and a kind of meat such as fish, pork or beef), among other dishes, *P. ribesioides* is always added with pieces of *jakhan jin* (*P. pendulispicum*; Chaveerach et al., 2006). As a traditional medicine, all parts of *P. ribesioides* have been used to treat many different symptoms. The root is used to treat an illness caused from asthma, secrete sweat and treat abnormalities in the body's wind element. The stem helps secrete sweat, increases appetite and supports body elements activities and treats abnormalities in the body's wind element, excess phlegm, and disability of four body elements (earth, water, wind and fire), diarrhea, and abdominal pain. The leaves treat body wind element abnormality incurred in phlegm and blood, alleviate chest congestion, and excrete phlegm. The flowers treat urticaria. The fruits treat body air element abnormality. All parts are used for countering disabilities with and support of body element activities, and to treat diarrhea, abdominal pain, flatulence, and colic.

Molecular treatment

DNA barcoding amplifications for *rpo*C1, *mat*K, and *trn*H-*psb*A showed DNA fragment sizes of about 700, 900 and 500 bp, respectively (Figure 4).

Sequence alignment

DNA barcodes of the seven known *Piper* samples acted as standards for the powdered *sakhan* samples from pharmacies via sequence analysis and alignment (an example shown in Figure 5). The comparison of the genetic distance of the two sequences, *rpo*C1 and *trn*H-*psb*A, of an unknown powder and the seven studied species are shown in Tables 1 and 2. Genetic distances between species range from 0.036 (*P. pendulispicum* and *P. betle*) to 0.205 (*P. colubrinum* and *P. sarmentosum*) in the *rpo*C1 sequence. For the *trn*H-*psb*A sequence, the distances range from 0.004 (*P. betle* and *P. nigrum*) to 0.031 (*P. colubrinum* and *P. pendulispicum*). All studied sample sequences were submitted to the GenBank database with accession numbers shown in Table 3.

DISCUSSION

The *Piper* species sampled in the research were based on popularity of use among Thais, abundance, and ease

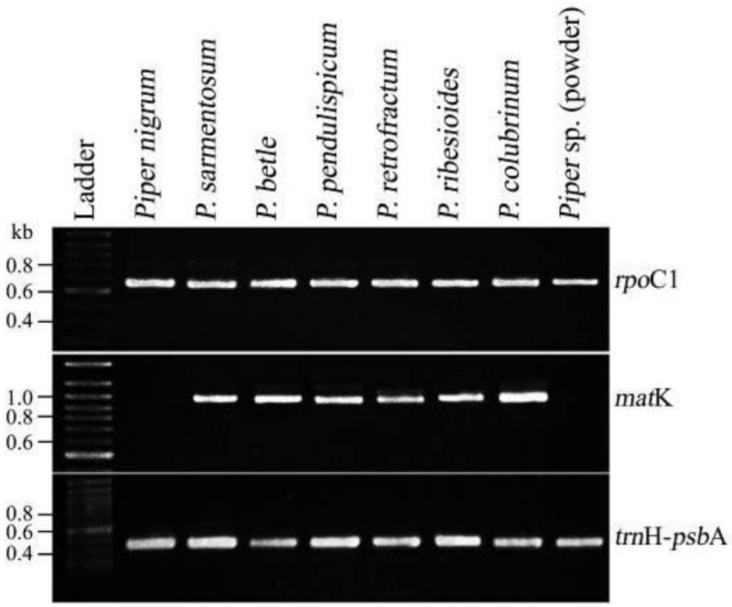

Figure 4. DNA barcode fragments of the seven fresh samples and powdered *sakhan* of the standard *rpo*C1, *mat*K, and *trn*H-*psb*A regions.

of collection for trade of powder and dried stem slices: *P. betle*, *P. colubrinum*, *P. nigrum*, *P. pendulispicum*, *P. retrofractum*, *P. ribesioides*, and *P. sarmentosum*. The other *Piper* species mentioned in Chaveerach et al. (2008) that grow in Thailand are not usually found ground or sliced because they grow mainly in evergreen forests, are rare, and are difficult to collect as these forests are protected areas and access is restricted by national law.

DNA extraction was successful for fresh samples and powdered *sakhan*. Powdered *sakhan* found in pharmacies should be made from a mixture of young and mature plant parts, but only the young plant parts yield viable DNA. While stem slices are usually made from mature plants because the plant's medicinal substances are mostly secondary metabolites and gradually accumulate as the plant ages, and therefore the more mature specimens are more powerful medicines. This meant that stems harvested for medicinal use are mature which lead to our unsuccessful DNA extraction attempts, even after trying other *sakhan* powders from other pharmacies. The factor should be considered before attempting DNA barcoding in other dried plants.

Chase et al. (2007) give two useful region combinations, *rpo*C1, *trn*H-*psb*A and *mat*K, and *rpo*B, *trn*H-*psb*A and *mat*K for barcoding all land plants. We tried the first option, but were unsuccessful as the amplification of *mat*K region failed with *prik thai* and powdered *sakhan*. In our second attempt to amplify *matK*, we were successful only with powdered *sakhan*. *Prik thai* may have base variations at the priming site caused by human activities. Since *prik thai* is a very important economic plant and widely planted in Thailand for medicine, food and spices. Human breeding of *prik thai*, fertilizers, soil, or weather may affect the genetic variation in the chloroplast DNA.

For *rpo*C1 sequence analysis, the distance values of *Piper* sp. and the other studied species are 0.113 (*Piper* sp. and *P. betle*) to 0.205 (*Piper* sp. and *P. retrofractum*) agreeing with the distance ranges of the other studied species (Table 1). The *trn*H-*psb*A distance values of *Piper* sp. and the other studied species are rather high, ranging from 0.602 (*Piper* sp. and *P. retrofractum*) to 0.614 (*Piper* sp. and *P. pendulispicum*, and *Piper* sp. and *P. colubrinum*) which are much higher values than the range found among the known species (Table 2). The sequence similarity had good enough resolution to determine fresh samples, but the dissimilarity of the powdered *sakhan* sequence from any studied sequence did not allow us to decide whether the unknown powdered *sakhan* was one of the studied species or

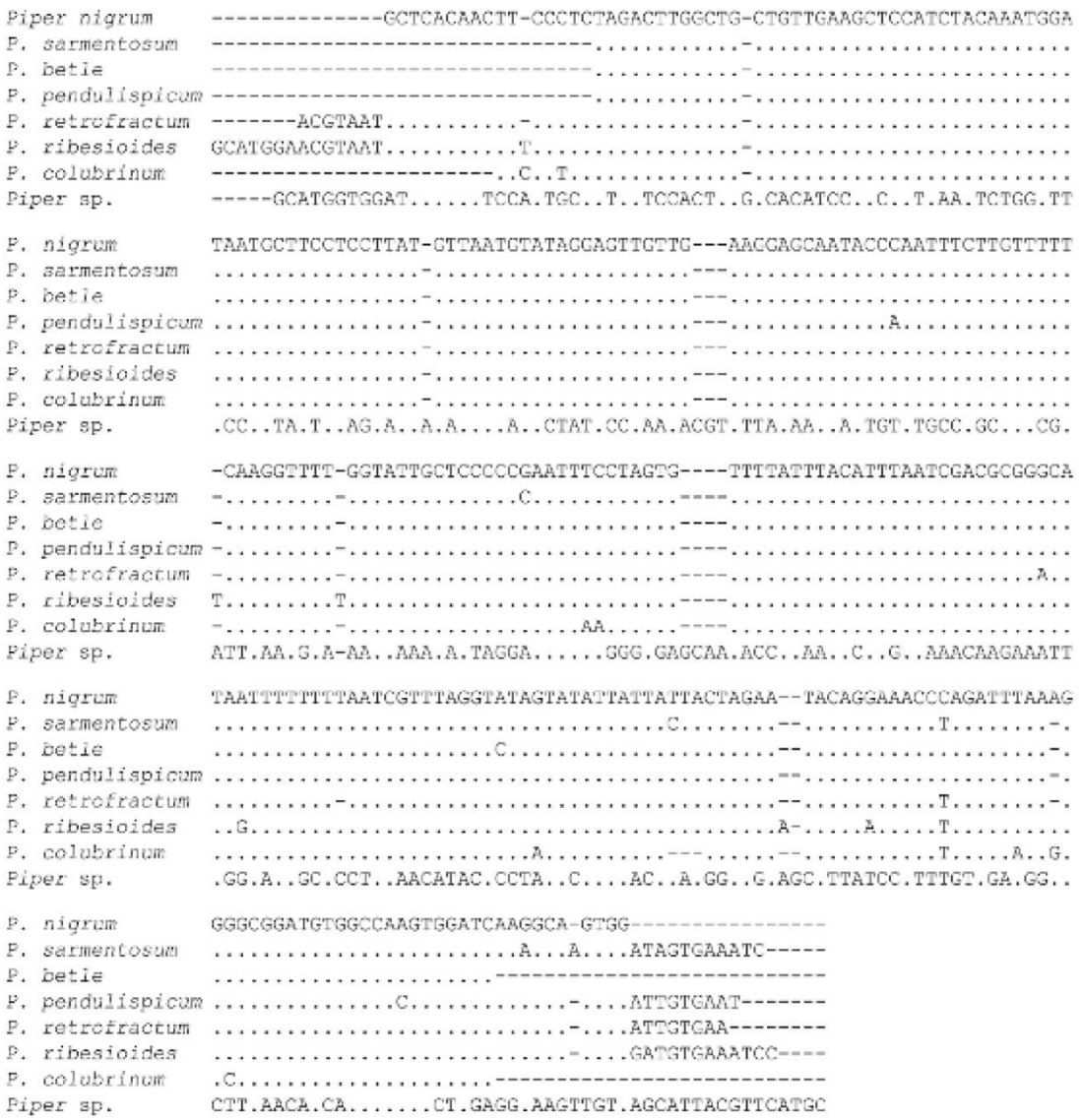

Figure 5. Sequence analysis of the *trn*H-*psb*A spacer region of the seven studied samples and an unknown powdered *sakhan* (*Piper* sp.) from a pharmacy in Khon Kaen province using MEGA4.

different species. To better make this determination, we would need sequences for all *Piper* in Thailand and perhaps worldwide. We are gradually accumulating barcodes for all the *Piper* species in Thailand, as shown

Table 1. Genetic distance (D)* matrix of *Piper* species from sequence analysis of the *rpo*C1 region.

Variable	*P. nigrum*	*P. sarmentosum*	*P. betle*	*P. pendulispicum*	*P. retrofractum*	*P. ribesioides*	*P. colubrinum*	*Piper* sp.
Piper nigrum	0.000							
P. sarmentosum	0.169	0.000						
P. betle	0.108	0.187	0.000					
P. pendulispicum	0.095	0.174	0.036	0.000				
P. retrofractum	0.113	0.172	0.086	0.079	0.000			
P. ribesioides	0.099	0.176	0.086	0.072	0.113	0.000		
P. colubrinum	0.133	0.205	0.041	0.065	0.108	0.113	0.000	
Piper sp.	0.149	0.205	0.113	0.122	0.133	0.142	0.129	0.000

*Overall D = 0.136.

Table 2. Genetic distance (D)* matrix of *Piper* species from sequence analysis of the *trn*H-*psb*A region.

	P. nigrum	*P. sarmentosum*	*P. betle*	*P. pendulispicum*	*P. retrofractum*	*P. ribesioides*	*P. colubrinum*	*Piper* sp.
Piper nigrum	0.000							
P. sarmentosum	0.008	0.000						
P. betle	0.004	0.012	0.000					
P. pendulispicum	0.008	0.016	0.012	0.000				
P. retrofractum	0.008	0.008	0.012	0.016	0.000			
P. ribesioides	0.012	0.012	0.016	0.020	0.012	0.000		
P. colubrinum	0.024	0.024	0.028	0.031	0.024	0.028	0.000	
Piper sp.	0.610	0.606	0.606	0.614	0.602	0.602	0.614	0.000

*Overall D = 0.360

by the sequences in GenBank database. This research shows advantages and disadvantages of barcoding for *Piper* species. However, one must consider the possibility of sample adulteration when attempting species determination as it is difficult to test adulterated powder or dried slice samples.

There are four Thai traditional medicine formulas used to treat four kinds of cancer (liver, lung, breast cervical and skin cancer), and *sakhan* is important because it is an ingredient in one of these, called “the Five Spices Formula” (*Tumrub benja kun*) which comprises *dee plee* (*P. retrofractum*), *cha phlu* (*P. sarmentosum*), *sakhan* (*Piper* sp.), and other two plant species, *Plumbago indica* Linn. and *Zingiber officinale* Roscoe (Juengprasert, 2010). In addition to the *Piper* species used in this formula, traditional healers in different regions of Thailand may often add other unidentified plants which may or may not be the same *Piper* species as powder or slices. The benefits of this research is to use species specific barcode markers to better determine the species of *Piper* for the medicinally important plants called *sakhan* in Thailand. This will lead to taking the right plant for the right disease.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was granted by Office of the Higher Education Commission. R. Sudmoon was

Table 3. Scientific names and GenBank accession numbers of the three barcoding regions of the *Piper* species studied.

Lab designation	Scientific name	Accession number		
		***rpo*C1**	***mat*K**	***trn*H-*psb*A**
Pi-1	*P. nigrum*	GQ500612	-	GQ891994
Pi-4	*P. sarmentosum*	GQ500613	GU372746	GQ891995
Pi-5	*P. betle*	GQ500614	GU372747	GQ891996
Pi-6	*P. pendulispicum*	GQ500615	GU372748	GQ891997
Pi-7	*P. retrofractum*	GQ500616	GU372749	GQ891998
Pi-14	*P. ribesioides*	GQ500617	GU372750	GQ891999
Pi-15	*P. colubrinum*	GQ500618	GU372751	GQ892000
Pi-B	*Piper* sp., unknown powder	GQ500619	-	GQ892001

supported by CHE-RES-PD scholar. Part of the research was supported by Khon Kaen University Research Fund.

REFERENCES

Chaveerach A, Mokkamul P, Sudmoon R, Tanee T (2006). Ethnobotany of the genus *Piper* (Piperaceae) in Thailand. Ethnobot. Res. Appl., 4: 223-231.

Chaveerach A, Sudmoon R, Tanee T, Mokkamul P (2008). The species diversity of the genus *Piper* from Thailand. Acta Phytotax. Geobot., 59: 105-163.

Chase MW, Cowan RS, Hollingsworth PM, Van Den Berg C, Madriñán S, Petersen G, Seberg O, Jørgsensen T, Cameron KM, Carine M, Pedersen N, Hedderson TAJ, Conrad F, Salazar GA, Richardson JE, Hollingsworth ML, Barraclough TG, Kelly L, Wilkinson M (2007). A proposal for a standardized protocol to barcode all land plants. Taxonomy, 56: 295-299.

De Waard PWF, Anunciado IS (1999). *Piper nigrum* L. In: De Guzman CC, Siemonsma JS (eds) Plant Resources of South-East Asia No. 13: Spices. Backhuys Publishers, Leiden, Pp.183-194.

Downie SR, Llanas E, Katz-Downie DS (1996). Multiple independent losses of the *rpo*C1 intron in angiosperm chloroplast DNA's. Syst. Bot., 21: 135-151.

Downie SR, Palmer JD (1991). Use of chloroplast DNA rearrangements in reconstructing plant phylogeny. In: Soltis PS, Soltis DE, Doyle JJ (eds) Molecular Systematics of Plants, Chapman and Hall, NY, pp. 14-35.

Dyer LA, Richards J, Dodson CD (2004). Isolation, synthesis, and evolutionary ecology of *Piper* amides. In: Dyer LA, Palmer AN (eds) *Piper*: A Model Genus for Studies of Evolution, Chemical Ecology, and Trophic Interactions, Kluwer Academic Publishers, Boston, pp. 117-139.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, De Waard JR (2003). Biological identifications through DNA barcodes. Proc. Roy. Soc. London, Ser. B, Biol. Sci., 270: 313-321.

Hebert PDN, Gregory TR (2005). The promise of DNA barcoding for taxonomy. Syst. Biol., 54: 852-859.

Hollingsworth PM, Forrest LL, Spouge JL, Hajibabaei M, Ratnasingham S, van der Bank M, Chase MW, Cowan RS, Erickson DL, Fazekas AJ, Graham SW, James KE, Kim KJ, Kress WJ, Schneider H, van Alphen Stahl J, Barrett SC, van den Berg C, Bogarin D, Burgess KS, Cameron KM, Carine M, Chacón J, Clark A, Clarkson JJ, Conrad F, Devey DS, Ford CS, Hedderson TA, Hollingsworth ML, Husband BC, Kelly LJ, Kesanakurti PR, Kim JS, Kim YD, Lahaye R, Lee HL, Long DG, Madriñán S, Maurin O, Meusnier I, Newmaster SG, Park CW, Percy DM, Petersen G, Richardson JE, Salazar GA, Savolainen V, Seberg O, Wilkinson MJ, Yi DK, Little DP (2009). A DNA barcode for land plants. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 106: 12794-12797.

Juengprasert W (2010). Director-General of Department for Development of Thai Traditional and Alternative Medicine, Dairy News, 12 September 2010. Available from http://thebeauty24hours.com/2010/09/27/herbs-and-cancer-treatment/ [accessed 8 November 2010].

Katayama H, Ogihara Y (1993). Structural alterations of the chloroplast genome found in grasses are not common in monocots. Curr. Genet., 23: 160-165.

Kress WJ, Wudak KJ, Zimmer EA, Weigt LA, Janzen DH (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 102: 8369-8374.

Newmaster SG, Fazekas AJ, Steeves AJ, Janovec J (2008). Testing candidate plant barcode regions in the *Myristicaceae*. Mol. Ecol. Resou., 8: 480-490.

Palmer JD (1985). Comparative organization of chloroplast genome. Annu. Rev. Genet., 19: 325-354.

Palmer JD (1991). Plastid chromosomes: structure and evolution. In: Bogorad L, Vasil IK (eds) The Molecular Biology of Plastids. Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Academic Press, San Diego, 7A: 5-53.

Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Gielly L, Miquel C, Valentini A, Vermat T, Corthier G, Brochmann C, Willerslev E (2007). Power and limitations of the chloroplast *trn*L (UAA) intron for plant DNA barcoding. Nucleic Acids Res., 35:el4.

Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007). MEGA4-Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. Mol. Biol. Evol., 24: 1596-1599.

Teo SP, Banka RA (2000). *Piper betle* L. In: Van Der Vossen HAM, Wessel M (eds) Plant Resources of South-East Asia No. 16: Stimulants, Backhuys Publishers, Leiden, Pp. 135-140.

Thiede J, Schmidt SA, Rudolph B (2007). Phylogenetic implication of chloroplast *rpo*C1 intron loss in the *Aizoaceae* (Caryophyllales). Biochem. Syst. Ecol., 35: 372-380.