



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การศึกษาจุลลักษณะวินิจฉัยแผ่นใบของพืชสกุลหญ้าปากกิ้ง (*Murdannia*)

A Study for Diagnostic Microscopic Characters among Species in Genus *Murdannia* Royle

โดย

ผศ.ดร.ทวีศักดิ์ อิติเมธาโรจน์ และคณะ

สิงหาคม 2556

สัญญาเลขที่ MRG5080006

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การศึกษาจุลลักษณะวินิจฉัยแผ่นใบของพืชสกุลหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia*)

A Study for Diagnostic Microscopic Characters among Species in Genus *Murdannia* Royle

ผู้วิจัย ผศ.ดร.ทวีศักดิ์ ธิติเมธาโรจน์

สังกัด ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์และเภสัชวินิจฉัย

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5080006

ชื่อโครงการ: การศึกษาจุลลักษณะวินิจฉัยแผ่นใบของพืชสกุลหญ้าปากกิ้ง (*Murdannia*)

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน: ผศ.ดร. ทวีศักดิ์ ธิติเมธาโรจน์

ภาควิชาเกษตรพืชพิษศาสตร์และเกษตรชีววินิจฉัย คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อีเมล: thathi@kku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ:

การศึกษาจุลลักษณะวินิจฉัยผิวแผ่นใบด้วยเทคนิคการขูดผิวใบ (Leaf scraping) และเทคนิคการทำตัวอย่างให้ใส (Leaf clearing) พืชสกุลหญ้าปากกิ้ง 7 ชนิด คือ **Murdannia bracteata**, **M. edulis**, **M. japonica**, **M. loriformis**, **M. macrocarpa**, **M. nudiflora**, และ **M. sp.** พบว่า มีลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์สามารถใช้เป็นลักษณะวินิจฉัยและจำแนกระดับชนิดพันธุ์ได้ ได้แก่ การปรากฏหรือไม่ปรากฏของขนขนาดใหญ่ (Macro-hairs) ซึ่งอาจมีความผันแปรเรื่องขนาดตามปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม และขนจิวมีต่อม (glandular micro-hair) ที่มีเซลล์ปลายเป็นรูปกระบอง ลวดลายของคิวทิน (Cutin patterns) ชนิดและการเรียงตัวของปากใบ (Stoma) การสะสมผลึกแคลเซียมออกซาเลต (Calcium oxalate crystals) ลักษณะที่เป็นแท่งยาวรวมเรียก Styloids และกลุ่มเนื้อเยื่อสเคลอเรนคิมาที่ขอบใบ (Marginal sclerenchyma) แสดงรายละเอียดในตารางเปรียบเทียบจุลลักษณะและรูปวิธานจำแนกชนิดพันธุ์พืชซึ่งเป็นองค์ความรู้ใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนสำหรับพืชสกุลนี้ (Diagnostic Innovation)

การศึกษานี้พบพืชที่ยังไม่สามารถระบุชนิดของพืชได้หนึ่งชนิด (*Murdannia* sp.) คาดว่าจะเป็นพืชที่ถูกค้นพบใหม่ของโลก (New to Science) นอกจากนี้ยังพบพืชที่ยังมีชื่อพฤกษศาสตร์ยังไม่ถูกต้องตามกฎหมายกำหนดชื่อ (New Combination)

คำหลัก : *Murdannia*, *Commelinaceae*, Anatomy, Character, Leaf

Abstract

Project Code : MRG5080006

Project Title :

A Study for Diagnostic Microscopic Characters among Species in Genus *Murdannia* Royle

Investigator : Assist.Prof.Dr. THAWEESAK THITIMETHAROCH

Faculty of Pharmaceutical Sciences, KHON KAEN UNIVERSITY

E-mail Address : thathi@kku.ac.th

Project Period : 2 Years

Abstract:

A diagnostic microscopic study of **Murdannia** species (**Murdannia bracteata**, **M. edulis**, **M. japonica**, **M. loriformis**, **M. macrocarpa**, **M. nudiflora** and **M. sp.**) were investigated by using leaf scraping and leaf clearing techniques.

The characters of macro-hairs (influence on environmental factors), glandular micro-hair (apical clavated-form = club shaped), cutin patterns, stomata type, occurrence of calcium oxalate crystals (styloids) and marginal sclerenchyma are diagnostic characters for the leaf anatomy. The comparative data and dichotomous key are newly reported as the leaf anatomical diagnostic innovation for the plants.

Moreover, **Murdannia sp.** is expected for a new to science species. Finally, **Murdannia discreta** is new combination.

Keywords : **Murdannia**, **Commelinaceae**, **Anatomy**, **Character**, **Leaf**

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

โครงการวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาและวิจัยเพื่อศึกษาจุลลักษณะวินิจฉัยแผ่นใบของพืช สกุลหญ้า ปักกิ่ง (*Murdannia*) วงศ์ Commelinaceae มีอุปสรรคทำให้ส่งรายงานล่าช้ากว่ากำหนด เนื่องจากความพร้อมของห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์สนับสนุนการวิจัยด้วยเทคนิคการวินิจฉัยที่ได้กำหนดไว้ และปัญหาเรื่องการสำรวจเก็บตัวอย่างภาคสนามซึ่งพืชกลุ่มนี้เป็นพืชที่พบในช่วงสั้น (ฤดูฝนเท่านั้น ฤดูอื่นส่วนใหญ่จะแห้งเหี่ยวหรือลงหัวอยู่ใต้ดินทำให้การสำรวจพบเจอได้ยาก) ไม่สามารถเดินทางสำรวจอย่างต่อเนื่องเนื่องจากระเบียบทางราชการ บางส่วนเป็นพืชป่าหายาก หรือเป็นพืชเฉพาะถิ่นหายาก ใช้เวลากับการตรวจสอบชนิดพันธุ์จนพบว่าบางชนิดมีการตั้งชื่อไม่ถูกต้องตามกฎหมาย (new combination) และบางชนิดน่าจะเห็นพืชที่ค้นพบใหม่ (new to science species) และยังมีปัญหาภัยพิบัติตามธรรมชาติทำให้ไม่สามารถเก็บชิ้นตัวอย่างได้ตามความคาดหวัง แต่อย่างไรก็ตามทำให้เกิดการบูรณาการความคิดใหม่เพื่อแก้ปัญหาและอุปสรรคต่างๆ โดยใช้ความร่วมมือจากอาจารย์ผู้สนใจร่วมผลงานศึกษาพืชกลุ่มนี้ จนทำให้ได้ทราบถึงคุณสมบัติทางเคมีและทางยาและใช้เป็นข้อมูลประกอบมาตรฐานการวินิจฉัยและจำแนกพืชสมุนไพรกลุ่มนี้ เพิ่มเติม 3 ด้านด้วยกัน ได้แก่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Anti-oxidation) องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมี การจำแนกและวินิจฉัยโดยเทคนิคครกเลขวาง (Thin Layer Chromatography) ทำให้เกิดผลผลิตด้านมหาบัณฑิต 3 คน และผลงานการเผยแพร่การวิจัยพืชกลุ่มนี้ทั้งระดับชาติและนานาชาติกว่า 10 เรื่อง (ทุกเรื่องมีการอ้างอิงการส่งเสริมและสนับสนุนเงินทุนวิจัย TRF-MRG5080006) นอกจากนี้ยังมีต้นฉบับรอการตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานอีกกว่า 4 เรื่อง (รอเพิ่มเติมความสมบูรณ์ เช่น แปลเป็นภาษาละติน สำรวจเพิ่มเติมการกระจายพันธุ์ ตรวจสอบพืชต้นแบบ และเอกสารอ้างอิงต้นฉบับของต้นแบบเหล่านี้เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากทุนพัฒนาศักยภาพ ในการทำงานวิจัยของ อาจารย์รุ่นใหม่ TRF-MRG5080006 จากสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2549 ได้รับการสนับสนุนการจัดตั้งห้องปฏิบัติการเพื่อการ วิจัยพืชสมุนไพร จากคณะเภสัชศาสตร์ และภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และ ได้รับการสนับสนุนจากเพื่อนร่วมงานซึ่งเป็นผู้ความร่วมมือการบูรณาการการวิจัย ได้แก่ ผศ.ดร.สุพัตรา ปรศุ พัฒนา อาจารย์ประจำภาควิชาพืชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เทคนิคการศึกษาปริมาณ รวมสารฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Total Phenolic Content and Anti-Oxidation techniques) และ ผศ.ดร.ศรีสมพร ปรีเปรม อาจารย์ประจำภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์และเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เทคนิคการศึกษารางคเลขผิวนาง (Thin-Layer Chromatography (TLC)) และ ขอขอบคุณ ศ.ดร. ประนอม จันทระโนทัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับกฎการกำหนดชื่อพฤกษศาสตร์ และขอขอบคุณคณะแพทยศาสตร์ที่อนุเคราะห์ชุด กล้องถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์

ขอขอบคุณ ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

1. ดร. โรเบิร์ต เฟเดน (Dr. Robert B. Faden) ซึ่งเป็นความร่วมมือในการศึกษาวิจัยเพื่อจัดทำตำราพันธุ์ พฤกษชาติวงศ์ Commelinaceae สำหรับประเทศไทย

Department of Systematic Botany, MRC-166, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, PO Box 37012, Washington DC, 20013-7012, USA.

Tel: 202-633-0971 Fax: 202-7862563

E-mail: fadenr@si.edu or faden.robert@nmnh.si.edu

2. รศ.ดร. วราภรณ์ ภูตะสุน

ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์และเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

จังหวัดขอนแก่น 40002 โทร. 043-362093

อีเมลล์: waraporn@kku.ac.th

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	4
ระเบียบและวิธีวิจัย	4
เอกสารอ้างอิงที่สำคัญของโครงการวิจัย	7
ผลการวิจัย	11
รูปวิธานจุดลักษณะจำแนกระดับชนิดพันธุ์	23
สรุปและวิจารณ์	24
ข้อเสนอแนะและปัญหา	24
ภาคผนวก	27

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia bracteata*

14

(C. B. Clarke) J. K. Morton ex D.Y. Hong

- ก. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินหนาตลอดลายร่างแห
- ข. แสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 4 เซลล์ของเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน
- ค. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง
- ง. แสดงเซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ
- จ. แสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ของเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง
- ฉ. แสดงเซลล์สเกลอแรงคิม่าที่ขอบใบติดสีเข้มและขนหนาม (Prickle)

รูปที่ 2 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia edulis* (Stokes) Faden

15

- ก. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินหนาตลอดลายตามยาวเซลล์
- ข. แสดงเซลล์ขนแถวเดียวบนผิวใบด้านล่าง
- ค. แสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ของเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง
- ง. ลวดลายเป็นคลื่นตามยาว สะสมคิวทินหนาตลอดลายตามยาว
- จ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลต และท่อลำเลียงที่มีลวดลายเป็นแบบ Spiral
- ฉ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตภายใต้แสงโพลาไรซ์ (Polarized light)

รูปที่ 3 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia japonica* (Thunberg) Faden

16

- ก. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินหนาตลอดลายร่างแห และแสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตอยู่ชั้นใต้เนื้อเยื่อผิว
- ข. แสดงเซลล์ขนแถวเดียวจะพบเฉพาะบริเวณใกล้ขอบใบของฐานใบเท่านั้น และรูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวจะมีรูปร่างหลายเหลี่ยมกลม
- ค. แสดงแสดงเซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่า และยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ
- ง. แสดงขนจิว และแสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์
- จ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลต ฉ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็ก

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia loriformis*

17

(Hasskarl) R.S. Rao & Kammathy

ก. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินหนาตลอดยาวร่างแห

และเซลล์ชั้นแถวเดียว 2 เซลล์ที่มีฐานเซลล์กว้างกว่ามาก

ข. แสดงขนจิว

ค. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง สะสมคิวทินหนาตลอดยาวร่างแห และเซลล์ชั้นแถวเดียว 2-4 เซลล์

ง. แสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ของเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง

จ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลต ฉ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตภายใต้แสงโพลาไรซ์ (Polarized light)

รูปที่ 5 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia macrocarpa* D.Y. Hong

18

ก. แสดง เนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินบางมีลวดลายตามยาว

ข. แสดงเนื้อเยื่อผิวบริเวณใกล้ขอบใบด้านบนซึ่งจะพบเซลล์ปากใบ แสดงขนปุ่มที่บริเวณขอบใบ

ค-ง. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง สะสมคิวทินบางมีลวดลายตามยาว แสดงเซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบ

มีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ

จ. แสดงขนจิว

ฉ. แสดงขนจิว และแสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์

รูปที่ 6 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia nudiflora* (L.) Brenan

19

ก. แสดง เนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินบางมีลวดลายตามยาว

ข. แสดงเนื้อเยื่อผิวบริเวณใกล้ขอบใบด้านบนที่มักพบเซลล์ปากใบ แสดงเซลล์ชั้นแถวเดียวที่บริเวณขอบใบ

ค. แสดงเซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบการเรียงตัวของเซลล์ปากใบ

จัดเรียงอย่างเป็นระเบียบ

ง. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง สะสมคิวทินบางมีลวดลายตามยาว แสดงขนจิว

จ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็ก (Micro crystal) ฉ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็กภายใต้แสงโพลาไรซ์ (Polarized light)

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 7 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ <i>M. sp.</i>	20
ก. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินหนาตลอดใบ	
ข. แสดงขนจิวบนผิวใบด้านบน	
ค-ง. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง สะสมคิวทินหนาตลอดใบ แสดงขนจิว และแสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์	
จ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็ก (Micro crystal)	
ฉ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็กภายใต้แสงโพลาไรซ์ (Polarized light)	

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 จุดลักษณะเปรียบเทียบพืชบางชนิดในสกุล Murdannia	21

บทนำ

Thitimetharoch and et al (2004) ได้สำรวจและศึกษาพืชสกุลหญ้าน้ำปิ้ง (Murdannia) วงศ์ ผักราบ (Commelinaceae) ในประเทศไทยพบว่ามีมากที่สุดถึง 14 ชนิด ได้แก่ *Murdannia clandestina*, *M. edulis*, *M. divergens*, *M. gigantea*, *M. japonica*, *M. loriformis*, *M. macrocarpa*, *M. medica*, *M. nudiflora*, *M. pauciflora*, *M. spectabilis*, *M. spirata*, *M. vaginata* และ *M. sp.* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกและเมล็ดในการจัดจำแนกและระบุชนิด และได้เสนอชื่อพฤกษศาสตร์ที่ถูกต้องของ *Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Ras et Kammathy (หญ้าน้ำปิ้ง) เป็น *M. bracteata* (C. B. Clarke) J. K. Morton ex D. Y. Hong

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ (Anatomy description)

Tomlinson (1969) ศึกษาทางกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบของสกุล *Murdannia* พืชวงศ์ผักปราชญ์ (Commelinaceae) ได้สรุปลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ทั่วไป คือ ลักษณะปรากฏของขนจี้มี มีต่อม (Glandular micro-hairs) และท่อเมือกที่มีการสะสมผลึกรูปเข็ม (Raphide-canals) เป็นลักษณะเด่นที่พบในพืชวงศ์ผักปราชญ์ และได้รวบรวมลักษณะวินิจฉัยทั่วไปที่ใช้ในการจำแนกของพืชวงศ์นี้คือ เนื้อเยื่อผิวใบ (Epidermis) ขน (Hair) ปากใบ (Stomata) ชั้นใต้ชั้นเนื้อเยื่อผิว (Hypodermis) พาเลทเซลล์ (Palisade) ซิลิกา (Silica bodies) และผลึกแคลเซียมออกซาเลต (Calcium oxalate crystals) และลักษณะสำคัญที่ใช้จัดจำแนกได้แก่ ขน จะปรากฏ 2 แบบ คือขนจี้ 3 เซลล์และมีต่อม (3-celled glandular micro-hair) ซึ่งไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ใช้ขนาดและรูปร่างลักษณะในการจัดจำแนกระดับชนิดได้ เนื่องจากสิ่งแวดล้อมมีผลต่อลักษณะปรากฏของขนจี้้น้อยมาก ส่วนขนขนาดใหญ่ (Macro-hair) ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่ามีความหลากหลายตั้งแต่ ขนมีเซลล์เดียว (Unicellular hair) ขนแบบตะขอ (Hook hair) แต่ขนขนาดใหญ่จะเปลี่ยนตามสิ่งแวดล้อมไม่สามารถใช้เป็นลักษณะจัดจำแนกได้ ลำต้นพืชสกุลหญ้าน้ำปิ้ง (*Murdannia*) เขาได้สรุปว่ามีขนเล็กน้อยหรือไม่มีขนเลยที่ผิวใบด้านบน (Adaxial) เนื้อเยื่อผิวมีการสะสมคิวทินหนา เกิดเป็นลวดลาย เช่น รังแห (Reticulate) หรือลวดลายตามยาว (Striate) ปากใบมีลักษณะแบบมีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คู่ 6 เซลล์ (6-celled stomata) เนื้อเยื่อชั้นรองผิวมีการเรียงตัวอย่างต่อเนื่องตลอดแนวผิวใบด้านบน ส่วนขอบใบ จะพบเนื้อเยื่อสเคลอเรนไคมา (Sclerenchyma) หรือเซลล์เส้นใย

Faden & Inman (1991) ศึกษาทางกายวิภาคศาสตร์ของแผ่นใบสกุล *Anthericopsis* และ *Murdannia* ในประเทศอัฟริกา ทำการศึกษาสกุล *Murdannia* 9 ชนิด ได้สรุปลักษณะเด่นของพืชสกุลนี้คือ เยื่อผิบบาง (Thin epidermis) การสะสมและลวดลายของคิวทิน (Patterned cuticle) มีความต่อเนื่องของเนื้อเยื่อชั้นรอง

ผิว (Continuous hypodermis) และบริเวณขอบใบมีกลุ่มเนื้อเยื่อสกลอรงกิมาชัดเจน และลักษณะวินิจัยทั่วไปของไม้พุ่มเส้นกลางใบชัดเจน มีเนื้อเยื่อชั้นรองจากผิวหนึ่งถึงหลายชั้น เรียงต่อเนื่องกันอยู่ด้านบนพบชั้นแพลิสเด (Parisade) 1 หรือ 2 ชั้น ด้านบนมีท่อผลึก (Rhapide canals) อยู่ใต้ชั้นเนื้อเยื่อชั้นรองจากผิว ปากใบเป็นชนิดที่มีเซลล์ข้างเซลล์เคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ (Commelina type) พบทั้งด้านบนและด้านล่างของแผ่นใบ หรืออาจพบปากใบชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 4 เซลล์ (Tradescantia type) บริเวณขอบใบด้านบน

Thitimetharoch and et al. (2004) ศึกษาทางพฤกษศาสตร์แผ่นใบพืชบางชนิดในวงศ์ผักปราบ คือ *Murdannia japonica* ได้สรุปลักษณะเด่นของพืชสกุลนี้คือ รูปแบบผลของกึ่งดอก ความต่อเนื่องของชั้นเนื้อเยื่อผิว พบกลุ่มเนื้อเยื่อสกลอรงกิมาชัดเจนที่ขอบใบ และได้รายงานลักษณะผลึกแคลเซียมออกไซด์ขนาดเล็ก (Styloids) และการสะสมสมแทนนินในชั้นเนื้อเยื่อมีโซฟิล เป็นครั้งแรก

ปัญหาที่ทำการวิจัยและความสำคัญของปัญหา:

เป็นการวิจัยเพื่อความรู้ใหม่เกี่ยวกับการวินิจฉัยและตรวจหาเอกลักษณ์ทางจุลลักษณะของพืชในสกุลหญ้าปากกิ้งที่พบในประเทศไทย ซึ่งผลการศึกษาที่ได้จะเป็นการรายงานผลการศึกษาวินิจฉัยที่สมบูรณ์และสามารถใช้เป็นเอกสารค้นคว้าอ้างอิงได้เป็นครั้งแรกโดยยังไม่มีเคยมีรายงานปรากฏมาก่อน และยังสามารถใช้ประกอบการวินิจฉัยพืชกลุ่มนี้โดยไม่ต้องรอฤดูกาลออกดอกและติดผล ซึ่งอาจจะปรากฏเพียงปีละหนึ่งครั้งเท่านั้น พืชกลุ่มนี้ยังมีปัจจัยจำกัดที่สำคัญอีกประการคือ มีส่วนต่างๆ โดยเฉพาะกลีบดอกที่บอบบาง และดอกจะมีช่วงเวลาที่บ้านแตกต่างกันมากตั้งแต่เช้าตรู่จนกระทั่งเย็น การวินิจฉัยในตัวอย่างแห้งจึงมีความยุ่งยากกว่าปกติ ดังนั้นแผ่นใบจึงเป็นส่วนที่ปรากฏที่สะดวกต่อการนำมาศึกษาเพื่อตรวจหาจุลลักษณะวินิจัยสำหรับระบุชนิดพันธุ์ และข้อมูลการศึกษานี้ยังใช้ประกอบการกำหนดลักษณะมาตรฐานและลักษณะวินิจัยของพืชสมุนไพร เครื่องยาและผงยาได้อีกด้วย การศึกษาดังกล่าวจะสนับสนุนการศึกษาวินิจฉัยเชิงลึกและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยเฉพาะเคมีทางยา ข้อมูลทางวิชาการที่ถูกต้องและเป็นมาตรฐานจะมีความสำคัญต่อการพัฒนาการวิจัยสมุนไพรไทยและเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคสมุนไพร ตัวอย่างเช่น พืชสมุนไพร “หญ้าปากกิ้ง” ซึ่งเป็นสมุนไพรนำมาจากประเทศจีนตั้งแต่อดีตและได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้นในแต่ละปี เชื่อว่ามีสรรพคุณบำรุงสุขภาพ เพิ่มภูมิคุ้มกันและต้านการเกิดมะเร็ง มีการใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย ปัจจุบันพืชสมุนไพรหญ้าปากกิ้งได้มีการพัฒนาการใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่างๆ เช่น น้ำคั้นสดดื่มดื่ม สมุนไพรอัดเม็ดหรือบรรจุแคปซูล ขณะที่ยังไม่มีเคยมีรายงานการศึกษาทางวิชาการถึงลักษณะวินิจัยและมาตรฐานสมุนไพร นอกจากนี้ยังมีการศึกษามากมายที่เกี่ยวข้องกับหญ้าปากกิ้ง ที่มีการอ้างอิงและระบุชนิดพันธุ์ในเอกสารเผยแพร่ทางวิชาการจำนวนมากในประเทศไทย อ้างว่าพืชสมุนไพรหญ้าปากกิ้งมีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Murdannia loriformis* (Hassk.) R.S. Rao & Kammathy แต่แท้จริงแล้วสมุนไพรชนิดนี้มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *M. bracteata* (C.B. Clarke) J.K.

Morton ex D.Y. Hong (Thitimetharoch, et al., 2004) การวินิจฉัยพืชชนิดพันธุ์หรือความเข้าใจผิด (Misidentification & Misunderstood) เป็นสาเหตุหนึ่งที่มีความสำคัญในการพัฒนาการวิจัยและการสืบค้นข้อมูลสมุนไพรในระบบสารสนเทศที่ได้มาตรฐานจากแหล่งต่างๆ ทำให้การศึกษาวิจัยในวิทยาศาสตร์สาขาต่างๆ ที่เกี่ยวข้องไม่สามารถค้นหาข้อมูลหรืออ้างอิงข้อมูลอย่างถูกต้องและเป็นสากลได้ สำหรับพืชท้องถิ่นที่มีลักษณะคล้ายกับพืชสมุนไพรหลักกึ่งในประเทศไทยมีประมาณ 25 ชนิด รวมถึง *M. medica* (Lour.) D.Y. Hong ซึ่งมีการใช้ประโยชน์ทางยาที่ผู้ตั้งชื่อพฤกษศาสตร์ได้สำรวจและบันทึกข้อมูลไว้ในอดีตมีความหมายว่าเป็นพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการรักษา บำบัดโรค นอกจากนี้ยังมีข้อมูลการใช้ประโยชน์จากพืชสกุลนี้ในสมุนไพรว่านข้าวเหนียว (*M. edulis* (Stokes) R.B. Faden) ในประเทศอินเดียใช้รากแห้งบดผสมกับน้ำคั้นจากใบกระเพรารักษาอาการหลังเร็วในเพศชาย และนำรากแห้งผสมน้ำตาลจะช่วยปลูกกำหนดและรักษามะเร็งได้ (Jain and DeFillips, 1991) ผักลิ้มผัวเล็กหรือกินกุ่มน้อย (*M. nudiflora* (L.) Brenan) ใช้ทั้งต้นเป็นยาแก้ไข้ ใช้น้ำคั้นทำความสะอาดแผลเรื้อรังและลดอาการบวม แก้บิดหรือเป็นหมัน (Perry, 1980) หรือรักษาโรคจากเชื้อรา (Jain and DeFilipps, 1991) ยาเย็นหรือแก้หัวกระต่าย (*M. spectabilis* (Kurz) Faden) ใช้หัวได้รักษาอาการท้องผูก หืดหรือปัสสาวะกระปริดกระปอย (Perry, 1980) ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะช่วยสนับสนุนการวิจัยเชิงลึกในสาขาที่เกี่ยวข้องต่อไป แต่การศึกษาเคมีทางยาและลักษณะวินิจฉัยทางจุลลักษณะในพืชสกุลนี้ยังไม่เคยมีปรากฏในเอกสารอ้างอิงวิชาการมาก่อน ข้อมูลดังกล่าวจึงมีประโยชน์ต่อการกำหนดและจัดทำมาตรฐานคุณภาพสมุนไพรและเครื่องยาเพื่อการควบคุมคุณภาพและมาตรฐานสมุนไพร อีกทั้งยังใช้เป็นคู่มือมาตรฐานสำหรับวินิจฉัยสมุนไพร เครื่องยาหรือผลิตภัณฑ์สำหรับการนำเข้าหรือส่งออกวัตถุดิบในอนาคต และนอกจากนี้ผู้วิจัยยังคาดว่าพืชที่พบใหม่สำหรับประเทศไทย (New record species) และพืชที่คาดว่าจะจะเป็นชนิดใหม่ของโลก (New to science) เพิ่มเติม Thitimetharoch, et al. (2004) ได้รายงานผลการศึกษาล่าสุดว่าพืชในสกุลนี้มีมากถึง 14 ชนิดพันธุ์ในประเทศไทย *Murdannia japonica* เป็นชนิดเดียวที่ได้ศึกษาแล้วและพบว่ามีความคล้ายคลึงทางจุลลักษณะที่ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษามาก่อนคือการพบผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็ก (styloids) และเซลล์สะสมแทนนินในชั้นมิซิฟิลล์ซึ่งเป็นรายงานการค้นพบลักษณะดังกล่าวเป็นครั้งแรก ซึ่งจะเป็นประโยชน์สำหรับการวินิจฉัยและสามารถตีพิมพ์ผลงานระดับนานาชาติได้ในอนาคตและยังทำให้ทราบว่ากรบรีโอกพืชกลุ่มนี้อาจมีผลต่อสุขภาพไตผู้บริโภคมสมุนไพรอย่างต่อเนื่องได้เนื่องจากการสะสมผลึกแคลเซียมปริมาณมากภายในเซลล์

การวิจัยครั้งนี้ยังเป็นการสำรวจเพิ่มเติมและเป็นการริเริ่มสร้างห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาและการวิจัยลักษณะวินิจฉัยและเอกลักษณ์พืชสมุนไพรและยังเป็นการเพิ่มประสบการณ์ในการพัฒนาศักยภาพการวิจัยของบุคลากร นอกจากนี้ยังเป็นการเก็บรวบรวมตัวอย่างที่เป็นมาตรฐานของสมุนไพรและเครื่องยาสำหรับหน่วยงานเพื่อการศึกษา อ้างอิงและวิจัยเชิงลึกต่อไป โดยความรู้ทางวิชาการที่ได้สามารถใช้เป็น

มาตรฐานสมุนไพร เครื่องยาและผงยา และจะสามารถจัดทำเอกสารเผยแพร่ทางวิชาการในระดับนานาชาติเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับศึกษาหรืออ้างอิงในสาขาที่เกี่ยวข้องๆ

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย :

1. เพื่อสำรวจ ศึกษาจุลลักษณะวินิจฉัยและเอกลักษณ์ (Diagnostic Microscopic Characters) แผ่นใบของพืชสมุนไพรหญ้าปักกิ่งและพืชในสกุลเดียวกัน
2. จัดทำรูปวิธานจุลลักษณะวินิจฉัยเพื่อจำแนกและระบุชนิดพันธุ์ (Diagnostic key)
3. เพื่อจัดทำและเก็บรวบรวมตัวอย่างมาตรฐานอ้างอิงพืชสมุนไพร เครื่องยาและสไลด์ถาวรทางจุลลักษณะแผ่นใบพืชสกุลหญ้าปักกิ่งในประเทศไทย

ระเบียบวิธีวิจัย:

เป็นการสำรวจ เก็บข้อมูลและทำการศึกษาค้นคว้าในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

ภาคสนาม:

การออกสำรวจ เก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรและเครื่องยาในสกุลหญ้าปักกิ่งทั่วทุกภูมิภาคในประเทศไทยเพื่อนำมาศึกษาลักษณะวินิจฉัยและเอกลักษณ์ทางจุลทัศน์พร้อมจัดทำตัวอย่างมาตรฐานอ้างอิงเพื่อการศึกษาและวิจัยในอนาคตสำหรับวิทยาศาสตร์สาขาอื่นที่เกี่ยวข้อง ที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น พิพิธภัณฑ์พืช กรมป่าไม้ และ พิพิธภัณฑ์พืช กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างบางส่วนถูกเก็บไว้เพื่อศึกษาวิจัยในภาคปฏิบัติการ โดยจะออกสำรวจพื้นที่ภาคสนามทุกภูมิภาค ทำการเปรียบเทียบตัวอย่างที่เก็บมาได้ด้วยตัวอย่างมาตรฐานที่พิพิธภัณฑ์พืช กรมป่าไม้ และ พิพิธภัณฑ์พืช กรมวิชาการเกษตร แล้วทบทวนข้อมูลทางพฤกษศาสตร์เพื่อระบุชนิดพันธุ์

ภาคปฏิบัติการ :

กิจกรรมที่ 1: ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพิ่มเติมด้วยกล้องจุลทัศน์พร้อมประมวลผลการศึกษาแต่ละครั้งสำหรับการระบุชนิดพันธุ์ที่ถูกต้อง ตัวอย่างที่ถูกศึกษาจะเก็บเป็นตัวอย่างมาตรฐานอ้างอิง

กิจกรรมที่ 2: ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของแผ่นใบโดยใช้เทคนิคการขูดตัวอย่าง (Leaf scraping method) การทำตัวอย่างให้ใส (Leaf clearing method) พร้อมทั้งศึกษาโดยการตัดตามขวางด้วยวิธีพาราฟิน (Paraffin method) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

วิธีการขูดผิวใบ (leaf scraping) เลือกแผ่นใบที่สมบูรณ์เจริญเต็มที่แล้ว มาขูดผิวแผ่นใบด้านบนและด้านล่างให้บางในส่วนของปลายใบ กลางใบและขอบใบ ฐานใบ เพื่อศึกษาเนื้อเยื่อชั้นผิว ล้างน้ำให้สะอาด ย้อมด้วยสีชาฟรานิน (1% safranin) ในน้ำประมาณ 3 ชั่วโมง นำไปดึ่งน้ำออกด้วยกระบวนการชุดลำดับเอธิลแอลกอฮอล์ 15%, 30%, 50%, 70%, 95% และ 100% ตามลำดับ จากนั้นนำไปผ่านแอลกอฮอล์บริสุทธิ์และไซลีน อัตราส่วน 1 : 1 และไซลีนบริสุทธิ์ ตามลำดับ ขึ้นตอนละประมาณ 15 นาที (Johansen, 1940) นำชิ้นตัวอย่างไปเคลือบและผนึกเป็นสไลด์ถาวรด้วยสารเคลือบสังเคราะห์ DePeX แล้วตรวจลักษณะกายวิภาคศาสตร์พร้อมถ่ายภาพและบันทึกผลการศึกษา

วิธีการทำชิ้นตัวอย่างให้ใส (leaf clearing) เลือกแผ่นใบที่สมบูรณ์และเจริญเต็มที่แล้วมาตัดแบ่งส่วนปลายใบ กลางใบและขอบใบ ฐานใบ ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีเอธิลแอลกอฮอล์ 70% และใช้ตะแกรงพลาสติกวางบนตัวอย่าง ก่อนเปลี่ยนถ่ายสารละลายเอธิลแอลกอฮอล์ในความเข้มข้น 95% และ 100% ตามลำดับขึ้น แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5% และสารละลายอิมมัลซิฟิเคชันไฮดรอลิก ในตู้อบที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส ขึ้นตอนละประมาณ 15 นาที ก่อนนำไปดึ่งน้ำออกด้วยกระบวนการชุดลำดับเอธิลแอลกอฮอล์ 50%, 70% และ 95% ตามลำดับ ย้อมด้วยสีชาฟรานินผสมกับซีเลสติน บลู ทั้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง ล้างสีออกด้วย เอธิลแอลกอฮอล์ 95% จากนั้นนำไปผ่านแอลกอฮอล์บริสุทธิ์และแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ผสมไซลีน อัตราส่วน 1 : 1 และไซลีนบริสุทธิ์ ตามลำดับ ขึ้นตอนละประมาณ 15 นาที (Johansen, 1940) นำชิ้นตัวอย่างไปเคลือบและผนึกเป็นสไลด์ถาวรด้วยสารเคลือบสังเคราะห์ DePeX แล้วตรวจลักษณะกายวิภาคศาสตร์พร้อมถ่ายภาพและบันทึกผลการศึกษา

กรรมวิธีพาราฟิน (paraffin method) ทำการเก็บและตัดแบ่งตัวอย่างที่สดและสมบูรณ์ ให้ขนาดชิ้นตัวอย่างที่มีขนาดไม่เกิน 5x10 มม. ใส่ลงในขวดสารละลายฆ่าและรักษาสเซลล์ (fixative) จากนั้นทำการดูดอากาศออกจากเซลล์และเนื้อเยื่อแล้วแช่ในสารละลายฆ่าและรักษาสเซลล์ อย่างน้อย 24 ชั่วโมง ล้างชิ้นตัวอย่างด้วยแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 50 % ดึงน้ำออกจากตัวอย่างด้วย กระบวนการชุดลำดับเอธิลแอลกอฮอล์ 70%, 95% และ 100% ตามลำดับ (Faden and Inman, 1996) แล้วนำพาราฟินเข้าสู่ในเซลล์ตัวอย่าง จึงทำการฝังชิ้นตัวอย่างและตัดชิ้นตัวอย่างด้วยไมโครโทมแบบมือหมุนจนได้รับบ่อน ที่มีความหนาของชิ้นตัวอย่าง 10-20 ไมโครเมตร ทำการย้อมด้วยสีชาฟรานิน และ ฟาสกรีน ล้างสีส่วนเกินออกด้วยสไลด์ตัวอย่างแช่ในไซลีน (Sass, 1964) นำชิ้นตัวอย่างไปเคลือบและผนึกเป็นสไลด์ถาวรด้วยสารเคลือบสังเคราะห์ DePeX แล้วตรวจลักษณะกายวิภาคศาสตร์พร้อมถ่ายภาพและบันทึกผลการศึกษา

ตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติมก่อนประมวลผลการศึกษา วิจัยและสรุปผลการศึกษาแล้วจัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์เพื่อเผยแพร่ผลงานวิชาการ

ผลวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature Review) และเอกสารอ้างอิง

เป็นการวิจัยเพื่อความรู้ใหม่เกี่ยวกับการวินิจฉัยและตรวจหาเอกลักษณ์ทางจุลลักษณะของพืชในสกุลหญ้าปักกิ่งที่พบในประเทศไทย ซึ่งผลการศึกษาที่ได้จะเป็นการรายงานผลการศึกษาวินิจฉัยที่สามารถใช้เป็นเอกสารค้นคว้าอ้างอิงได้เป็นครั้งแรกโดยยังไม่เคยมีรายงานปรากฏมาก่อน และยังสามารถใช้ประกอบการวินิจฉัยพืชกลุ่มนี้โดยไม่ต้องรอฤดูกาลออกดอกและติดผล ซึ่งอาจจะปรากฏเพียงปีละหนึ่งครั้งเท่านั้น พืชกลุ่มนี้ยังมีปัจจัยจำกัดที่สำคัญอีกประการคือ มีส่วนต่างๆ โดยเฉพาะกลีบดอกที่บอบบาง และดอกจะมีช่วงเวลาที่บานแตกต่างกันมากตั้งแต่เช้าตรู่จนกระทั่งเย็น การวินิจฉัยในตัวอย่างแห้งจึงมีความยุ่งยากกว่าปกติ ดังนั้นแผนใบจึงเป็นส่วนที่ปรากฏที่สะดวกต่อการนำมาศึกษาเพื่อตรวจหาจุลลักษณะวินิจฉัยสำหรับระบุชนิดพันธุ์ และข้อมูลการศึกษานี้ยังใช้ประกอบการกำหนดลักษณะมาตรฐานและลักษณะวินิจฉัยของพืชสมุนไพร เครื่องยาและผงยาได้อีกด้วย การศึกษาดังกล่าวจะสนับสนุนการศึกษาวินิจฉัยเชิงลึกและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยเฉพาะเคมีทางยา ข้อมูลทางวิชาการที่ถูกต้องและเป็นมาตรฐานจะมีความสำคัญต่อการพัฒนาการวิจัยสมุนไพรไทยและเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคสมุนไพร ตัวอย่างเช่น พืชสมุนไพร “หญ้าปักกิ่ง” ซึ่งเป็นสมุนไพรนำมาจากประเทศจีนตั้งแต่อดีตและได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้นในแต่ละปี เชื่อว่ามีสรรพคุณบำรุงสุขภาพ เพิ่มภูมิคุ้มกันและต้านการเกิดมะเร็ง มีการใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย ปัจจุบันพืชสมุนไพรหญ้าปักกิ่งได้มีการพัฒนาการใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่างๆ เช่น น้ำคั้นสดดื่มดื่ม สมุนไพรอัดเม็ดหรือบรรจุแคปซูล ขณะที่ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาทางวิชาการถึงลักษณะวินิจฉัยและมาตรฐานสมุนไพร นอกจากนี้ยังมีการศึกษามากมายที่เกี่ยวข้องกับหญ้าปักกิ่ง ที่มีการอ้างอิงและระบุชนิดพันธุ์ในเอกสารเผยแพร่ทางวิชาการจำนวนมากในประเทศไทย อ้างว่าพืชสมุนไพรหญ้าปักกิ่งมีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Murdannia loriformis* (Hassk.) R.S. Rao & Kammathy แต่แท้จริงแล้วสมุนไพรชนิดนี้มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *M. bracteata* (C.B. Clarke) J.K. Morton ex D.Y. Hong (Thitimetharoch, et al., 2004) การวินิจฉัยพืชชนิดพันธุ์หรือความเข้าใจผิด (Misidentification & Misunderstood) เป็นสาเหตุหนึ่งที่มีความสำคัญในการพัฒนาการวิจัยและการสืบค้นข้อมูลสมุนไพรในระบบสารสนเทศที่ได้มาตรฐานจากแหล่งต่างๆ ทำให้การศึกษาวินิจฉัยในวิทยาศาสตร์สาขาต่างๆ ที่เกี่ยวข้องไม่สามารถค้นหาข้อมูลหรืออ้างอิงข้อมูลอย่างถูกต้องและเป็นสากลได้ สำหรับพืชท้องถิ่นที่มีลักษณะคล้ายกับพืชสมุนไพรหญ้าปักกิ่งในประเทศไทยมีประมาณ 25 ชนิด รวมถึง *M. medica* (Lour.) D.Y. Hong ซึ่งมีการใช้ประโยชน์ทางยาที่ผู้ตั้งชื่อพฤกษศาสตร์ได้สำรวจและบันทึกข้อมูลไว้ในอดีตมีความหมายว่าเป็นพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการรักษา บำบัดโรค นอกจากนี้ยังมีข้อมูลการใช้ประโยชน์จากพืชสกุลนี้ในสมุนไพรว่านข้าวเหนียว (*M. edulis* (Stokes) R.B. Faden) ในประเทศอินเดียใช้รากแห้งบดผสมกับน้ำคั้นจากใบกระเพรารักษาอาการหลังเร็วในเพศชาย และนำรากแห้งผสมน้ำตาลจะช่วยปลูกกำหนดและรักษามะเร็งได้ (Jain and DeFillips, 1991) ผักลิ้มผิวเล็กหรือกินกุ้งน้อย (*M. nudiflora* (L.)

Brenan) ใช้ทั้งต้นเป็นยาแก้ไข้ ใช้รากต้มน้ำทำความสะอาดแผลเรื้อรังและลดอาการบวม แก้กษัยหรือเป็นหมัน (Perry, 1980) หรือรักษาโรคลักปิดลักเปิด (Jain and DeFilipps, 1991) ขาเย็นหรือเท้ากระด้าง (*M. spectabilis* (Kurz) Faden) ใช้หัวใต้ดินรักษาอาการท้องผูก หืดหรือปัสสาวะกระปริดกระปอย (Perry, 1980) ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะช่วยสนับสนุนการวิจัยเชิงลึกในสาขาที่เกี่ยวข้องต่อไป แต่การศึกษาเคมีทางยาและลักษณะวินิจฉัยทางจุลทรรศน์ในพืชสกุลนี้ยังไม่เคยมีปรากฏในเอกสารอ้างอิงวิชาการมาก่อน ข้อมูลดังกล่าวจึงมีประโยชน์ต่อการกำหนดและจัดทำมาตรฐานคุณภาพสมุนไพรและเครื่องยาเพื่อการควบคุมคุณภาพและมาตรฐานสมุนไพร อีกทั้งยังใช้เป็นคู่มือมาตรฐานสำหรับวินิจฉัยสมุนไพร เครื่องยาหรือผลิตภัณฑ์สำหรับการนำเข้าหรือส่งออกวัตถุดิบในอนาคต และนอกจากนี้ผู้วิจัยยังคาดว่ายังมีพืชที่พบใหม่สำหรับประเทศไทย (New record species) และพืชที่คาดว่าจะจะเป็นชนิดใหม่ของโลก (New to science) เพิ่มเติม Thitimetharoch, et al. (2004) ได้รายงานผลการศึกษาล่าสุดว่าพืชในสกุลนี้มีมากถึง 14 ชนิดพันธุ์ในประเทศไทย *Murdannia japonica* เป็นชนิดเดียวที่ได้ศึกษาแล้วและพบว่ามีลักษณะเด่นทางจุลทรรศน์ที่ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษามาก่อนคือการพบผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็ก (styloids) และเซลล์สะสมแทนนินในชั้นมิโซฟิลล์ซึ่งเป็นรายงานการค้นพบลักษณะดังกล่าวเป็นครั้งแรกซึ่งจะเป็นประโยชน์สำหรับการวินิจฉัยและสามารถตีพิมพ์ผลงานระดับนานาชาติได้ นอกจากนี้ยังทำให้ทราบว่าการบริโภคพืชกลุ่มนี้อาจมีผลต่อสุขภาพไตผู้บริโภคสมุนไพรอย่างต่อเนื่องได้เนื่องจากมีการสะสมผลึกแคลเซียมปริมาณมากภายในเซลล์

การวิจัยครั้งนี้ยังเป็นการสำรวจเพิ่มเติมและเป็นการริเริ่มสร้างห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาและการวิจัยลักษณะวินิจฉัยและเอกลักษณ์พืชสมุนไพรและยังเป็นการเพิ่มประสบการณ์ในการพัฒนาศักยภาพการวิจัยของบุคลากรและนักศึกษา นอกจากนี้ยังเป็นการเก็บรวบรวมตัวอย่างที่เป็นมาตรฐานของสมุนไพรและเครื่องยาสำหรับหน่วยงานเพื่อการศึกษา อ้างอิงและวิจัยเชิงลึกต่อไป โดยความรู้ทางวิชาการที่ได้สามารถใช้เป็นมาตรฐานสมุนไพร เครื่องยาและผงยา และผู้วิจัยมีความเชื่อมั่นว่าจะสามารถจัดทำเอกสารเผยแพร่ทางวิชาการในระดับนานาชาติเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับศึกษาหรืออ้างอิงในสาขาที่เกี่ยวข้องได้อีกต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิงที่สำคัญของโครงการวิจัย:

- Faden, R.B. and K.E. Inman. 1996. Leaf Anatomy of the African Genera of Commelinaceae: *Anthericopsis* and *Murdannia*. In: Maesen, L.J.G.: **The Biodiversity of African Plants**. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Hong, D.Y. and R.A. DeFilipps. 2000. Commelinaceae. In: Wu, Z.Y. and P.H. Raven. **Flora of China (Flagellariaceae through Maranthaceae)**. Vol. 24, pp. 19-39. Science Press, Beijing.

- Jain, S.K. and R.A. DeFilipps. 1991. **Medicinal Plants of India**. Vol. I. Reference Publishers, Algonac, Michigan.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant Microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Perry, L.M. and J. Metzger. 1980. **Medicinal Plants of East and Southeast Asia**. The MIT Press, Cambridge.
- Sass, 1964. **Botanical Microtechnique**. 3ed. The Iowa State University Press, Iowa, USA.
- Thitimetharoch, T., P. Chantharanothai, R.B. Faden and A. Thammathaworn. 2004. Taxonomic Studies of the Family Commelinaceae in Thailand. **A Dissertation Presented to the Graduate School of Khon Kaen University for the Degree of Doctor of Philosophy**. Khon Kaen.

การเชื่อมโยงกับนักวิจัยที่เป็นผู้เชี่ยวชาญในสาขาวิชาที่ทำการวิจัย

การศึกษาจุลลักษณะวินิจัยในประเทศไทยถือว่ามีน้อยมากเนื่องจากอิทธิพลกระแสวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีสมัยใหม่ที่มุ่งเน้นศึกษาความแตกต่างในระดับจีโนม ซึ่งไม่สามารถอธิบายผลของความแตกต่างนั้นได้ในมุมมองของลักษณะปรากฏทางสัณฐานวิทยาที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ และเป็นที่ยอมรับกันดีว่าผลงานวิทยาศาสตร์บางสาขามีค่า impact factor น้อยหรืออาจไม่มีค่าเลย แม้ว่าบางวารสารมีชื่อเสียงมาเป็นเวลานานและเป็นที่ยอมรับกันทั่วโลกในสาขาวิชานั้นๆ ก็ตาม กระนั้นการวิจัยครั้งนี้ได้มีการร่วมมือกับผู้เชี่ยวชาญจากต่างประเทศที่มีชื่อเสียงและมีผลงานเผยแพร่ระดับนานาชาติหลายฉบับทั้งที่เป็นวารสาร จุลสาร ตำราอ้างอิงและเอกสารวิชาการอีกมากมาย อาจกล่าวได้ว่าเป็นจุดเริ่มต้นที่ดีในการจัดตั้งห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาวิจัยจุลลักษณะวินิจัยที่มีความร่วมมือระดับนานาชาติแห่งหนึ่งในประเทศไทย เพื่อหาประสบการณ์พัฒนาความสามารถในการทำวิจัยและผลงานระดับนานาชาติในอนาคต ด้วยความร่วมมือกับ Dr. Robert B. Faden, Department of Botany, MRC 166, Smithsonian Institution, PO Box 37012, Washington DC 20013-7012, USA. (Mentor) นอกจากนี้ยังมีผู้เชี่ยวชาญที่คอยให้คำปรึกษาและแนะนำเพื่อแก้ไขปัญหาที่อาจเกิดขึ้นระหว่างที่ทำการวิจัยอีกหนึ่งท่าน คือ ศ.ดร. ประนอม จันทโรทัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

ขอบเขตของการวิจัย

เป็นการศึกษาวิจัยจุลลักษณะวินิจัยแผ่นใบพืชสกุลหญ้าปังกั้งในประเทศไทย โดยใช้เทคนิคการขูดผิวแผ่นใบ (Leaf scraping method) การทำแผ่นใบให้ใส (Leaf clearing method) ศึกษาลักษณะภาคตัดตามขวางแผ่นใบด้วยวิธีพาราฟิน (Paraffin method) และจัดทำรูปวิธานจุลลักษณะวินิจัยแผ่นใบ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์ที่มีอยู่แล้ว

1. กรรไกรตัดกิ่งไม้พร้อมชุดอัดตัวอย่างพรรณไม้มาตรฐาน
2. แวนขาย
3. ชุดกล้องถ่ายภาพสี
4. กล้องจุลทรรศน์
5. กล้องสเตอริโอ
6. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและแบบใช้แสงโพลาไลซ์
7. ชุดเครื่องตัดเนื้อเยื่อไมโครโทรม

วัสดุ สารเคมีและอุปกรณ์ที่ต้องจัดหาเพิ่ม

1. ถุงพลาสติก
2. ชุดขวดดองพร้อมแอลกอฮอล์ 70%
3. สมุดบันทึกข้อมูล
4. फिल्मสี
5. ชุดหม้อต้มพาราฟินแบบควบคุมอุณหภูมิ
6. ชุดแท่นอุ่นสไลด์
7. ชุดย้อมสีเนื้อเยื่อพืช
8. ปากกาเขียนแก้ว
9. ชุดกล้องถ่ายภาพกล้องจุลทรรศน์
10. nylon screen
11. microtome knives
12. แวนตาป้องกันสารเคมี
13. ชุดจานเพาะเชื้อแบบแก้ว
14. ชุดจานเพาะเชื้อแบบพลาสติก
15. ชุดสไลด์พร้อมแผ่นครอบตัวอย่าง
16. เจ็มเจียปลายแหลม
17. ปากคีบปลายแหลม
18. paraffin wax
19. safranin-O
18. fast green
19. xylene

20. glacial acetic acid
21. ethanol absolute
22. ethanol 95%
23. gelatin
24. phenol crystal
25. glycerin
26. sodium acetate
27. clove oil
28. ammonium ferric sulphate
29. DePeX mounting media
30. methyl cellosolve
31. chloral hydrate
32. potassium hydroxide
33. celestine blue B
34. iso-propanol
35. sodium hydroxide
36. ferric chloride
37. คู่มือตัวอย่างพืช

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้มาตรฐานจุลลักษณะวินิจฉัยและเอกลักษณ์แผ่นใบพืชสมุนไพรในสกุลหญ้าปักกิ่ง
2. ได้รู้วิธีการจุลลักษณะวินิจฉัยเพื่อจำแนกและระบุชนิดพันธุ์ (Diagnostic key)
3. ได้ตัวอย่างมาตรฐานของพืชสมุนไพรและเครื่องยาพืชสกุลหญ้าปักกิ่งสำหรับการศึกษาวิจัย และอ้างอิงในอนาคต
4. ทราบลักษณะที่ผันแปรไปตามสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการจัดทำมาตรฐาน ลักษณะวินิจฉัยและเอกลักษณ์พืชสมุนไพร
5. ได้ผลงานเผยแพร่จากพืชที่พบเพิ่มเติมสำหรับประเทศไทยและ/หรือชนิดใหม่ของโลก
6. ได้นักวิจัยที่สามารถพัฒนาความรู้และประสบการณ์ในการวินิจฉัยจุลลักษณะพืชสมุนไพร เครื่องยา และผลิตภัณฑ์
7. ได้พัฒนาห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยพืชสมุนไพรเพื่อการศึกษา วิจัยและอ้างอิงทางวิชาการ

ผลงานวิจัย

การศึกษาจุลลักษณะวินิจัยผิวแผ่นใบด้วยเทคนิคการขูดผิวใบ (Leaf scraping) และเทคนิคการทำตัวอย่างให้ใส (Leaf clearing) ของพืชบางชนิดในสกุลหญ้าปักกิ่ง พบลักษณะต่างๆ มีรายละเอียดพร้อมตารางเปรียบเทียบลักษณะ (ดังตารางที่ 1 หน้า 21) และรูปวิธานจำแนกชนิดพันธุ์ หน้า 23 ดังนี้

1. *Murdannia bracteata* (C. B. Clarke) J. K. Morton ex D.Y. Hong

เนื้อเยื่อผิว (Epidermis) ทั้งด้านบนและด้านล่างมีคิวทิน (Cutin) สะสมหนาเห็นชัดเจนลักษณะเป็นริ้วลวดลายร่างแห (Reticulate) รูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวเมื่อมองจากผิวใบด้านบน มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีด้านยาวยาวกว่า 2 เท่าของด้านกว้าง ส่วนรูปร่างผิวใบด้านล่างมีรูปร่างหลายเหลี่ยมก่อนข้างกลม (Polygonal) เซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ เซลล์บริเวณใกล้ขอบใบรูปร่างหลายเหลี่ยมก่อนข้างกลม และมีเนื้อเยื่อสเคลอเรนคิมา (Sclerenchyma) ขอบใบ พบขนหนาม (Prickle) 1-3 เซลล์ และขน 3-4 เซลล์ เรียงเป็นแถวเดี่ยว (Uniseriate) **ปากใบ** มีทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง ปากใบเป็นชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 4 เซลล์ (Tradescantia type) กระจายอยู่น้อยมากบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบน ส่วนชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ (Commelina type) เรียงเป็นแถวอย่างเป็นระเบียบบริเวณระหว่างเส้นใบของผิวใบด้านล่าง **เซลล์ขน** พบขนจี้ที่มี 3 เซลล์ เซลล์ปลายเป็นรูปกระบอก (Grandular micro-hairs) ทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง พบขนหนามน้อยมากบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบน พบขน 4-7 เซลล์ เรียงเป็นแถวเดี่ยว กระจายทั่วไปบนผิวใบด้านล่าง พบผลึกแคลเซียมออกซาลาเทขนาดเล็ก (Micro crystal) ในแผ่นใบ (รูปที่ 1 หน้า 14)

2. *Murdannia edulis* (Stokes) Faden

เนื้อเยื่อผิว ทั้งด้านบนและด้านล่างมีคิวทินสะสมหนาเห็นชัดเจนลักษณะเป็นริ้วลวดลายเป็นคลื่นตามยาว (Striate) รูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวเมื่อมองจากผิวใบด้านบน มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีด้านยาวยาวกว่า 8-10 ของด้านกว้าง ส่วนรูปร่างผิวใบด้านล่างมีรูปร่างหลายเหลี่ยมก่อนข้างกลม เซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ เซลล์บริเวณใกล้ขอบใบรูปร่างหลายเหลี่ยมก่อนข้างกลม มีเนื้อเยื่อสเคลอเรนคิมา บริเวณขอบใบ พบขนปุ่ม (Papillae) **ปากใบ** มีทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง ปากใบเป็นชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ กระจายอยู่น้อยมากบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบน และเรียงเป็นแถวอย่างเป็นระเบียบบริเวณระหว่างเส้นใบของผิวใบด้านล่าง **เซลล์ขน** ขนจี้ที่มี 3 เซลล์ปลายเป็นรูปกระบอก พบทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง พบขน 3-5 เซลล์ เรียงเป็นแถวเดี่ยว กระจายทั่วแผ่นใบเฉพาะผิวใบด้านล่าง พบผลึกแคลเซียมออกซาลาเท ในแผ่นใบ (รูปที่ 2 หน้า 15)

3. *Murdannia japonica* (Thunberg) Faden

เนื้อเยื่อผิว ทั้งด้านบนและด้านล่างมีคิวตินสะสมหนาเห็นชัดเจนลักษณะเป็นริ้วลวดลายร่างแห รูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวเมื่อมองจากผิวใบด้านบน มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีด้านยาวยาวกว่า 3-4 เท่าของด้านกว้าง ส่วนรูปร่างผิวใบด้านล่างมีรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลม เซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ เซลล์บริเวณใกล้ขอบใบรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลม มีเนื้อเยื่อสเคลอเรนจิม่า (Sclerenchyma) บริเวณขอบใบ พบขนหนาม 1-3 เซลล์ และขนปุ่ม **ปากใบ** มีทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง ปากใบเป็นชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 4 เซลล์ กระจายน้อยมากบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบน ส่วนชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ เรียงเป็นแถวอย่างเป็นระเบียบบริเวณระหว่างเส้นใบของผิวใบด้านล่าง **เซลล์ขน** พบขนจี้ที่มี 3 เซลล์ปลายเป็นรูปกระบอง ทั้งผิวใบด้านบนและผิวใบด้านล่าง พบขน 2-5 เซลล์ เรียงเป็นแถวเดียว กระจายอยู่เล็กน้อยบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบนของฐานใบ พบผลึกแคลเซียมออกซาลเลทขนาดเล็ก ในแผ่นใบ (รูปที่ 3 หน้า 16)

4. *Murdannia loriformis* (Hasskarl) R. S. Roa & Kammathy

เนื้อเยื่อผิว ทั้งด้านบนและด้านล่างมีคิวตินสะสมหนาเห็นชัดเจนลักษณะเป็นริ้วลวดลายร่างแห รูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวเมื่อมองจากผิวใบด้านบน มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีด้านยาวยาวกว่า 2 เท่าของด้านกว้าง ส่วนรูปร่างผิวใบด้านล่างมีรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลม เซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ เซลล์บริเวณใกล้ขอบใบมีรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลม มีเนื้อเยื่อสเคลอเรนจิม่า บริเวณขอบใบ พบขนหนาม 1-3 เซลล์ และขน 2-4 เซลล์ เรียงเป็นแถวเดียว **ปากใบ** มีทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง ปากใบเป็นชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 4 เซลล์ กระจายอยู่น้อยมากบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบน ส่วนชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ เรียงเป็นแถวอย่างเป็นระเบียบบริเวณระหว่างเส้นใบของผิวใบด้านล่าง **เซลล์ขน** ขนจี้ที่มี 3 เซลล์ปลายเป็นรูปกระบอง พบทั้งเฉพาะผิวใบด้านบนและด้านล่าง พบขน 3 เซลล์ เรียงเป็นแถวเดียว กระจายทั่วแผ่นใบในผิวใบด้านบน พบขน 2-4 เซลล์ เรียงเป็นแถวเดียว กระจายทั่วไปบนผิวใบด้านล่าง พบผลึกแคลเซียมออกซาลเลทในแผ่นใบ (รูปที่ 4 หน้า 17)

5. *Murdannia macrocarpa* D.Y. Hong

เนื้อเยื่อผิว ทั้งด้านบนและด้านล่างมีคิวตินสะสมบางลักษณะเป็นริ้วลวดลายเส้นขนานตามยาว รูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวเมื่อมองจากผิวใบด้านบน มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีด้านยาวยาวกว่า 8-10 เท่าของด้านกว้าง ส่วนรูปร่างผิวใบด้านล่างมีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้าความยาวไม่แน่นอน เซลล์ที่อยู่บริเวณเส้น

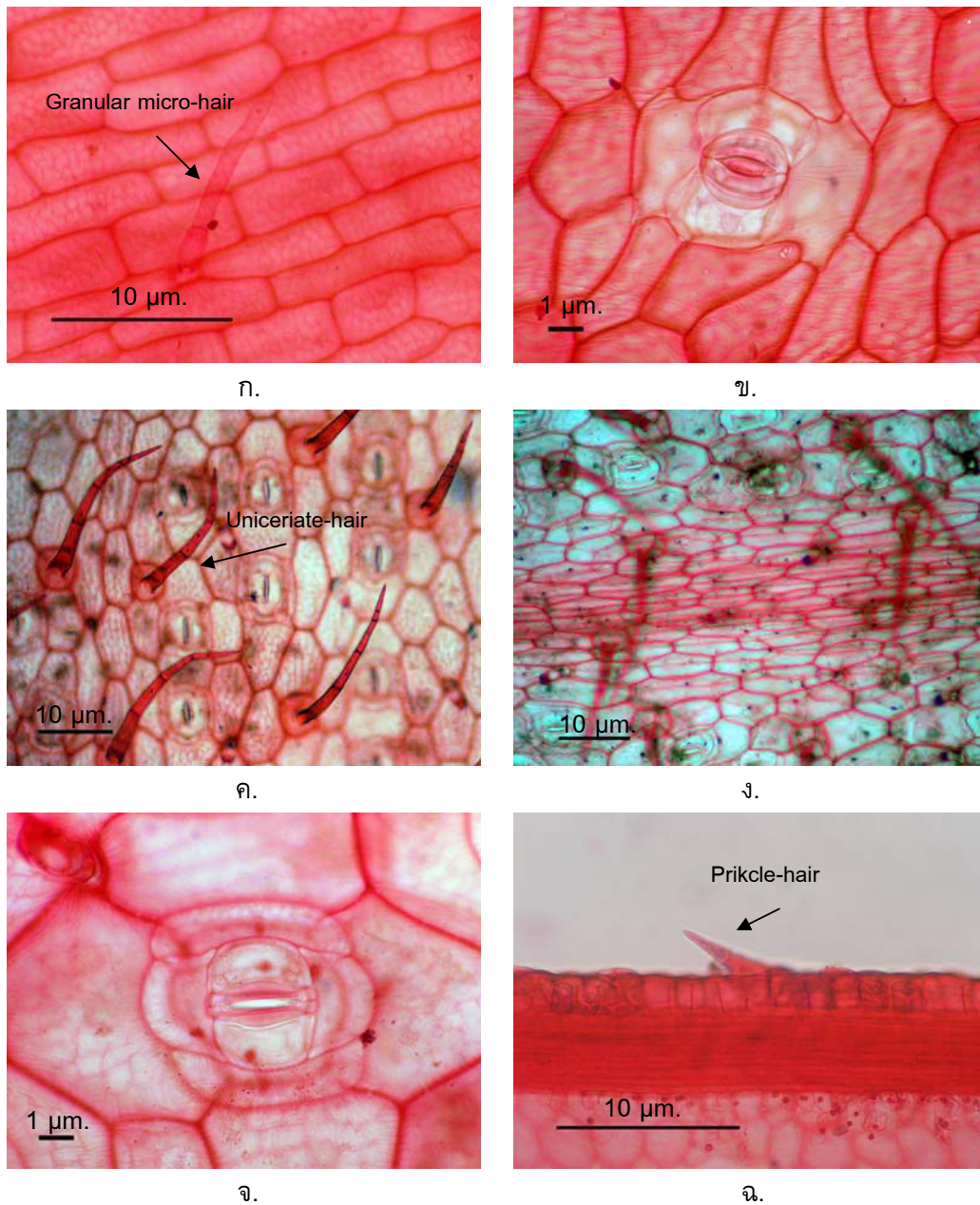
กลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ เซลล์บริเวณใกล้ขอบใบมีรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลม มีเนื้อเยื่อสเคลอเรนคิมา บริเวณขอบใบ พบขนหนาม 1-2 เซลล์ และขนปุ่ม ปากใบ มีทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง ปากใบเป็นชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ กระจายน้อยอยู่มากบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบน และเรียงเป็นแถวอย่างเป็นระเบียบบริเวณระหว่างเส้นใบของผิวใบด้านล่าง เซลล์ขน พบขนจี้ที่มี 3 เซลล์ปลายเป็นรูปกระบอง ทั้งผิวใบด้านบนและผิวใบด้านล่าง ไม่พบเซลล์ขนแถวเดียว ไม่พบพบผลึกแคลเซียมออกซาเลต (รูปที่ 5 หน้า 18)

6. *Murdannia nudiflora* (Linnaeus) Brenan

เนื้อเยื่อผิว ทั้งด้านบนและด้านล่างมีคิวทิน สะสมบางลักษณะเป็นริ้วตลอดลายเส้นขนานตามยาว รูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวเมื่อมองจากผิวใบด้านบน มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีด้านยาวยาวกว่า 4-5 เท่าของด้านกว้าง ส่วนรูปร่างผิวใบด้านล่างมีรูปร่างหลายเหลี่ยมยาว เซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ เซลล์บริเวณใกล้ขอบใบมีรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลม มีเนื้อเยื่อสเคลอเรนคิมา บริเวณขอบใบพบขนหนาม 1-3 เซลล์ และขนปุ่ม ปากใบ มีทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง ปากใบเป็นชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ กระจายน้อยมากบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบน และเรียงเป็นแถวอย่างเป็นระเบียบบริเวณระหว่างเส้นใบของผิวใบด้านล่าง เซลล์ขน ขนจี้ที่มี 3 พบเซลล์ปลายเป็นรูปกระบอง ทั้งผิวใบด้านบนและผิวใบด้านล่าง พบขน 3-5 เซลล์ เรียงเป็นแถวเดียว กระจายอยู่เล็กน้อยบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบนของฐานใบ พบผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็ก ในแผ่นใบ (รูปที่ 6 หน้า 19)

7. *Murdannia* sp.

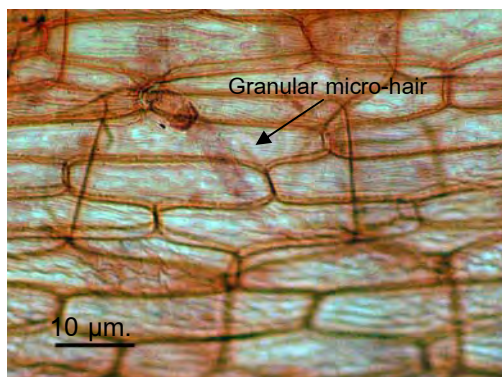
เนื้อเยื่อผิว ทั้งด้านบนและด้านล่างมีคิวทินสะสมหนาเห็นชัดเจนลักษณะเป็นริ้วตลอดลายร่างแห รูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวเมื่อมองจากผิวใบด้านบน มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีด้านยาวยาวกว่า 3-5 เท่าของด้านกว้าง ส่วนรูปร่างผิวใบด้านล่างมีรูปร่างหกเหลี่ยมค่อนข้างกลม เซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ เซลล์บริเวณใกล้ขอบใบมีรูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลม มีเนื้อเยื่อสเคลอเรนคิมาบริเวณขอบใบ พบขนหนาม 2-3 เซลล์ และขนปุ่ม ปากใบ มีทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง ปากใบเป็นชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ กระจายอยู่น้อยมากบริเวณใกล้ขอบผิวใบด้านบน และกระจัดกระจายระหว่างเส้นใบของผิวใบด้านล่าง เซลล์ขน ขนจี้ที่มี 3 เซลล์ปลายเป็นรูปกระบอง พบทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง ไม่พบเซลล์ขนแถวเดียว พบผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็ก ในแผ่นใบ (รูปที่ 7 หน้า 20)



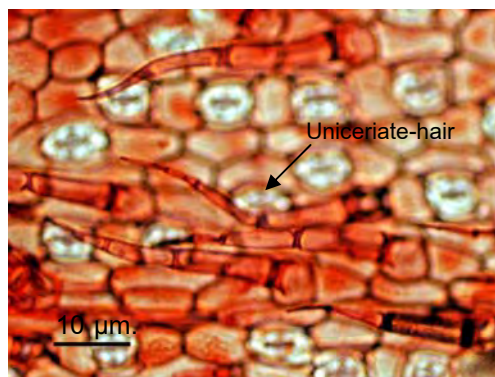
รูปที่ 1 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia bracteata* (C. B. Clarke) J. K. Morton ex D.Y. Hong

ก. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินหนาตลอดลายร่างแห ข. แสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 4 เซลล์ของเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน ค. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง ง. แสดงเซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ จ. แสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์

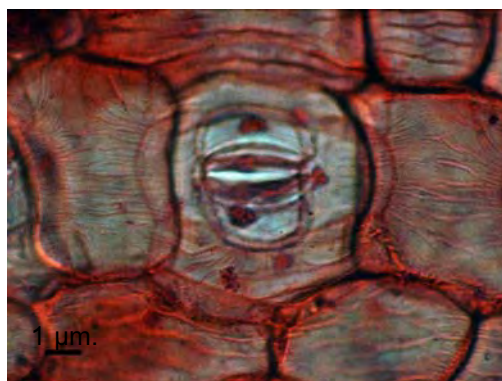
รูปที่ 6 เซลล์ของเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง จ. แสดงเซลล์สเกลอรงกิม่าที่ขอบใบติดสีเขียวและขนหนาม (Prickle)



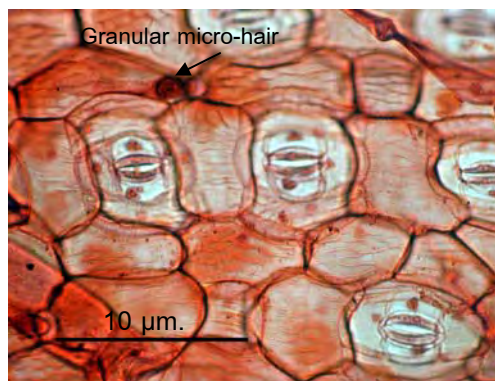
ก.



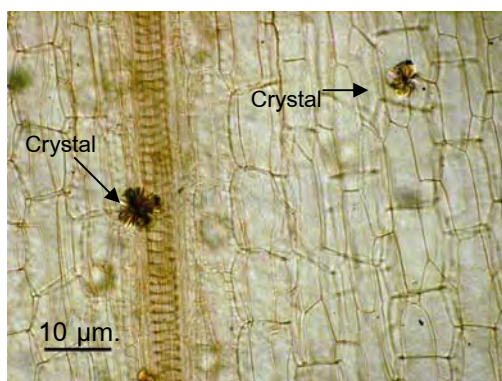
ข.



ค.



ง.



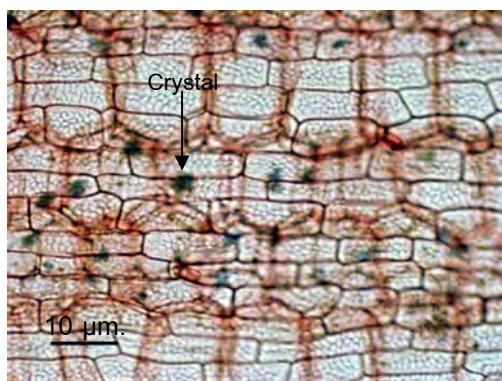
จ.



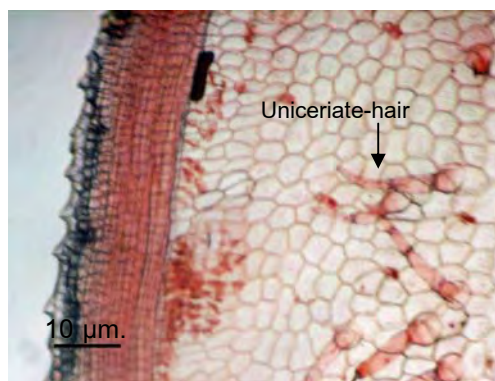
ฉ.

รูปที่ 2 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia edulis* (Stokes) Faden

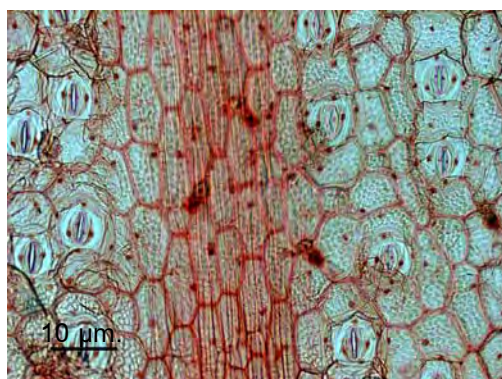
ก. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินหนาตลอดตามยาวเซลล์ ข. แสดงเซลล์ชั้นแถวเดียวบนผิวใบด้านล่าง ค. แสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์รูป 6 เซลล์ของเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง ง. ลวดลายเป็นคลื่นตามยาว สะสมคิวทินหนาตลอดตามยาว จ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลต และท่อลำเลียงที่มีลวดลายเป็นแบบ Spiral ฉ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตภายใต้แสงโพลาไรซ์ (Polarized light)



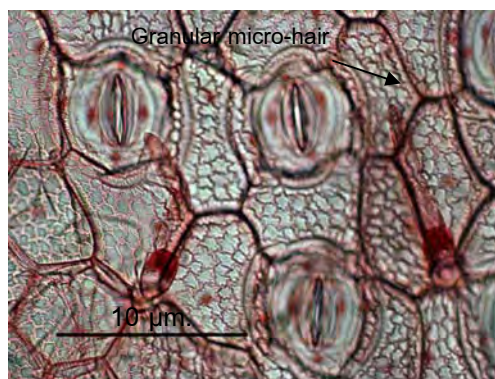
ก.



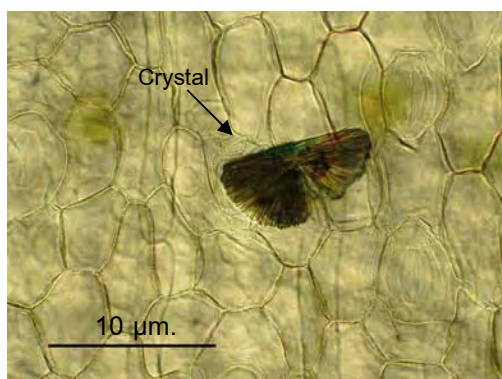
ข.



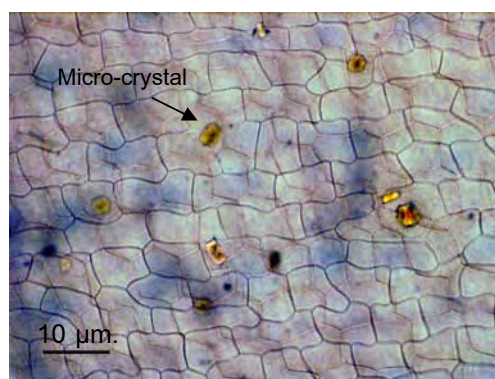
ค.



ง.



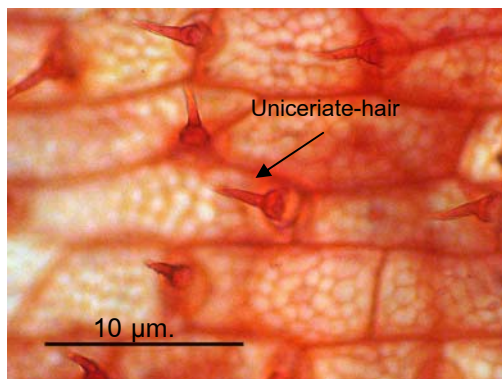
จ.



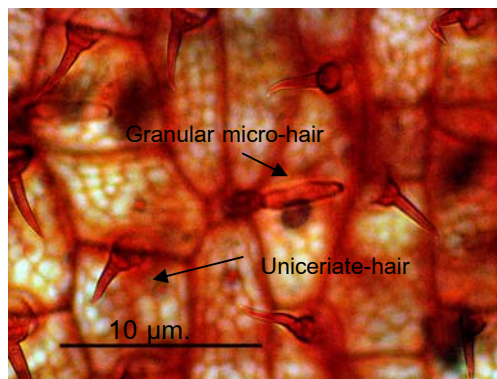
ฉ.

รูปที่ 3 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia japonica* (Thunberg) Faden

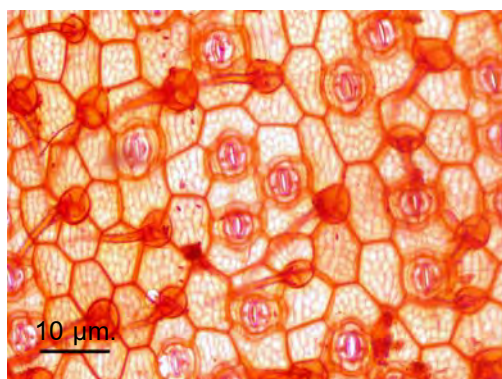
ก. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินหนาตลอดลายร่างแห และแสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตอยู่ชั้นใต้เนื้อเยื่อผิว ข. แสดงเซลล์ชั้นแถวเดียวจะพบเฉพาะบริเวณใกล้ขอบใบของฐานใบเท่านั้น และรูปร่างเซลล์เนื้อเยื่อผิวจะมีรูปร่างหลายเหลี่ยมกลม ค. แสดงแสดงเซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ ง. แสดงขนจี้ และแสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ จ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลต ฉ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็ก



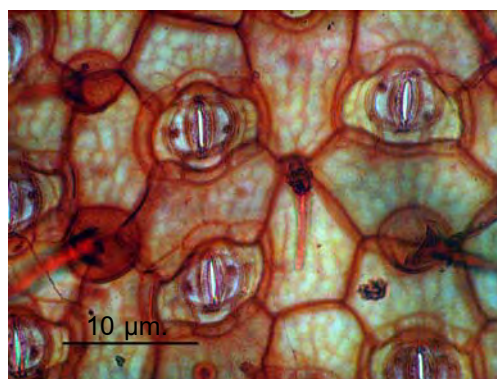
ก.



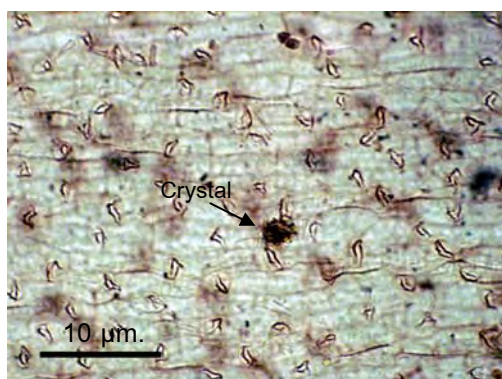
ข.



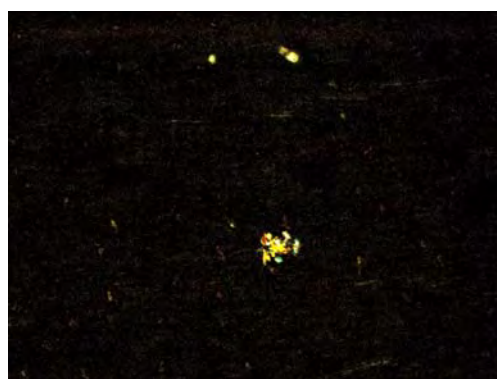
ค.



ง.



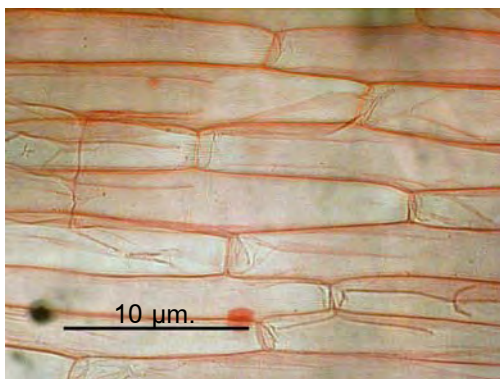
จ.



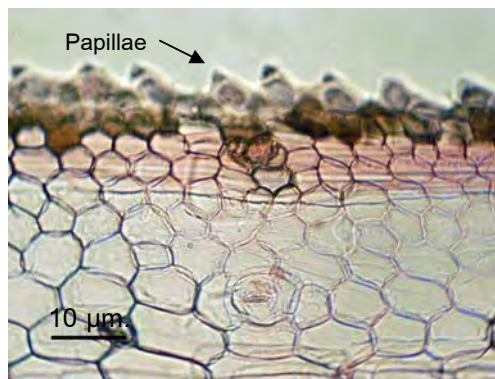
ฉ.

รูปที่ 4 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia loriformis* (Hasskarl) R.S. Rao & Kammathy

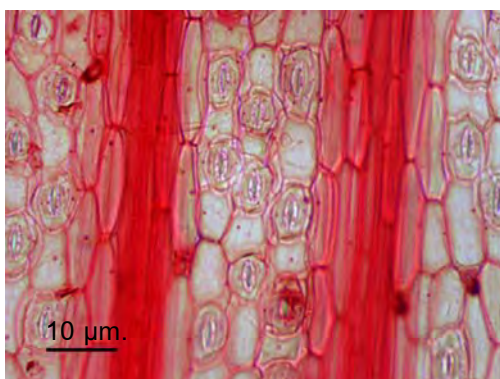
ก. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินหนาตลอดรูปร่างแห และเซลล์ขนแถวเดียว 2 เซลล์ที่มีฐานเซลล์กว้างกว่ามาก ข. แสดงขนจิว ค. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง สะสมคิวทินหนาตลอดรูปร่างแห และเซลล์ขนแถวเดียว 2-4 เซลล์ ง. แสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ของเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง จ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลต ฉ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตภายใต้แสงโพลาไรซ์ (Polarized light)



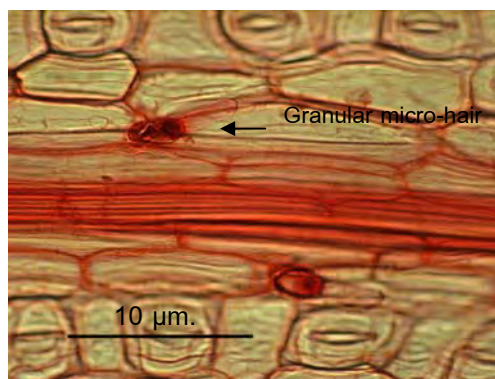
ก.



ข.



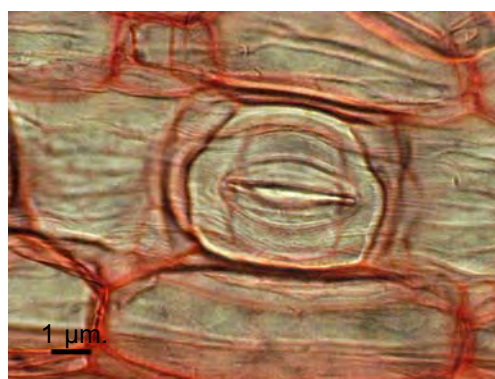
ค.



ง.



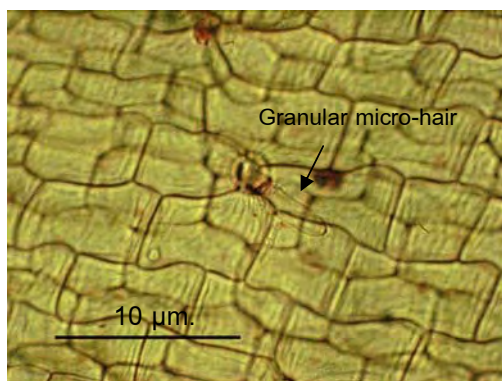
จ.



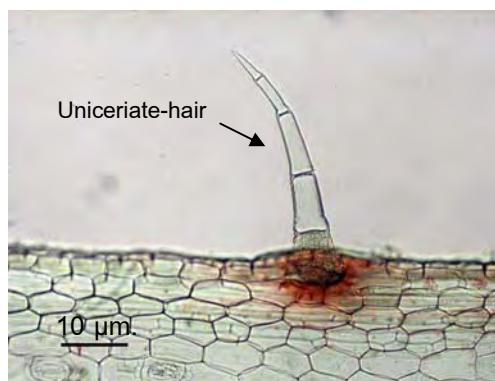
ฉ.

รูปที่ 5 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia macrocarpa* D.Y. Hong

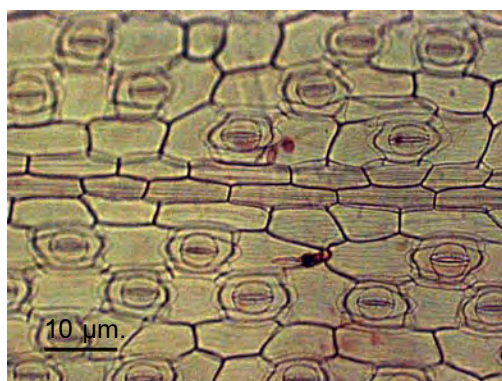
ก. แสดง เนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินบางมีลวดลายตามยาว ข. แสดงเนื้อเยื่อผิวบริเวณใกล้ขอบใบ ด้านบนซึ่งจะพบเซลล์ปากใบ แสดงขนปุ่มที่บริเวณขอบใบ ค-ง แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง สะสมคิวทินบางมีลวดลายตามยาว แสดงเซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบ จ. แสดงขนจี้ ฉ. แสดงขนจี้ และแสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์



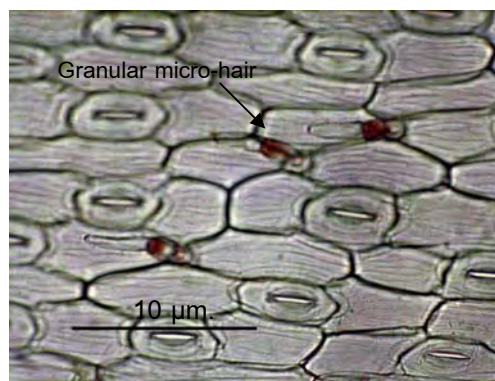
ก.



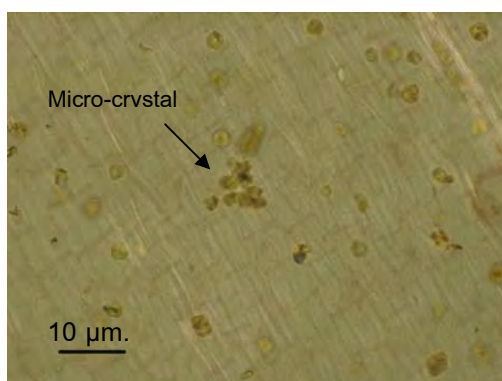
ข.



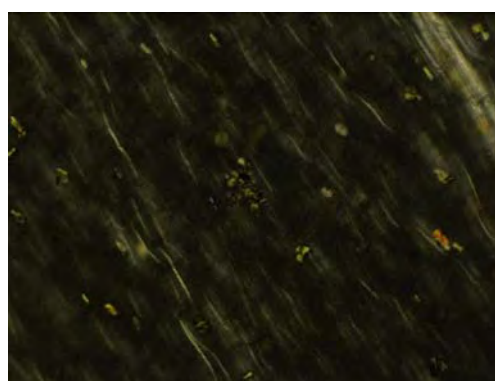
ค.



ง.



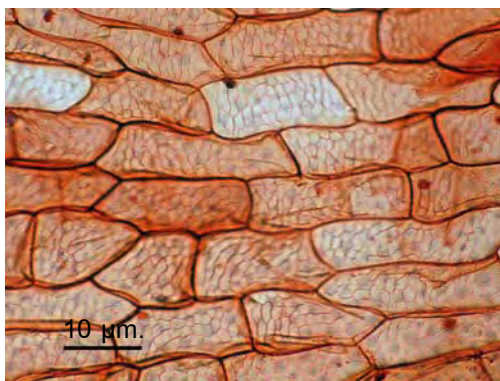
จ.



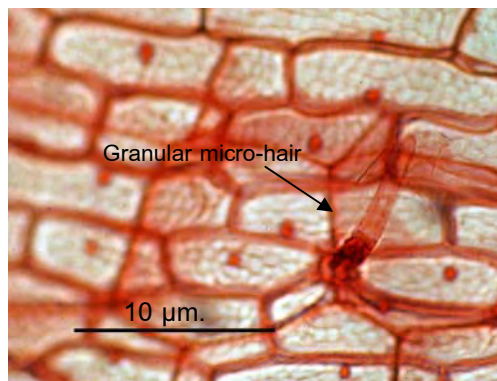
ฉ.

รูปที่ 6 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *Murdannia nudiflora* (Linnaeus) Brenan

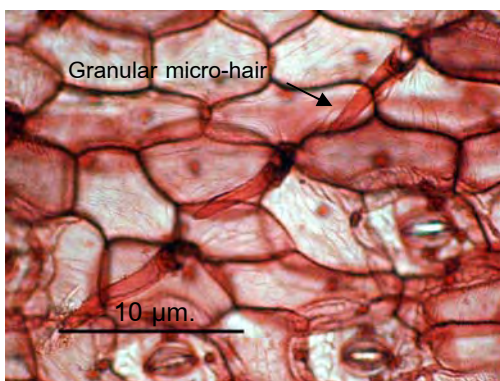
ก. แสดง เนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินบางมีลวดลายตามยาว ข. แสดงเนื้อเยื่อผิวบริเวณใกล้ขอบใบ ด้านบนที่มีมักจะพบเซลล์ปากใบ แสดงเซลล์ชั้นแถวเดียวที่บริเวณขอบใบ ค. แสดงเซลล์ที่อยู่บริเวณเส้นกลางใบมีขนาดเล็กกว่าและยาวกว่าเซลล์ที่อยู่บริเวณแผ่นใบการเรียงตัวของเซลล์ปากใบจัดเรียงอย่างเป็นระเบียบ ง. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง สะสมคิวทินบางมีลวดลายตามยาว แสดงขนจิว จ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาลเลตขนาดเล็ก (Micro crystal) ฉ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาลเลตขนาดเล็กภายใต้แสงโพลาไรซ์ (Polarized light)



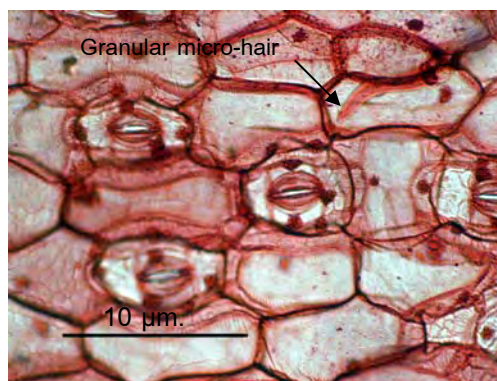
ก.



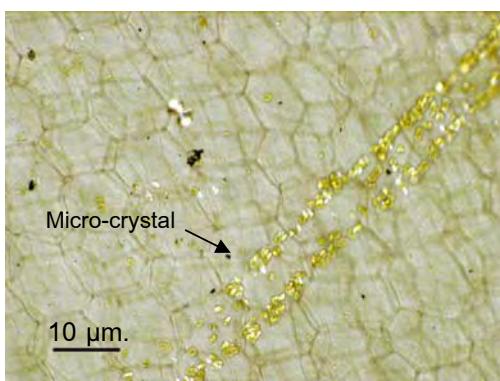
ข.



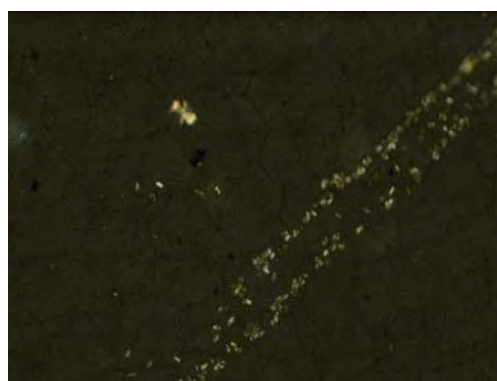
ค.



ง.



จ.



ฉ.

รูปที่ 7 แสดงลักษณะกายวิภาคศาสตร์แผ่นใบ *M. sp.*

ก. แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน สะสมคิวทินหนาตลอดลายร่างแห ข. แสดงขนจิวบนผิวใบด้านบน ค-ง แสดงเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง สะสมคิวทินหนาตลอดลายร่างแห แสดงขนจิว และแสดงเซลล์ปากใบที่มีเซลล์ข้างเคียงเซลล์คุม 6 เซลล์ จ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็ก (Micro crystal) ฉ. แสดงผลึกแคลเซียมออกซาเลตขนาดเล็กภายใต้แสงโพลาไรซ์ (Polarized light)

ตารางแนว ขวาง อีกรไฟล์

ตารางที่ 1 จุดลักษณะเปรียบเทียบพืชบางชนิดในสกุล **Murdannia**

25

ตารางแนว ขวาง อีกรไฟล์

ตารางที่ 1 จุดลักษณะเปรียบเทียบพืชบางชนิดในสกุล **Murdannia**

25

รูปวิธานจุลลักษณะจำแนกระดับชนิดพันธุ์

- 1A. คิวทิน (Cutin pattern) มีลวดลายร่างแห
- 2A. พบขนเรียงเป็นแถวเดียว (Uni-seriate hair) บนเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน
- 3A. พบขนเรียงเป็นแถวเดียว บนเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง
- ***M. loriformis***
- 3B. ไม่พบขนเรียงเป็นแถวเดียว บนเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง
- ***M. Japonica***
- 2B ไม่พบขนเรียงเป็นแถวเดียว บนเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน
- 4A. พบขนเรียงเป็นแถวเดียว บนเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง
- ***M. bracteata***
- 4B. ไม่พบขนเรียงเป็นแถวเดียว บนเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง ***M. sp.***
- 1B. คิวทิน (Cutin pattern) มีลวดลายตามยาว
- 5A. พบขนเรียงเป็นแถวเดียว (Uni-seriate hair) บนเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน ***M. nudiflora***
- 5B. ไม่พบขนเรียงเป็นแถวเดียว บนเนื้อเยื่อผิวใบด้านบน
- 6A. พบขนเรียงเป็นแถวเดียว บนเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง
- ***M. edulis***
- 6B. ไม่พบขนเรียงเป็นแถวเดียว บนเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง
- ***M. macrocapa***

สรุปและวิจารณ์

จากศึกษาจุลลักษณะวินิจฉัยแผ่นใบ ของพืชบางชนิดในสกุลหญ้าน้ำปักกิ่ง (*Murdannia*) ในครั้งนี้ 7 ชนิด คือ *Murdannia bracteata*, *M. edulis*, *M. japonica*, *M. loriformis*, *M. macrocarpa*, *M. nudiflora*, และ *M. sp.* ด้วยจุลลักษณะผิวแผ่นใบเทคนิคการขูดผิวใบ (Leaf scraping) และเทคนิคการทำตัวอย่างให้ใส (Leaf clearing) พบว่าการปรากฏหรือไม่ปรากฏของขนขนาดใหญ่ (Macro hair) ซึ่งพบว่าขนาดจะเปลี่ยนตามสิ่งแวดล้อม ขนจี้มี 3 เซลล์และมีต่อม (3-cells glandular micro-hairs) ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ประกอบด้วยเซลล์ฐานที่ตื้น แทรกอยู่ในชั้นเนื้อเยื่อผิว เซลล์ที่อยู่กลางค่อนข้างโป่งพอง และเซลล์ปลายที่มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ลักษณะรูปร่างเซลล์และขนาดขนจี้สามารถใช้จำแนกชนิดได้ มีการสะสมของคิวตินที่มีลวดลาย (Cutin patterns) ทั้งที่เป็นแบบร่างแหและ/หรือลวดลายตามยาวบนเนื้อเยื่อผิวแผ่นใบ บริเวณขอบใบพบกลุ่มเนื้อเยื่อสเคลอเรนคิมา (Marginal sclerenchyma) ชนิดและการเรียงตัวของปากใบ (Stoma) โดยทั่วไปมีเซลล์ข้างเคียง 6 เซลล์ อยู่ที่ผิวใบด้านล่าง แต่อาจพบปากใบชนิดที่มีเซลล์ข้างเคียง 4 หรือ 6 เซลล์ ทั้งผิวใบด้านบนและด้านล่าง มีการกระจายตัวบริเวณใกล้ขอบใบน้อยมาก และปากใบชนิดเซลล์ข้างเคียงเซลล์คู่ 6 เซลล์จัดเรียงเป็นระเบียบเป็นแถวบริเวณระหว่างขอบใบและแนวขอบเส้นใบของผิวแผ่นใบด้านบน เมื่อศึกษาตัวอย่างผ่านกล้องโพลาไรซ์ทำให้เห็น รูปร่างและขนาดของผลึกแคลเซียมออกซาเลต (Calcium oxalate crystals) ลักษณะผลึกที่ปรากฏในพืชสกุลนี้มีทั้งแบบก้อน (Druses) แบบแท่งเข็มยาว (Needle-like) และแท่งสั้นขนาดเล็ก (Micro-crystals) ลักษณะที่เป็นแท่งยาวรวม เรียก Styloids (ยกเว้น *M. macrocarpa*) ภาพรวมมีผลการศึกษาสอดคล้องกับ Faden and Inman (1991) คือ ลักษณะเด่นและลักษณะวินิจฉัยของพืชสกุลหญ้าน้ำปักกิ่ง จะมีรูปแบบลวดลายของคิวตินที่มีลักษณะเฉพาะ (Cutin pattern) และกลุ่มเนื้อเยื่อสเคลอเรนคิมาที่ขอบใบ (Marginal sclerenchyma) ลักษณะดังกล่าวสามารถใช้วินิจฉัยและจำแนกพืชสมุนไพรระดับชนิดพันธุ์ของพืชสกุลนี้ ด้วยส่วนที่ไม่ใช่โครงสร้างสืบพันธุ์ได้ (ตารางเปรียบเทียบลักษณะและรูปวิธานจำแนกชนิดพันธุ์พืชโดยจุลลักษณะ เกิดเป็นองค์ความรู้ใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนในพืชสกุลนี้ (Innovation Result) การศึกษานี้ยังไม่สามารถระบุชนิดของพืชได้หนึ่งชนิด (*Murdannia sp.*) ผู้วิจัยคาดว่าจะจะเป็นพืชที่ถูกค้นพบใหม่สำหรับของโลก (New to science) นอกจากนี้ยังพบพืชที่ยังมีชื่อพฤกษศาสตร์ยังไม่ถูกต้องตามกฎหมายกำหนดชื่อ (New Combination) คือ ***Murdannia discreta***

ข้อเสนอแนะและปัญหา

โครงการวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาและวิจัยเพื่อศึกษาจุลลักษณะวินิจฉัยแผ่นใบของพืชสกุลหญ้าน้ำปักกิ่ง (*Murdannia*) วงศ์ Commelinaceae ซึ่งผู้วิจัยมีความตั้งใจที่จะผลิตผลงานที่เป็นนวัตกรรมการวินิจฉัย (Diagnostic Innovation) พืชสมุนไพรกลุ่มนี้เพื่อเป็นมาตรฐานพยาและเครื่องยา แต่ความคิดและวิสัยทัศน์แบบเส้นตรง ก็พบปัญหาและอุปสรรคมาโดยตลอดตั้งแต่อุปสรรคด้านการบริหารจัดการระดับ

คณะฯ ซึ่ง ผู้บริหารระดับคณะ รับรองการส่งเสริมสนับสนุนการรับทุนโดยการสนับสนุนและจัดตั้งห้องปฏิบัติการที่จำเป็นสำหรับการวิจัยพืชสมุนไพร ให้เป็นสมรรถนะหลักใหม่ (New Core Competency) ของการวิจัยของคณะฯ ที่สำคัญ ได้แก่

1. อนุญาตให้ใช้พื้นที่บางส่วนของห้องปฏิบัติการรวม และได้รับเครื่องมือชิ้นแรกที่สามารถพร้อมทำงานในปี 2553 ซึ่งเกินกำหนดตามสัญญา แต่ปัญหาเรื่องพื้นที่แออัดทำให้กระทบกระทั่งภายในภาควิชา ทำให้ต้องย้ายพื้นที่ใหม่ครั้งที่ 1 ในบริเวณห้องเก็บวัสดุภาควิชา ต่อมาหัวหน้าภาค (หัวหน้าภาคนกเก่าที่สนับสนุนขอย้ายไปช่วยราชการต่างมหาวิทยาลัย) และรองวิจัยคนใหม่ก็ให้ย้ายพื้นที่วิจัยอีก 2 ครั้ง รวมย้ายพื้นที่วิจัย 3 ครั้งใน 4 ปี ซึ่งเป็นภาระที่หนักสำหรับผู้วิจัย
2. แต่ปัญหาใหม่เนื่องจากขาดอุปกรณ์ประกอบการศึกษาวิจัย จึงขอใช้ร่วมกับบางคณะฯ ก็มีปัญหาเรื่องอุปกรณ์ที่มีจำกัดและมีการจองล่วงหน้ายาวนานและต่อเนื่อง เครื่องแทบจะไม่เคยว่างให้ใช้หรือถ้าจะใช้ต้องมีผลงานร่วมผู้ให้ใช้ เป็นช่วงเวลายาวนานและเกิดความเสียหายวัตถุดิบหลายครั้ง จึงอาจกล่าวได้ว่าไม่มีความพร้อมของพื้นที่และอุปกรณ์ส่งเสริมการวิจัยอย่างมีอาชีพ
3. ไม่สามารถขอไปสำรวจต่อเนื่องเกิน 4 วัน ทำการ ซึ่งเป็นปัญหาเรื่องระเบียบทางราชการ และการมีภารกิจที่มากทั้งการสอน การบริการวิชาการ วิจัยร่วมโครงการอื่นๆ (ช่วยเพื่อนร่วมงานและเพื่อนร่วมงานช่วยเรา) ปัญหาการบริหารกิจกรรมและเวลาส่วนตัวของผู้วิจัยไม่ดีพอที่จะการดำเนินงานของนักวิจัยรุ่นใหม่ที่ยังไม่พร้อมด้านต่างๆ ไม่สามารถมุ่งมั่นและแก้ปัญหาได้ตามเงื่อนไขเวลา แม้จะพยายามแก้ปัญหาด้วยตนเองเป็นเบื้องต้นในแต่ละปี
4. พืชกลุ่มนี้เป็นพืชที่พบในช่วงสั้น (ฤดูฝนเท่านั้น ฤดูอื่นส่วนใหญ่จะแห้งเหี่ยวหรือลงหัวอยู่ใต้ดินทำให้การสำรวจพบเจอได้ยาก) ถ้าไม่ออกดอกและ/หรือติดผล ก็ทำให้วินิจฉัยได้ยาก บางชนิดเป็นพืชเฉพาะถิ่นหายาก และยังมีปัญหาความแห้งแล้ง อุทกภัยและอัคคีภัยไฟป่าธรรมชาติในแหล่งศึกษาตามธรรมชาติทำให้ไม่สามารถเก็บชิ้นตัวอย่างได้ตามความคาดหวัง แต่อย่างไรก็ตามทำให้เกิดการบูรณาการความคิดใหม่เพื่อแก้ปัญหาและอุปสรรคต่างๆ โดยใช้ความร่วมมือจากอาจารย์ผู้สนใจร่วมผลงานศึกษาพืชกลุ่มนี้ จนทำให้ได้ทราบถึงคุณสมบัติทางยาเพิ่มเติม 3 ด้านด้วยกันได้แก่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Anti-oxidation) องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมี การจำแนกและวินิจฉัยโดยเทคนิคแรงกลเชิงผิวบาง (Thin Layer Chromatography) และการสะสมผลิตภัณฑ์ออกซาเลตจำนวนมากในพืชกลุ่มนี้ นอกจากนี้ผู้ร่วมงานบางกลุ่มอยู่ระหว่างการศึกษาศักยภาพการอักเสบ (Anti-inflammatory) ฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็ง (Anti-cancer) ทำให้เกิดผลลัพธ์ด้านผลงานตีพิมพ์เผยแพร่ทั้งระดับชาติและนานาชาติมากมาย รวมทั้งผลิตด้านมหัศจรรย์และดุจวิเศษ แต่ที่มีในโครงการนี้ สามารถสร้างนักศึกษาระดับปริญญาโท 3 คน และผลงานการเผยแพร่การวิจัยพืชกลุ่มนี้ทั้งระดับชาติและนานาชาติ กว่า 10 เรื่อง (ทุกเรื่องมีการอ้างอิงการส่งเสริมและสนับสนุนเงินทุนวิจัย **TRF-MRG5080006** และผลงานส่วนใหญ่เป็น **Corresponding author**) นอกจากนี้ยังทำให้ผู้วิจัยอยู่ในรายชื่อผู้เชี่ยวชาญพืชกลุ่มนี้ระดับชาติและระดับนานาชาติ (มีผู้มาขอคำปรึกษาเรื่องการวิจัย 6 ชาติ ได้แก่ ญี่ปุ่น ไต้หวันเนปาล กัมพูชาและสวีเดน) จึงอาจกล่าวได้ว่า

อุปสรรคการสำรวจทำให้สูญเสียค่าใช้จ่ายมากกว่าที่กำหนดเนื่องความผันผวนของฤดูกาลและภัยธรรมชาติ และต้องใช้เงินส่วนเงินเดือนนักวิจัยสมทบทั้งซื้อวัสดุและอุปกรณ์ที่ขาดแคลน จ่ายเพิ่มส่วนการสำรวจและช่วยเหลือค่าครองชีพนักศึกษาบัณฑิตศึกษาช่วยวิจัยในสภาพเศรษฐกิจฝืดเคือง และไม่ได้รับเงินสมทบงวดสุดท้ายจาก สกว. เนื่องจากยังไม่ได้ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์

5. ปัญหาไวรัสคอมพิวเตอร์ทำให้ไม่สามารถเรียกไฟล์งานได้ต้องใช้เวลาทำใหม่
6. อาจารย์ที่ปรึกษา Dr. Robert B. Faden, Department of Systematic Botany, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, PO Box 37012, Washington DC, USA. เป็นมะเร็งโลหิตขาว ต้องรักษาตัวมาโดยตลอดและขาดการติดต่อในช่วงปีที่สามของการวิจัย
7. ปัญหางบประมาณเพื่อไปเทียบตัวอย่างต้นแบบ (Type specimens) และเอกสารต้นแบบ (First Publication) ที่พิพิธภัณฑ์พืชในยุโรป (ฝรั่งเศสและอังกฤษ)
8. ปัญหาการบรรยายเป็นภาษาละตินเพื่อเปรียบลักษณะพืชที่พบใหม่และพบใกล้เคียง

อย่างไรก็ตาม อนาคต ต้องทำการสำรวจเพิ่มเติม เพื่อเปรียบเทียบความสอดคล้องเป็นกลุ่มตามลักษณะจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสร้างจุลลักษณะวินิจฉัยแผ่นใบพร้อมรูปวิธานเพื่อใช้เป็นมาตรฐานวินิจฉัยพวงยาสมุนไพรหรือชิ้นส่วนสมุนไพรที่ไม่มีโครงสร้างสืบพันธุ์ (ปกติใช้ลักษณะโครงสร้างสืบพันธุ์เพื่อการวินิจฉัย)

ข้อเสนอแนะ การให้ทุนควรให้ความสำคัญแก่สถาบัน คณะและภาควิชา ที่มีความพร้อมด้านห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ส่งเสริมการวิจัยอย่างมืออาชีพ การสำรวจควรอนุญาตให้ขยายเวลาในการเดินทางเพื่อประหยัดงบประมาณและบรรลุดูวัตถุประสงค์การสำรวจ ควรมีทีมวิจัยที่เข้มแข็งที่พร้อมจะช่วยเหลือนักวิจัยใหม่ เพื่อผลลัพธ์ที่เป็นเลิศ ไม่มีปัญหาเรื่องส่งอาจารย์ลาเรียนและลาวิจัยมากเกินไปจนทำให้ต้องแบกรับภาระงานตามพันธกิจมากเกินไป ควรจัดให้มีเงินรางวัลเพื่อจูงใจให้ที่ปรึกษาโครงการช่วยกำกับและช่วยเหลืองานวิจัยเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุด

ภาคผนวก

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว. (A-F)

A. รายชื่อผลงานที่ตีพิมพ์และเผยแพร่ จากการสนับสนุนทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของ อาจารย์รุ่นใหม่ สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย TRF-MRG5080006

1. ธานี สืบปาละ สุพัตรา ปรศุพัฒนา ศรีสมพร ปรีเปรมและทวีศักดิ์ ธิติเมธาโรจน์. 2550. การศึกษาเปรียบเทียบทางเภสัชเวทและฤทธิ์ด้านออกซิเดชันของพืช 3 ชนิด ในสกุล *Murdannia* (วงศ์ Commelinaceae). ***Murdannia bracteata*, *M. loriformis* and *M. nudiflora***. วารสารวิจัย มข. (บศ.) 7(2): เม.ย.-มิ.ย. : 98-110.
2. ธานี สืบปาละ ศรีสมพร ปรีเปรม สุพัตรา ปรศุพัฒนาและทวีศักดิ์ ธิติเมธาโรจน์. 2007. การศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานทางเภสัชเวทของพืช 3 ชนิด ในสกุลหญ้าปักกิ่ง (วงศ์ผักปลาบ). ***Murdannia bracteata*, *M. loriformis* and *M. nudiflora***. Isan Journal of Pharmaceutical Sciences 3(1): January-June : 43-52.
3. **THAWEESAK THITIMETHAROCH**, Woraporn Putalun & Robert B. Faden. ***Murdannia discreta*** (Commelinaceae): Recognizing and Understanding a Rare Species in Thailand. 14th Flora of Thailand Meeting. Carlsberg Academy, Copenhagen, Denmark. 18-21 August 2008. (Oral Presentation)
4. **THAWEESAK THITIMETHAROCH**, Tarinee Subphala, Srisomporn Preeprame, Supratra Porasuphatana & Robert B. Faden. The Identification of Yah Peking as ***Murdannia bracteata*** (Commelinaceae) and the species with which it has been confused. 14th Flora of Thailand Meeting. Carlsberg Academy, Copenhagen, Denmark. 18-21 August 2008. (Oral Presentation)
5. Orasa Chaichumporn, Srisomporn Preeprame and **THAWEESAK THITIMETHAROCH**. Preliminary Thin-Layer Chromatography (TLC) Identification of Three *Murdannia* species (Family Commelinaceae): ***Murdannia japonica*, *M. spectabilis* and *M. vaginata***: The 3rd Sino-Thai

International Conference. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning, Guangxi, P.R. China. 23-31 October 2008. 145-146.

6. Sureerut Kaewsart, Srisomporn Preeprame and **THAWEESAK THITIMETHAROCH**. Preliminary Thin-Layer Chromatography (TLC) Identification of Four *Cyanotis* species (Family Commelinaceae): ***Cyanotis arachnoidea*, *C. axillaris*, *C. thwaitesii* and *C. vaga***: The 3rd Sino-Thai International Conference. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning, Guangxi, P.R. China. 23-31 October 2008. 260-263.

7. สุรรัตน์ เขียวสอาด¹, ศรีสมพร ปรีเปรม¹, สุพัตรา ปรสุพัฒนา¹ และ ทวีศักดิ์ ธิติเมธาโรจน์^{1*}. COMPARATIVE PHARMACOGNOSTIC STUDIES AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *Murdannia gigantea*, *M. macrocarpa* AND *M. simplex* (FAMILY COMMELINACEAE). การประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 14 โรงแรมสุนีย์แกรนด์ แอนด์ คอนเวนชันเซ็นเตอร์ จ.อุบลราชธานี 10-12 ตุลาคม 2553.

8. อรษา ชัยชุมพร¹, สุพัตรา ปรสุพัฒนา¹, ศรีสมพร ปรีเปรม¹ และ ทวีศักดิ์ ธิติเมธาโรจน์^{1*}. COMPARATIVE PHARMACOGNOSTIC STUDIES AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *Murdannia discreta*, *M. edulis* AND *M. japonica* (FAMILY COMMELINACEAE). การประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 14 โรงแรมสุนีย์แกรนด์ แอนด์ คอนเวนชันเซ็นเตอร์ จ.อุบลราชธานี 10-12 ตุลาคม 2553.

9. Sureerut Kaewsart, Supratra Porasuphatana, R.B. Faden and **THAWEESAK THITIMETHAROCH**. Total Phenolic Content and DPPH radical scavenging activity from aerial vegetative parts of ***Murdannia bracteata*, *M. gigantea*, *M. macrocarpa* and *M. simplex***. (Family Commelinaceae): The 2nd Symposium of the Flore du Cambodge, du Laos et du Vietnam. Institution of Ecology and Biological Resources, Ministere des Affaires Etrangeres et Europeennes, Sud Expert Plantes and Museum National d'histoire naturelle, Hanoi, Vietnam. 6-8 December 2010. 80p.

10. Orasa Chaichumporn, Supratra Porasuphatana, R.B. Faden and **THAWEESAK THITIMETHAROCH**. DPPH radical scavenging activity and total Phenolic Content from aerial vegetative parts of ***Murdannia bracteata*, *M. discreta*, *M. edulis* and *M. japonica***. (Family Commelinaceae): The 2nd Symposium of the Flore du Cambodge, du Laos et du Vietnam. Institution of

Ecology and Biological Resources, Ministere des Affaires Etrangeres et Europeennes, Sud Expert Plantes and Museum National d'histoire naturelle, Hanoi, Vietnam. 6-8 December 2010. 81p.

B. สามารถสร้างมหัศจรรย์ ได้ 3 คน และได้รับรางวัลการนำเสนอผลงานระดับชาติ 1 คน (ธาริณี) และระดับนานาชาติ 1 คน (สุวิรัตน์) ปัจจุบันเป็นครู อาจารย์ หรือ นักวิจัย

C. การค้นพบใหม่

ทราบจุดลักษณะวินิจฉัยแผ่นใบและรูปวิธานจำแนกชนิดพันธุ์พืชซึ่งเป็นองค์ความรู้ใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนสำหรับพืชสกุลนี้ (Diagnostic Innovation)

การศึกษาครั้งนี้พบพืชที่ยังไม่สามารถระบุชนิดของพืชได้หนึ่งชนิด (**Murdannia** sp. = **Murdannia ubonensis**) คาดว่าจะเป็นพืชที่ถูกค้นพบใหม่ของโลก (New to Science)

นอกจากนี้ยังพบพืชที่ยังมีชื่อพฤกษศาสตร์ยังไม่ถูกต้องตามกฎหมายการกำหนดชื่อ (New Combination) คือ **Murdannia discreta**

D. พบข้อควรระวังในการบริโภคสมุนไพรพืชวงศ์ผักปราบ (Commelinaceae) คือ การสะสมผลึกแคลเซียมออกซาเลต จำนวนมากในส่วนต่างๆ ของพืช อาจทำให้ผู้บริโภค เกิดการระคายเคืองทางเดินอาหาร และสะสมที่ไต

E. ความรู้และประสบการณ์ที่ได้ทำให้สามารถนำไปบูรณาการเรียนการสอน ในมุมมองการวินิจฉัยพืชสมุนไพร ภูมิปัญญาท้องถิ่นเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์ ฤทธิ์ทางยาและพิษวิทยา

F. รายชื่อผลงานต้นฉบับรอการตีพิมพ์และเผยแพร่

(มีปัญหาเรื่องค่าใช้จ่ายเดินทางเพื่อเทียบเคียงพืชต้นแบบ (type specimen) ที่พิพิธภัณฑ์พืชในยุโรปและการสำรวจเพิ่มเติมในพื้นที่ใหม่)

1. Murdannia discreta (Commelinaceae), A New Combination from Thailand

2. Comparative Leaf Anatomy of Asian Murdannia species

3. Comparative data of TLC patterns in between genus Murdannia and Cyanois

4. Murdannia ubonensis T. Thitimetharoch & R.B. Faden (Commelinaceae), a new species from Thailand

***Murdannia discreta* (Commelinaceae), A New Combination from Thailand**

Thaweesak Thitimetharoch*, Woraporn Putalun* and Robert B. Faden**¹

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand

** Department of Botany, MRC 166, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution,
PO Box 37012, Washington DC, 20560, 20013-7012, U.S.A.

Abstract: *Aneilema discretum* Craib was described from a single 1911 Kerr collection from Doi Suthep in northern Thailand. It was not recollected for more than half a century. Despite more than a dozen collections since the mid-1980's, recognition of *A. discretum* as a distinct species of *Murdannia* has remained in doubt. In a recent Ph.D. thesis (Thitimetharoch, 2004) the plant was just mentioned in a note. Our more recent studies, including a field collection from the type locality in September 2007, have confirmed that *M. discreta* is a relatively rare but distinct species that is somewhat intermediate between the common and widespread species *M. japonica* and *M. edulis*. From the former it may best be distinguished by its pubescent leaves and from the latter by the presence of cauline leaves or leafy bracts on the flowering shoots. *Murdannia discreta* is known from the Northern, Northeastern and Eastern Floristic Regions of Thailand. Another 2007 Maxwell collection has extended the known distribution of this nearly endemic Thailand species further east into Cambodia.

¹ Author for correspondence.

INTRODUCTION

Aneilema discretum Craib was described by Craib (1912) based on a single Kerr collection (Kerr 1909) from the lower slopes of Doi Suthep, Chiang Mai Province, Thailand. It has remained obscure ever since. Faden (1991: 153) referred this name to the genus *Murdannia* but without making the new combination. Thitimetharoch (2004: 82) mentioned *A. discretum* in the discussion under *M. edulis* (Stokes) Faden but did not accept it as a distinct species. Indeed, until recently, no other collections have been recognized for certain as belonging to *A. discretum*. Our working hypothesis has been that either *A. discretum* was a rare and not fully characterized species or else that it was an hybrid between *M. edulis* and *M. japonica* (Thunb.) Faden, the two species to which it bears the closest resemblance.

Several things happened in close succession that made us conclude that *A. discretum* is a distinct species of *Murdannia*. The first was that in loan of Commelinaceae from Thailand from Kyoto University. One of us (RBF) noted that there were six [check] collections from various localities in Thailand that were a good match for the type of *Aneilema discretum*. Second, from the images of these specimens that were sent to him. One of us (TT) recognized that a collection he had made in eastern Thailand ([T. Thitimetharoch 604 & 741](#)) very far from the type locality of *A. discretum*, was also this species. Third, a recent collection made by J. F. Maxwell from Cambodia (Maxwell 07-417 (CMU)), which we

studied in September, 2007 at Chiang Mai University (CMU) made us realize that this species was even more widespread than we had previously believed. And fourth, we collected this species on at the type locality in September 2007 (*Thitimetharoch & Faden* 766), and it was evident that we were dealing with a distinct species and not a hybrid (see discussion). *Aneilema discretum* has never been transferred to *Murdannia*, so the following new combination is necessary:

Murdannia discreta (Craib) Thitimetharoch & Faden, **comb. nov.** Basionym: *Aneilema discretum* Craib, Kew Bull. 1912: 414 (1911). Type: Doi Sootep, in mixed jungle, 1,100 ft.[335 m], 18 July 1911, A. F. J. Kerr 1909 (K!, holotype (sheet with the printed species description (Fig.1); isotypes, K! (sheet lacking the description label) TCD! or TCM??), Fig. 1.

[Maxwell & Elliott (201: 125) recorded *A. discretum* as being of medium abundance between 400 and 500 m in Doi Suthep-Pui National Park but do not consider its taxonomy.]

A full description of *M. discreta*, based on all of the collections observed follows:

Perennial herbs with spirally basal rosette leaves. **Roots** tuberous, sometimes producing distal tubers (TT & FD 766). **Leaves** on basal rosette, linear to narrowly elliptic, 15-35(-60) by 1.5-3(-4.5) cm, glabrous except puberulent at inframarginal line of adaxial surface (rarely sparsely pubescent, *Gen Murata et al. T-37666*) base narrowly cuneate, apex acute to acuminate, margins thickened and cartilage, undulate and often ciliate at base. **Leaf sheaths** distinct on flowering shoots, 1.5-2.5 by 0.5-1 cm, usually puberulent or pubescent throughout on the uppermost. **Flowering shoots** commonly single, scapiform, commonly 50-80 cm long, puberulent on ascending part, and usually with 6 leaves which reduced distally, spirally distance, the lowest and largest leaf lanceolate, 5-14 by 1-2 cm, the upper most, 2-3, reduced to bladeless tubular sheaths, 1-1.5 by 0.3-0.4 cm, the lowest one (prophyll?) becomes forked (bifid), 2.5-7 x 0.5-1 cm. **Inflorescences** terminal, lax-thyrse on the terminal of flowering shoots, inflorescence axis straight, with ca. 7 alternate cincinni, each 1-3.5 cm long; cincinnus peduncles 0.3-1.5 cm long; cincinnus bracts membranous, amplexicaul, lanceolate to ovate, 3-6 by 3-4 mm, glabrous, decreasing in size from the lower to the upper cincinni. **Flowers** white; bracteoles membranous, amplexicaul, ovate, ca. 3 by 2 mm, persistent, pedicels 5-10 mm long, enlarging in fruit. **Sepals** slightly succulent, greenish white, reddish or purplish white, lanceolate, 6-8 by 2.5-3.5 mm, with 2 shallow grooves and 3 ridges on back side. **Petals** white or pinkish purple, obovate, 5-8 by 3-6 mm. **Fertile stamens** 3, antepetalous, filaments 6-7 mm long, white or pale violet bearded on lower part; anthers yellow, narrowly elliptic, 1.5-2 by 0.5-1 mm, pollen white. **Staminodes** 3, antepetalous 3, filaments 2-3 mm long, white or pale violet bearded on lower part; antherodes yellow, distinct trilobed, 1-2 by 1-1.5 mm. **Ovary** ovate-oblong, ca. 1-2 by 0.6 mm, glabrous, styles 5-7 mm long, stigma simple. **Capsules** ovoid, 6-7 by 5-6 mm, glabrous, often beaked. **Seeds** many.

(the description was measured from both dried and living materials!)

Thailand.- **NORTHERN**: Chiang Mai *Bogner s.n.* (K) [no date], (Doi Suthep-Pui) A.F.G. Kerr 1909 (K, TCD), 18 July 1911, J.F. Maxwell 87-754 (CMU), 1 August 1987, (Panup-Doi Suthep-Pui) H. Takahashi T-62935 (KYO), 16 July 1988, (near Wang Bua Ban Waterfall-Doi Suthep-Pui) M. N. Tamura T-60077 (KYO), 16 July 1988, (near Huai Kaew Waterfall-Doi Suthep-Pui) T. Thitimetharoch & Faden 766 (BKF, US), 9 September 2007; **NORTH-EASTERN**: Loei (Phu Kradung) H. Takahashi T-63177 (KYO), 27 August 1988 & T-63236 (KYO), 29 August 1988, Sakon Nakhon (Phu Phan), Chantaranothai et al. 704 (KKU), 3 October 1997; **EASTERN**: Surin, Sakol 208 (BK), 16 May 1965, *Gen Murata et al*

T-37726 (KYO), October 6, 1984, (Sangkha, 103° 40' E, 14-30'N, 190 m) *Gen Murata et al* T-37666 (BKF, KYO), October 6, 1984; Ubon Ratchathani (Kong Chium Gene Conservation Station, Ban Bahai, **N 15° 25' .981 – E 105° 27' 996**) *Martin Greijmans* 78 (BKF, CMU), 23 May 2001, (Pha Taem, Pha Mohn trail) *T. Thitimetharoch* 604 (BKF, KKU), 30 May 2005 & 741 (BKF, US), 28 July 2007

Distribution.- **Cambodia.** (Kratie Province, Sambour Dist., Mae Kong River, Kring Island, SE side of the island, 30 m., *J.F. Maxwell* 07-417 (CMU), 30 July 2007)

Used.- Chewed fresh roots or leaves are used as compasses for the treatment of general minor wound (Thitimetharoch & Yongvanit, 2007).

Ecology.- Moist places in deciduous forest, **alt. 150-400 (-1,280) m**; flowering and fruiting from June to November, **flower opening from late afternoon to evening.**

Notes.- *Murdannia discreta* is a rare species. It was first recorded only a locality at Doi Suthep-Pui, Chiang Mai, but now it seems to have a wider range to northeastern part of the country. It is characterized by its leafy bracts on the flowering shoots. We have found that the species has three fertile stamens not two as quoted in the original description. Most characters are intermediate between *M. edulis* and *M. japonica*. Some taxonomic characters are still questioned for the species such as distally fusiform tubers and seed morphology (Table 1). This species is needed for future study.

Table 1. Comparison of some morphological characters among *M. discreta*, *M. edulis* and *M. japonica*.

Characters	<i>M. discreta</i>	<i>M. edulis</i>	<i>M. japonica</i>
Distal tubers	present (sometimes)	present	absent
Leaves	glabrous	glabrescent or pubescent	glabrous
Flowering shoots	single with ca. 6 lamina sheaths with a few bladeless sheaths on both the uppermost and lower most in spirally distance arrangement, 1-2 cm width	single to several with 2-4 bladeless sheaths, sometimes with a short lamina on the lowermost one in spirally distance arrangement	single to a few with several well-developed lamina sheaths in distichous arrangement and congested at the top, 2.5-6.5 cm width
Inflorescence axes / Infl.stalk	Straight / puberulent throughout	Straight / glabrous	zig-zag / glabrous
Flowers	white	pinkish purple, violet blue or rarely white	white or rarely pinkish purple
Anthers	yellow	cream-colored	variable, cream-colored, yellowish orange or violet-gray
Filaments of fertile stamens	6-7 mm long	3.5-4 mm long	3-5 mm long
Filaments of sterile stamens	ca. 2 mm long	2.5-3 mm long	2-3.5 mm long
Capsules	ovoid	oblong-ellipsoid	ovoid
Seeds	?	ca. 2 x 1.5 mm (terminal seeds), ca. 1 x 1.5-2 mm (medial seeds); testa obscurely pitted all over; embryotega subdorsal	ca. 2.5 x 2 mm (terminal seeds), ca. 1.5-2 x 1.5-2 mm (medial seeds); testa finely radiately reticulate and spinulose-warty from middorsal embryotega

Discussion

The new information about *Murdannia discreta* has led us to conclude that it is a rare or uncommon but widespread species that is seldom collected. Although we think that it is closely related to *M. edulis* and *M. japonica* because of its broad rosette leaves and perfoliate bracteoles, we think that it is very unlikely to have originated as a hybrid between these species. In most characters, such as the presence of cauline leaves, occasional vivipary from the lower nodes on the flowering shoots, and white flowers, *M. discreta* much more closely resembles *M. japonica* than *M. edulis* (Table 1). Only in its pubescent leaves, the general appearance of the basal rosette and its ecology is *M. discreta* more similar to *M. edulis* than to *M. japonica*.

The three species can be separated by the following key:

1. Flowering shoots lacking well-developed leaves; roots with distal fusiform tubers
M. edulis
2. Flowering shoots with well developed leaves; roots with or without tubers
2
2. Leaves with an inframarginal adaxial band of hairs, rarely the pubescence abaxial and either inframarginal or covering the abaxial surface; cauline leaves at most 3 per shoot, spirally distance arrangement, 1-2 cm width, inflorescence axis rather straight, fertile filaments 6-7 mm long.
M. discreta
- Leaves glabrous; cauline leaves often numerous, districhous and congested at the top, 2.5-6.5 width, inflorescence axis rather zig-zag, fertile filaments 3-5 mm long
M. japonica

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank the Royal Golden Jubilee Ph.D. Program (RGJ: grant no. 4.B.KK/42/B.1) and the Thailand Research Fund (TRF-MRG-5080006) for financial support. We are very grateful to the curators and staff of Kew (K) and Trinity College, Dublin (TCD) who made it possible to study their specimens. We also thank to National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, the Applied Taxonomic Research Center, Faculty of Science and Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University for their facilities.

REFERENCES

- Brückner, G. 1930. Commelinaceae. In: **Die natürlichen Pflanzenfamilien** (Ed. by A.Engler), ed.2, vol. 15: 159-181. Leipzig.
- Craib, W.G. 1912. Contributions to the Flora of Siam (Miscellaneous Information). **Kew Bulletin**. 1912: 397-435.
- Faden, R.B. 1977. The Identity of *Commelina japonica* Thunb. (Commelinaceae). **Taxon**. 26(1): 142-144.
- Faden, R.B. 1980. The Taxonomy and Nomenclature of Some Asiatic Species of *Murdannia* (Commelinaceae): The Identity of *Commelina medica* Lour. and *Commelina tuberosa* Lour. **Taxon**. 29(1): 71-83.
- Faden, R.B. 1998. Commelinaceae. In: Kubitzki, K. **The Families and Genera of Vascular Plants**. Vol. 4 (Flowering Plants-Monocotyledons: Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae), pp. 109-128. Springer, Berlin.
- Thitimetharoch, T. 2004. Taxonomic Studies of the Family Commelinaceae in Thailand. **Unpublished Ph.D. Thesis**. Khon Kaen University.

Thitimetharoch, T. & Yongvanit, S. 2007. Ethnobotanical Survey of Pha Taem National Park, Ubon Ratchathani Province, Thailand. (Proceeding) **The 2nd Sino-Thai International Conference on Traditional Medicine and Natural Products**. 2-6 December 2007, Kosa Hotel, Khon Kaen, Thailand.

Thaweesak Thitimetharoch*, Woraporn Putalun* and Robert B. Faden. 2008. *Murdannia discreta* (Commelinaceae): Recognizing and Understanding a Rare Species in Thailand. (Abstract) **14th Flora of Thailand Meeting**. 18-21 August 2008. Carlsberg Academy, Copenhagen, Denmark.



A



B

Figure 1 *Murdannia discreta*: A. holotype of *Aneilema discretum* Craib, Kew Herbarium (K) and B. distal fusiform tubers.

Comparative data of TLC patterns in between genus *Murdannia* and *Cyanois*

1. Introduction

2. Materials and Methods

The whole plants of four species in genus *Cyanois* (Family Commelinaceae): *C. arachnoidea* Wight, *C. axillaris* (L.) Sweet, *C. thwaitesii* Hassk., *C. vaga* (Lour.) Schult. f. and aerial parts of three *Murdannia* species: *Murdannia japonica* (Thumb.) Feden, *M. spectabilis* (Kurz) Faden and *M. vaginata* (L.) G.Bruckn., were collected for voucher specimens and experimental materials. The vouchers were deposited at Herbal Herbarium, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen and Forest Herbarium Bangkok (BKF), Bangkok, Thailand. Solvent systems [*systems I*: chloroform - ethyl acetate - methanol - formic acid - water (90 : 25 : 15 : 2.5 : 2.5, v/v) and *systems II*: ethyl acetate - formic acid - acetic acid - water (125 : 11 : 11 : 13.5, v/v)] were modified for methanol extraction of the samples and standard markers [Andrographolide (AG), Ferulic acid (FA) and Rutin (RT)] on silica gel 60 F254. The chromatograms were investigated by using 10% sulfuric acid in ethanol (10% H₂SO₄), 1 % Aluminum chloride in ethanol (1% AlCl₃) and ultraviolet light 254 nm and 366 nm^{3,5}.

3. Results

TLC fingerprint profile of methanol extract ของพืชแต่ละชนิด เมื่อใช้ *systems I* เพื่อตรวจสอบกลุ่ม Terpenoid เมื่อสังเกตภายใต้ UV-366 จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีแดงและสีฟ้า (Fig 1-A) และเมื่อตรวจสอบด้วย 10% H₂SO₄ จะปรากฏแถบสีแตกต่างกัน (Fig 1-B) และเมื่อสังเกตภายใต้ UV- 366 จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีแดง น้ำเงิน เทา (Fig 1-C) ส่วน *systems II* เพื่อตรวจสอบสารกลุ่ม Flavonoids เมื่อตรวจสอบด้วย 10% H₂SO₄ และสังเกตภายใต้ UV- 366 จะปรากฏแถบสีแดง เหลืองและฟ้าขาว (Fig 2-A) และเมื่อตรวจสอบด้วย 1% AlCl₃ จะปรากฏแถบสีเหลือง (Fig 2-B) และเมื่อสังเกตภายใต้ UV- 366 จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีเหลืองและสีฟ้าขาวชัดเจน (Fig 2-C)

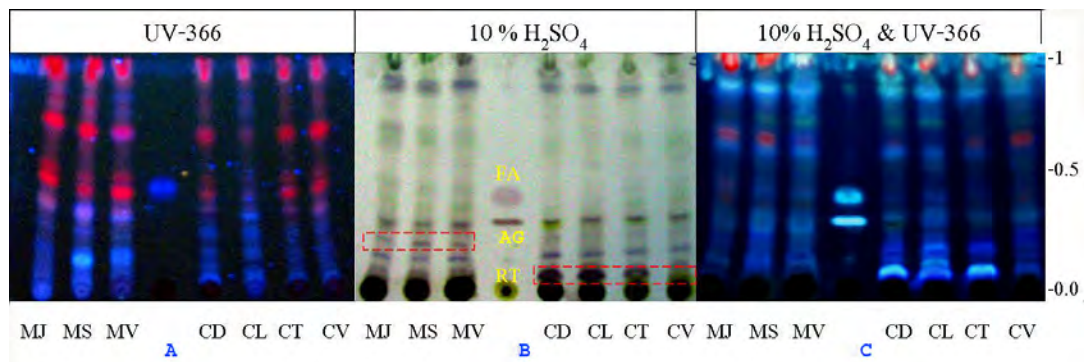


Fig 1 TLC chromatograms of *C. arachnoidea* (CD), *C. axillaris* (CL), *C. thwaitesii* (CT), *C. vaga* (CV), *M. japonica* (MJ), *M. vaginata* (MS), *M. spectabilis* (MV), Andrographolide (AG), Ferulic acid (FA) and Rutin (RT) in systems I.

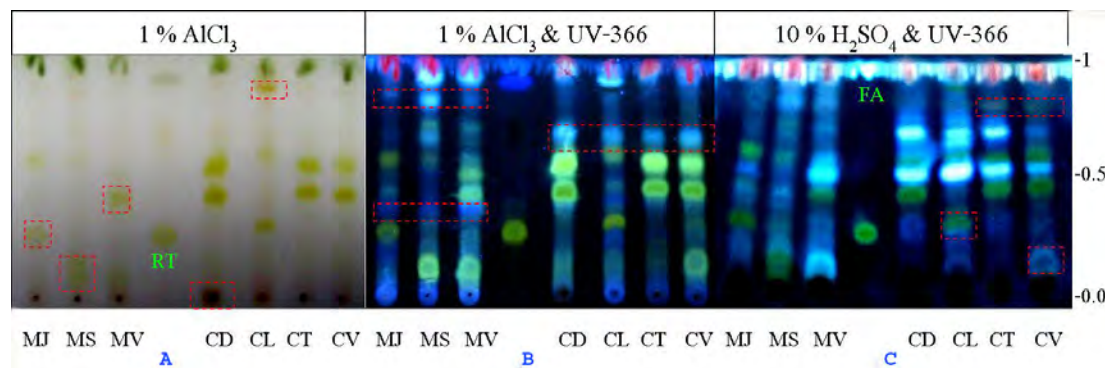


Fig 2 TLC chromatograms of *C. arachnoidea* (CD), *C. axillaris* (CL), *C. thwaitesii* (CT), *C. vaga* (CV), *M. japonica* (MJ), *M. vaginata* (MS), *M. spectabilis* (MV), Ferulic acid (FA) and Rutin (RT) in systems II.

4. Discussion & Conclusion

จากการศึกษาพบว่าโดยทั่วไปพืชกลุ่มนี้มีองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นเหมือนกันคือสารกลุ่ม Terpenoid และ Flavonoids โดยใน systems I เมื่อตรวจสอบด้วย 10% H_2SO_4 จะแสดงแถบสีบนโครมาโทแกรม ที่ค่า R_f ต่างๆ คล้ายกันในพืชแต่ละชนิด ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีส่วนใหญ่จะเป็นสารกลุ่มที่มีขั้วน้อย โดยจะปรากฏแถบสีม่วงฟ้า สีม่วงน้ำตาล และสีม่วง ที่ค่า R_f ประมาณ 0.85, 0.41 และ 0.16 เป็นสารประกอบหลักของพืชกลุ่มนี้ ซึ่งคาดว่าเป็นสารกลุ่ม Terpenoid แต่ที่แตกต่างคือ พืชในสกุล *Murdannia* จะปรากฏแถบสีม่วงน้ำเงิน ที่ค่า R_f ประมาณ 0.2 (Fig 1-B) ส่วนพืชในสกุล *Cyanois* จะปรากฏแถบสีม่วงชัดเจนที่ค่า R_f ประมาณ 0.11 และจะเห็นแถบแสงสะท้อนสีฟ้าขาวชัดเจน ภายใต้แสง UV-366 (Fig 1-C)

ส่วนใน systems II สามารถแยกความแตกต่างโครมาโทแกรมของสารสกัดแต่ละชนิดได้อย่างชัดเจน เมื่อตรวจสอบด้วย 10% H_2SO_4 และ 1% $AlCl_3$ ภายใต้แสง UV-366 จะเห็นสารกลุ่มที่มีขั้วมากกว่าที่พบใน systems I และสารส่วนใหญ่ที่แยกได้เป็นสารในกลุ่ม Flavonoids ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพืชกลุ่มนี้มีสารกลุ่ม Flavonoids ที่หลากหลายและแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด ดังแสดงใน Fig 2 โดย

- แถบสารที่แสดงความแตกต่างระหว่างพืชในแต่ละสกุล คือ จะปรากฏแถบแสงสะท้อนสีฟ้าขาวที่ค่า R_f ประมาณ 0.81 และ 0.37 เฉพาะในพืชสกุล *Murdannia* ซึ่งแตกต่างจากพืชในสกุล *Cyanois* ที่จะปรากฏที่ค่า R_f ประมาณ 0.68 [Fig 2: ตรวจสอบด้วย 1% $AlCl_3$ ภายใต้แสง UV-366]
- แถบสารที่แสดงความแตกต่างระหว่างพืชแต่ละชนิด: จะปรากฏแถบสีเหลืองที่ค่า R_f ต่างๆ แตกต่างกัน กล่าวคือ MJ พบที่ค่า R_f ประมาณ 0.29 MS พบที่ค่า R_f ประมาณ 0.13 MV พบที่ค่า R_f ประมาณ 0.44 CD พบที่ค่า R_f ประมาณ 0.45 และ 0.58 เหมือนกับ CT และ CV [Fig 2: ตรวจสอบด้วย 1% $AlCl_3$] แต่แตกต่างที่ค่า R_f ประมาณ 0.16 ใน CV จะปรากฏแถบสะท้อนแสงสีเหลืองชัดเจน [Fig 2: เมื่อตรวจสอบ

ด้วย 1% AlCl_3 ภายใต้ UV-366] และจะพบแถบสีส้มที่ค่า R_f ประมาณ 0.9 เฉพาะใน CL [Fig 2: ตรวจสอบด้วย 1% AlCl_3]

โดยสารที่แตกต่างกันสามารถนำมาใช้เป็น Chemical marker ในการตรวจสอบเอกลักษณ์ของพืชแต่ละชนิดได้ ซึ่งสนับสนุนรายงานการวิจัยอนุกรมเชิงเคมีของพืชวงศ์ Commelinaceae ทั้งหมดที่ผ่านมาที่ใช้สารกลุ่ม Flavonoids เป็นสารสำคัญในการจัดจำแนกชนิด (Stirton and Harborne, 1980; Martinez, 1985; Martinez and Swain, 1985; Martinez MADP and Martinez AJ, 1993; ธารินี สืบปาละ และคณะ, 2551; Chaichumporn et al., 2008; Kaewsart et al., 2008)

***Murdannia ubonensis* T. Thitimetharoch & R.B. Faden (Commelinaceae), a new species from Thailand**

Thaweesak Thitimetharoch¹, Robert B. Faden² and Pranom Chantaranothai³

¹ Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand.

² Department of Botany, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, PO Box 37012, Washington DC, 20013-7012, U.S.A.

³ Department of Biology, Faculty of Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand.

ABSTRACT. A new species, *Murdannia ubonensis* Faden & Thitimetharoch, is restricted to Pha Taem National Park, Khong Chium District, Ubon Ratchathani Province, Thailand. This paper is given a full description and illustrations. Also, the features distinguishing it from the closely related species, *Murdannia edulis* and *M. japonica*, are summarized.

KEY-WORDS: *Commelinaceae* – *Murdannia* – Thailand – Ubon Ratchathani – Khong Chium – Pha Taem.

INTRODUCTION

During a field trip at Pha Taem National Park, Khong Chium District, Ubon Ratchathani Province. We found a population of very robust and giant rosette plants with several slender lateral flowering shoots. The plant is similar to common species in deciduous forest, *Murdannia edulis* (Stokes) Faden (Faden, 1980). The features distinguish it from the closely species, *Murdannia edulis* (Stokes) Faden and *M. japonica* (Thunb.) Faden are summarized in Table 1. Detailed study is described and illustrated (Figure 1) as below.

Murdannia ubonensis Faden & Thitimetharoch, **sp. nov.** (Fig. 1)

Holotype: THAILAND: Ubon Ratchathani Province, Khong Chium District, Pha Taem National Park, *T. Thitimetharoch* 599 (holotype- K, isotype- BK, BKF, KKU, US)

Paratypes: *T. Thitimetharoch* 531 (KKU, US), *T. Thitimetharoch* 633 (BK, BKF, K, KKU, US), *T. Thitimetharoch* 641 (KKU, US)

Murdannia edulis (Stokes) Faden *affinis a qua differt lamina folii longiore et latiore, glabra,*

A giant and robust perennial herbs, with spirally basal rosette leaves. *Roots* fibrous, thick, with a distal, fusiform tubers. *Leaves* on basal rosette, linear-oblong, 30-45 by 3.5-9 cm, glabrous, base cuneate, apex acuminate, margins thick, cartilage, undulate and scaberulate. *Leaf sheaths* on basal rosette leaves, ca. 4 by 2 cm. *Flowering shoots* slender, commonly producing many, up to 10 per plant, scapiform, usually 30-50 cm long, suberect or ascending, usually sparsely branched below, with 2-3 bladeless sheathing bracts, 1-2 by 0.4-0.5 cm. *Inflorescences* terminal, lax-thyrse on the flowering shoots and lateral branches, with 6-10 alternate cincinni. Cincinnus axis 2-3 cm long, with 10 - up to 20 dense spirally arranged flowered, cincinnus bracts chatacheous, decreasing in size from the lower to the upper cincinni, tubular sheaths, 9-30 by 2.5-3 mm, perfoliate, glabrous, often green with maroon, persistent, cincinnus peduncles 2-7 mm. *Flowers* bisexual, actinomorphic, reddish or orange-pink (*rarely violet*), bracteoles membranous, ovate, ca. 2 by 2 mm, amplexicaul, not perfoliate, glabrous, persistent, pedicels erected to ascending, 4-6 mm long, glabrous. *Sepals* chartaceous, green, sometimes with maroon, lanceolate, 4-6 by 2-2.5 mm, apex acuminate, smooth and *puberulent* out side. *Petals* redish or orange-pink (*rarely violet*), oblanceolate, 5.5-6 by 3-3.5 mm, apex acute. *Fertile stamens 3, filaments* ca. 4 mm long, reddish (or rarely violet) bearded on lower parts, anthers reddish or cream, elliptic, ca. 1.5 by 1 mm. *Staminodes* 3, filaments ca. 3 mm long, reddish (or rarely violet) bearded on lower parts, antherodes yellowish or cream, trilobed (the medial lobe obscure), ca. 0.5 by 1 mm. *Ovary* greenish, elliptic, ca. 2 by 1 mm, styles ca. 4 mm long, stigma simple. *Capsules* ellipsoid, 5-7 by 3.5-4 mm, shortly beaked, glabrous, locules (3-)4 seeded. *Seeds* uniseriate, trapizoid or rectangular, 1.5-2 by 1.2-1.4 mm, testa grayish brown or brown, smooth, obscure rugose-obscure pitted, usually finely white-silver warts, embryotega circular on sublateral to dorsal, hilum punctiform, usually elliptic on subbasal-ventral side.

Vernacular name.- Kai-Tuan-Yai (ไก่อ่อนใหญ่)

Used.- minced thick roots and/or its tuberous roots are treated as anti-septic, anti-coagulant and healing wound. Roots and tuberous roots are fodder for wild chicken in dry season.

Thailand.- EASTERN: Ubon Ratchathani (Pha Taem National Park-Khong Chium District)

Distribution.- rare and endemic

Ecology.- wet places in understory deciduous forest; flowering in July-September, flowers opening in the evening, and fruiting in October-November.

Table 1. Summary of morphological differences among species, *Mudannia ubonensis* Faden & Thitimetharoch, *M. edulis* (Stokes) Faden and *M. japonica* (Thunb.) Faden.

Characters	<i>M. ubonensis</i>	<i>M. edulis</i>	<i>M. japonica</i>
Roots	Thick, 3-5 mm in diam., with distal tubers	Moderately thick, 2-3 mm in diam., with distal tubers	Moderately thick, 2-3 mm in diam., but not tuberous
Leaves	Broader, 3.5-9 cm width, glabrous on both side	Narrower, 2-3 cm width, subglabrous or dense pubescent beneath and usually dense puberulent along margins above	Narrower to moderate, 1-5.5 cm width,
Flowering shoots producing	More slender, numerous	Slender, single to few	Larger, single to a few
Sheaths on flowering shoots	ca. 4 by 2 cm, bladeless	ca. 2.5-3 by 1 cm, bladeless	Ca. X cm, leafy
Inflorescence	Dense thyrses	Lax panicle	Lax panicle
Cincinni	Dense spirally arranged flowers	Spaced flowers	Spaced flowers
Cincinnus axis	short with dense flowers, straight	elongate with spaced flowers, slightly zig-zag	elongate with spaced flowers, strongly zig-zag
Cincinnus bracts	Chartaceous, tubular sheaths folded cincinnus, caducous	Membranous, ovate-amplexicaule, caducous	Membranous, ovate-amplexicaul, caducous
Flowers	Reddish Orange or Orange-pink (rarely violet)	White or purple to violet	White (rarely light purple)
Sepals	Chartaceous, smooth and puberulent on back side, apex acuminate	Slightly succulent, with distinct 2 grooved, 3 ridged and glabrous on back side, apex obtuse-rounded	Slightly succulent, with distinct 2 grooved, 3 ridged and glabrous on back side, apex obtuse-rounded
Petals	oblanceolate, apex acute	obovate, apex obtuse-round	Obovate-suborbicular, apex rounded
Anthers	reddish or cream, ca. 1.5 by 0.8 mm	cream, 1.8-2 by 1-1.2 mm	Gray or violet-gray (rarely pale yellow), 0.8-1.5 by 1.3-2 mm
Antherodes	yellowish or cream	bright yellow	yellow
Capsules		Obovoid, ca. X mm, 4-seeded in each locule	Ellipsoid-oblong, ca. 5-7 by 4-5 mm, 3-4(-8)-seeded in each locule
Seeds		Testa brown, obscurely pitted all over, with a midventral ridge	Testa brown, finely radiately reticulate and spinulose-warty from embryotega, with a midventral ridge

ACKNOWLEDGMENTS

The study was supported by The Thailand Research Fund (TRF), Research Center for Makong Regional Tourism, Khon Kaen University. The authors are thankful to thank to head of Pha Taem National Park, Mr. Saksit Subsombun and Mr. Bunlue Subsiri for helping in the field. We are very grateful to the directors and curators of **BK, BKF, K, KKU and US herbaria for their** holdings and facilities. We also thank to Smithsonian Institution, USA, Department of Biology, Faculty of Sciences and Department of Pharmaceutical Botany and Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Thailand for their facilities.

BIBLIOGRAPHIES

- Faden, R.B. 1977. The Identity of *Commelina japonica* Thunb. (Commelinaceae). **Taxon**. 26(1): 142-144.
- Faden, R.B. 1980. The Taxonomy and Nomenclature of Some Asiatic Species of *Murdannia* (Commelinaceae): The Identity of *Commelina medica* Lour. and *Commelina tuberosa* Lour. **Taxon**. 29(1): 71-83.
- Fernandes, R. and H. Santapau. 1954. Critical Notes on the Identity and Nomenclature of Some Bombay Plants. **Journal, Bombay Natural History of Society**. 52(1): 137-141.
- Nampy, Santhosh and Paul Joby. 2003. *Murdannia fadeniana* Nampy & Joby (Commelinaceae), a new species from India. **Candollea**. 58: 79-82.

COMPARATIVE PHARMACOGNOSTIC STUDIES AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF

Murdannia gigantea, M. macrocarpa AND M. simplex (FAMILY COMMELINACEAE)

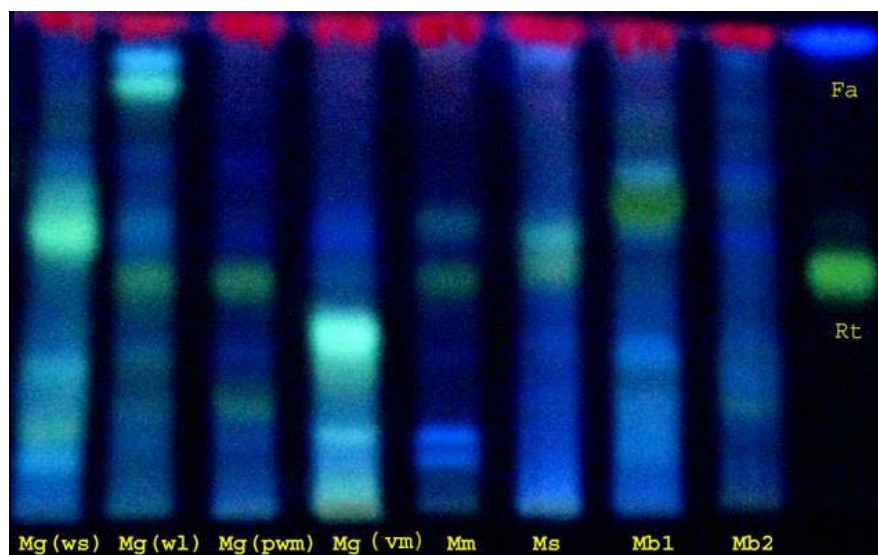
การศึกษาเปรียบเทียบทางเภสัชเวทและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสมุนไพรน้ำค้างกลางเที่ยงหญ้า
ตักแตนและว่านสะหรี่กันไทร (วงศ์ผักปราบ)

สุรรัตน์ เขียวสอาด¹, ศรีสมพร ปรีเปรม¹, สุพัตรา ปรศุพัฒนา¹, ทวีศักดิ์ ธิติเมธาโรจน์¹

¹ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002

* E-mail: thathi@kku.ac.th

การศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลทางเภสัชเวทของพืชน้ำค้างกลางเที่ยง (*Murdannia gigantea*) [มีลักษณะผันแปรทาง
สัณฐานวิทยา ได้แก่ กลุ่มดอกสีขาว ต้นขนาดเล็ก กลุ่มดอกสีขาวต้นขนาดใหญ่ กลุ่มดอกสีขาวโคนม่วงและกลุ่มดอกสีม่วง]
หญ้าตักแตน (*M. macrocarpa*) และว่านสะหรี่กันไทร (*M. simplex*) (วงศ์ผักปราบ) ด้วยวิธีศึกษาจุลลักษณะวินิจฉัยแผ่นใบ
(วิธีทำให้ใสและวิธีพาราฟิน) การศึกษาพิษเคมีเบื้องต้น (วิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในหลอด
ทดลอง (วิธี Folin-Ciocalteu, DPPH, FRAP และ TBARS) พบว่า ทุกวิธีสามารถใช้ประกอบการวินิจฉัยเพื่อแสดงความ
แตกต่างของพืชทุกชนิดได้ดี รวมทั้งแสดงความแตกต่างในกลุ่มพืชที่มีลักษณะผันแปรทางสัณฐานวิทยาได้ [*M. gigantea*] และ
แสดงให้เห็นโอกาสในการจำแนกพืชกลุ่มนี้ในระดับสายพันธุ์ (variety)



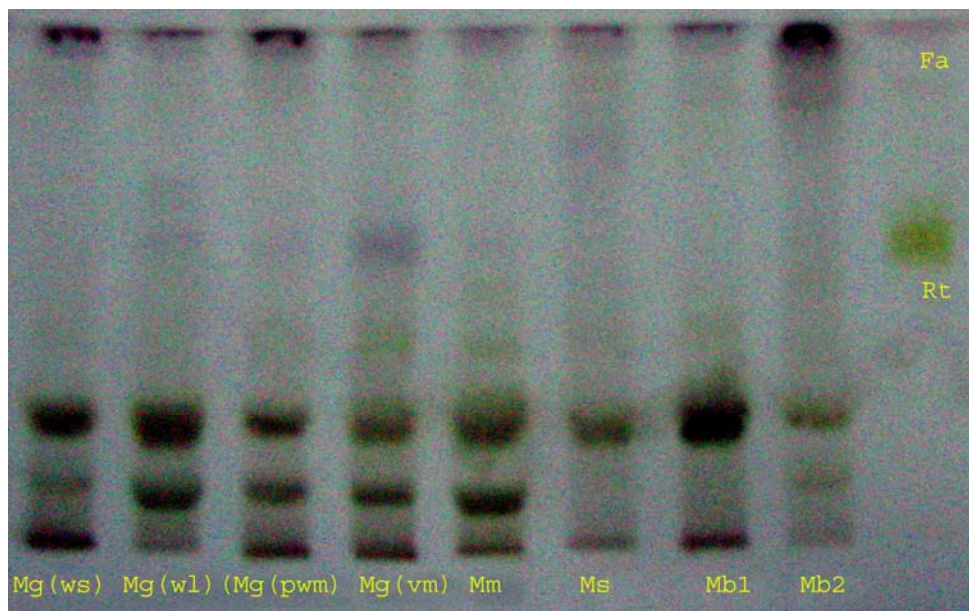
ชื่อไฟล์ภาพ : Effective Chromatogram (Vegetative part)

วันที่ถ่าย : 08-02-53

สถานที่ถ่าย : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผู้ถ่ายภาพ : สุรวิรัตน์ เขียวสอาด

รายละเอียด : ทินเลเยอร์โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดินของ *Murdannia gigantea* [ดอกขาวต้นเล็ก Mg (ws), ดอกขาวต้นใหญ่ Mg (wl), ดอกขาวโคนม่วง Mg (pwm) และ ดอกม่วง Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm), *M. simplex* (Ms) และ *M. bracteata* (Mb1 และ Mb2) ในระบบตัวทำละลายที่ประกอบด้วย เอทิลแอซีเตต : กรดฟอร์มิก : กรดแอซีติก : น้ำ (125: 11: 11: 13.5) โดยใช้กรดเฟอร์ูลิก (Ferulic acid, Fa) และ รุทีน (Rutin, Rt) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ ตรวจสอบด้วย 1% อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminum chloride) ในเอทานอลและสังเกตแถบสะท้อนแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร



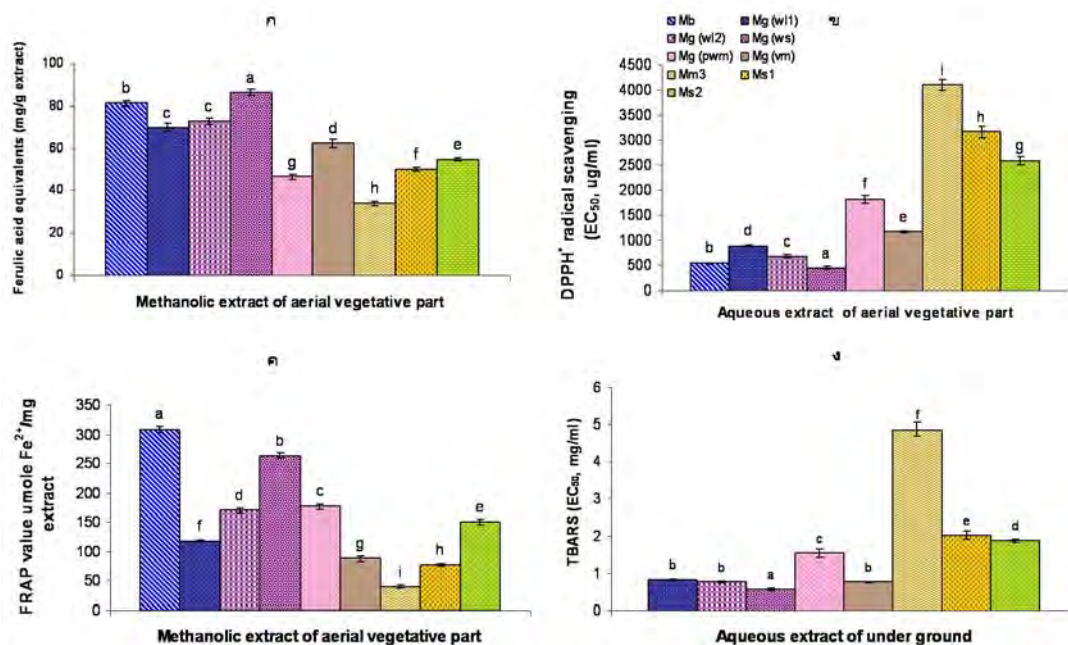
ชื่อไฟล์ภาพ : Effective Chromatogram (Underground part)

วันที่ถ่าย : 08-02-53

สถานที่ถ่าย : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผู้ถ่ายภาพ : สุวีร์ตน์ เขียวสอาด

รายละเอียด : ทินเลเยอร์โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนใต้ดินของ *Murdannia gigantea* [ดอกขาวต้นเล็ก Mg (ws), ดอกขาวต้นใหญ่ Mg (wl), ดอกขาวโคนม่วง Mg (pwm) และ ดอกม่วง Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm), *M. simplex* (Ms) และ *M. bracteata* (Mb1 และ Mb2) ในระบบตัวทำละลายที่ประกอบด้วย เอทิลแอสีเตต : กรดฟอร์มิก : กรดแอซีติก : น้ำ (125: 11: 11: 13.5) โดยใช้กรดเฟอร์รูลิก (Ferulic acid, Fa) และ รูทีน (Rutin, Rt) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ ตรวจสอบด้วย 10% กรดกำมะถันในเอทานอล และสังเกตแถบสี



ชื่อไฟล์ภาพ : Effective Anti-oxidant Methods

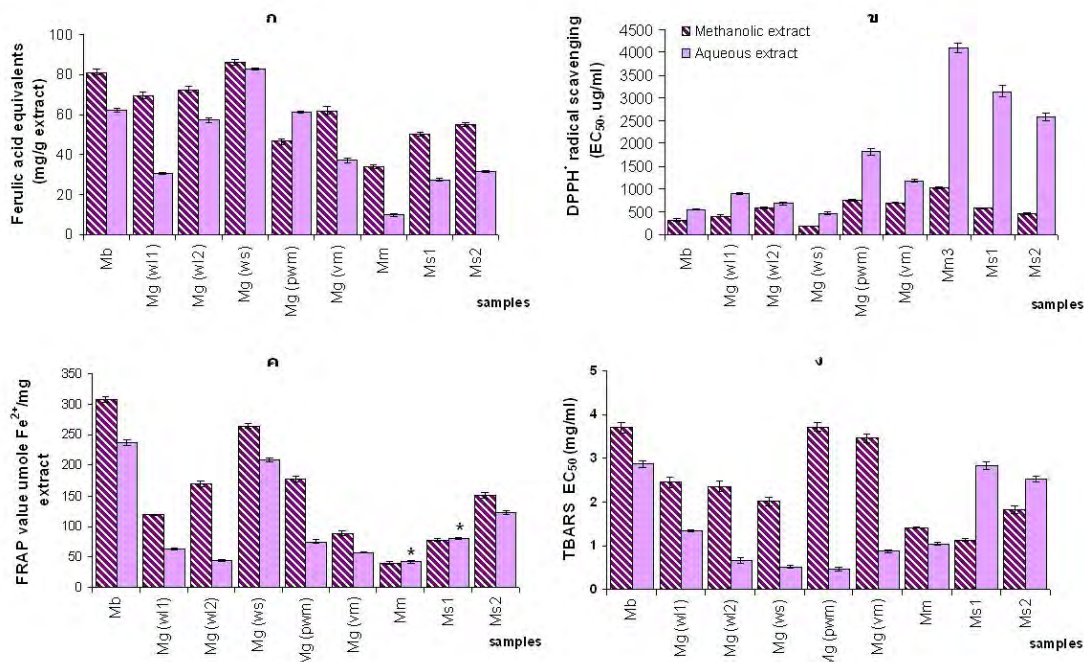
วันที่ถ่าย : 14-04-53

สถานที่ถ่าย : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผู้ถ่ายภาพ : สุรวิรัตน์ เขียวสอาด

รายละเอียด : แสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในแต่ละวิธี (ก. Folin-Ciocalteu ข. DPPH ค. FRAP และ ง. TBARS) ที่สามารถแสดงความแตกต่างได้อย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดด้วยเมทานอลและน้ำทั้งจากส่วนเหนือดินและใต้ดินของ *Murdannia bracteata* (Mb), *M. gigantea* [ดอกขาวต้นเล็ก: Mg (ws), ดอกขาวต้นใหญ่: Mg (wl), ดอกขาวโคนม่วง: Mg (pwm) และ ดอกม่วง: Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm) และ *M. simplex* (Ms)

[โดยตัวอักษรบนภาพที่เหมือนกัน หมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.05$)]



ชื่อไฟล์ภาพ : Different solvent

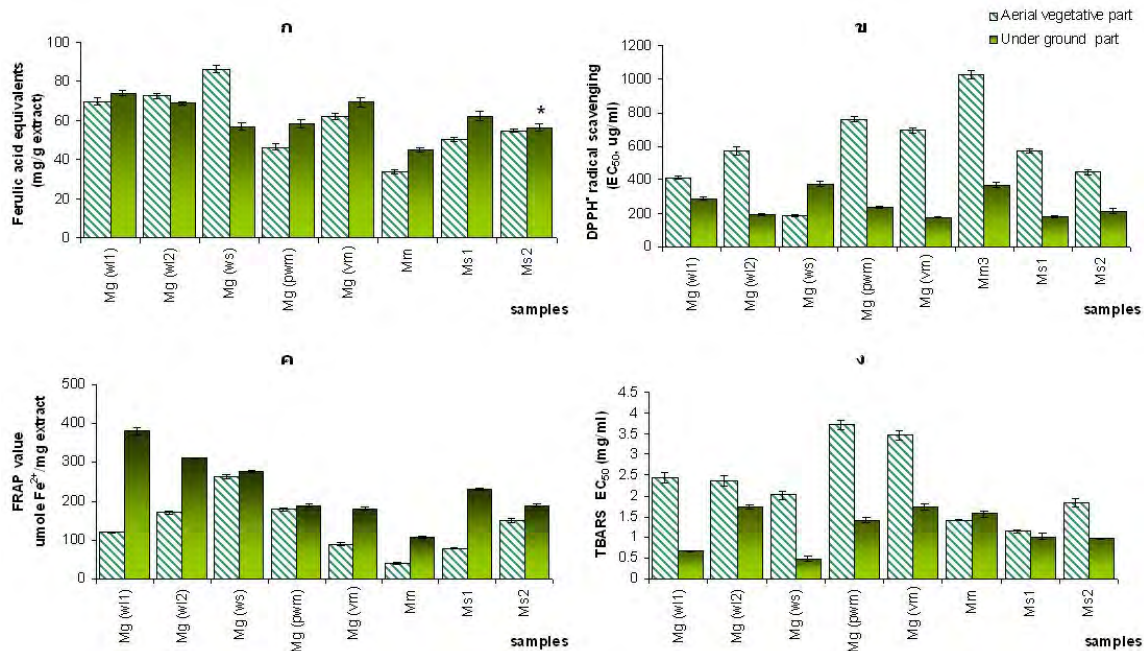
วันที่ถ่าย : 10-05-53

สถานที่ถ่าย : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผู้ถ่ายภาพ : สุรวิรัตน์ เขียวสอาด

รายละเอียด : เปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในแต่ละวิธี (ก. Folin-Ciocalteu ข. DPPH ค. FRAP และ ง. TBARS) ระหว่างสารสกัดด้วยเมทานอลและน้ำจากส่วนเหนือดินของ *Murdannia bracteata* (Mb), *M. gigantea* [ดอกขาวต้นเล็ก: Mg (ws), ดอกขาวต้นใหญ่: Mg (wl), ดอกขาวโคนม่วง: Mg (pwm) และ ดอกม่วง: Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm) และ *M. simplex* (Ms)

[โดยเครื่องหมาย * บนภาพ หมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.05$)]



ชื่อไฟล์ภาพ : Different material part

วันที่ถ่าย : 07-06-53

สถานที่ถ่าย : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผู้ถ่ายภาพ : สุรวิรัตน์ เขียวสอาด

รายละเอียด : เปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในแต่ละวิธี (ก. Folin-Ciocalteu ข. DPPH ค. FRAP และ ง. TBARS) ระหว่างสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดินและส่วนใต้ดินของ *Murdannia gigantea* [ดอกขาวต้นเล็ก: Mg (ws), ดอกขาวต้นใหญ่: Mg (wl), ดอกขาวโคนม่วง: Mg (pwm) และ ดอกม่วง: Mg (vm)], *M. macrocarpa* (Mm) และ *M. simplex* (Ms)

[โดยเครื่องหมาย * บนภาพ หมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.05$)]

COMPARATIVE PHARMACOGNOSTIC STUDIES AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *Murdannia discreta*, *M. edulis* AND *M. japonica* (FAMILY COMMELINACEAE)

การศึกษาเปรียบเทียบทางเภสัชเวทและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสมุนไพรไก่อเลื้อยป่า

ว่านข้าวเหนียวและโกฐทูงนา (วงศ์ผักปราบ)

อรุษา ชัยชุมพร¹, สุพัตรา ปรศุพัฒนา¹, ศรีสมพร ปรีเปรม¹ และทวิศักดิ์ ธิติเมธาโรจน์^{1*}

¹ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002

* E-mail: thathi@kku.ac.th

การศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลทางเภสัชเวทของพืชสมุนไพรไก่อเลื้อยป่า (*Murdannia discreta*) ว่านข้าวเหนียว (*M. edulis*) [มีลักษณะผันแปรทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะขนปกคลุมส่วนต่างๆ ขนาดและความหนาของช่อดอก] และโกฐทูงนา (*M. japonica*) (วงศ์ผักปราบ) ด้วยวิธีศึกษาจุลลักษณะวินิจจัยแผ่นใบประดับช่อดอก (วิธีทำตัวอย่างให้ใสและวิธีพาราฟิน) การศึกษาทางพฤกษเคมีเบื้องต้น (วิธีหาปริมาณรวมของสารสกัดและทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในหลอดทดลอง (วิธี Folin-Ciocalteu, DPPH, FRAP และ TBARS) พบว่า ทุกวิธีสามารถใช้ประกอบการวินิจจัยเบื้องต้นเพื่อแสดงความแตกต่างของพืชทุกชนิดได้ดี และสามารถแสดงความแตกต่างในกลุ่มพืชที่มีลักษณะผันแปรทางสัณฐานวิทยาได้



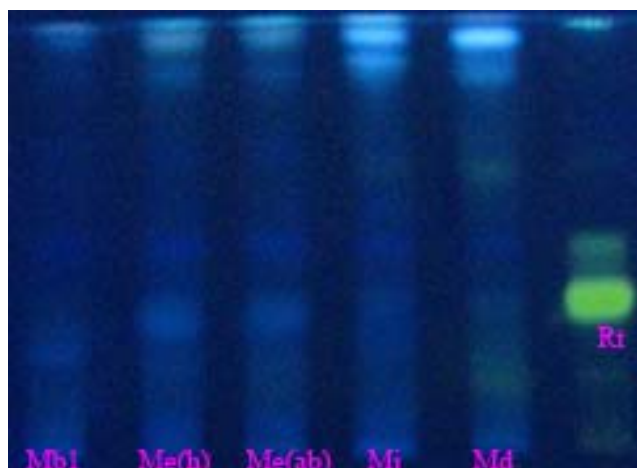
ชื่อไฟล์ภาพ : Chromatogram (Vegetative part)

วันที่ถ่าย : 10-02-53

สถานที่ถ่าย : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผู้ถ่ายภาพ : นางสาวอรุษา ชัยชุมพร

รายละเอียด : ทินเลเยอร์โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนเหนือดินของ *Murdannia edulis* [มีขนมากหลังแผ่นใบ (hairy blade); Me(h) และมีขนน้อยหลังแผ่นใบ (glabrate blade); Me(ab)], *M. japonica* (Mj) และ *M. discreta* (Md) และ *M. bracteata* (Mb1, Mb2) ในระบบตัวทำละลายที่ประกอบด้วย เอทิลเอซีเตต : กรดฟอร์มิก : กรดแอสติก : น้ำ (125 : 11 : 11 : 13.5) โดยใช้กรดเฟอร์ูลิก (Ferulic acid, Fa) และรูทีน (Rutin, Rt) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ ตรวจสอบด้วย 1% อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminum chloride) ในเอทานอล และสังเกตแถบสะท้อนแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร



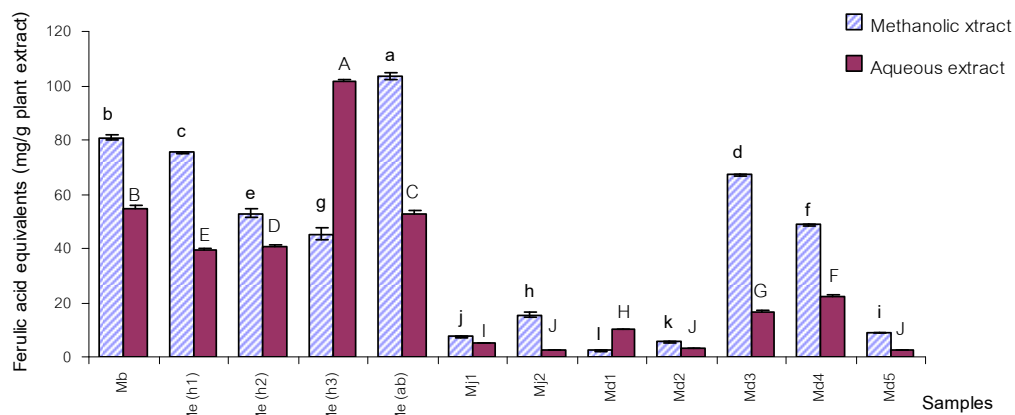
ชื่อไฟล์ภาพ : Chromatogram (Underground part)

วันที่ถ่าย : 15-02-53

สถานที่ถ่าย : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผู้ถ่ายภาพ : นางสาวอรรษา ชัยชุมพร

รายละเอียด : ทินเลเยอร์โครมาโทแกรมของสารสกัดด้วยเมทานอลจากส่วนใต้ดินของ *Murdannia edulis* [มีขนมากหลังแผ่นใบ (hairy blade); Me(h) และมีขนน้อยหลังแผ่นใบ (glabrate blade); Me(ab)], *M. japonica* (Mj) และ *M. discreta* (Md) และ *M. bracteata* (Mb1)) ในระบบตัวทำละลายที่ประกอบด้วย เอทิลแอสีเตต : กรดฟอร์มิก : กรดแอสีติก : น้ำ (125 : 11 : 11 : 13.5) โดยใช้รูทีน (Rutin, Rt) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ ตรวจสอบด้วย 1% อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminum chloride) ในเอทานอล และสังเกตแถบสะท้อนแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร



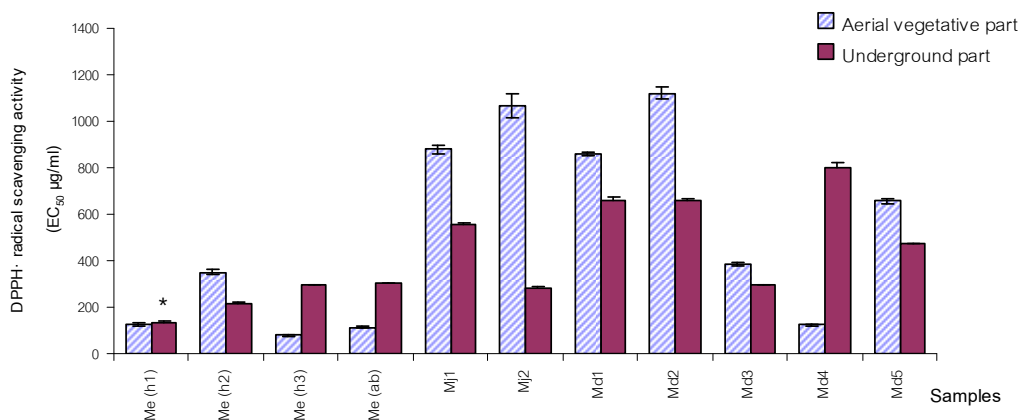
ชื่อไฟล์ภาพ : Effective Folin-Ciocalteu Method

วันที่ถ่าย : 24-05-53

สถานที่ถ่าย : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผู้ถ่ายภาพ : นางสาวอรุษา ชัยชุมพร

รายละเอียด : แสดงค่า เปรียบเทียบปริมาณทั้งหมดของสารประกอบฟีนอลิกจากส่วนเหนือดินของสารสกัดด้วยเมทานอลและน้ำของ *Murdannia edulis* [มีขนมากหลังแผ่นใบ (hairy blade) (Me (h1), Me (h2) และ Me (h3) และมีขนน้อยหลังแผ่นใบ (glabrate blade); Me(ab)], *M. japonica* (Mj1 และ Mj2), *M. discreta* (Md1-5) และ *M. bracteata* (Mb) [โดยอักษรบนภาพที่เหมือนกันหมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.05$)]



ชื่อไฟล์ภาพ : Different material part

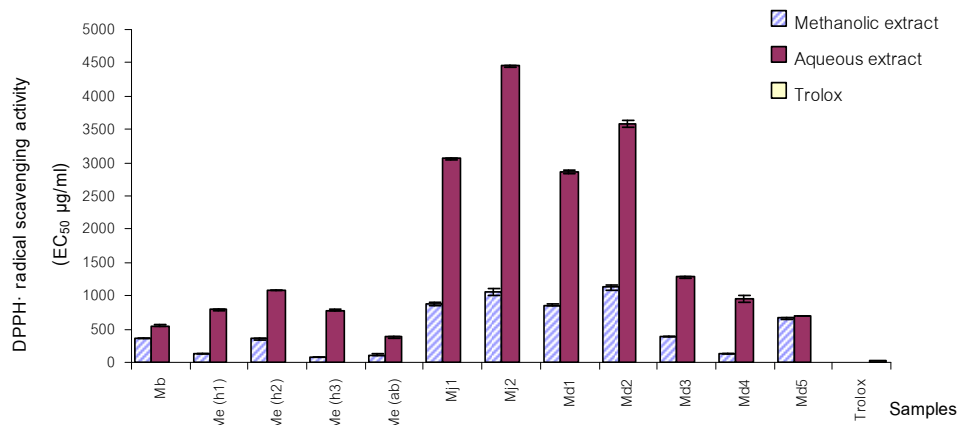
วันที่ถ่าย : 16-06-53

สถานที่ถ่าย : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผู้ถ่ายภาพ : นางสาวอรรษา ชัยชุมพร

รายละเอียด : แสดงค่า EC₅₀ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH[•] จากส่วนเหนือดินและใต้ดินของสารสกัดด้วยเมทานอลของ *Murdannia edulis* [มีขนมากหลังแผ่นใบ (hairy blade) (Me (h1), Me (h2) และ Me (h3) และมีขนน้อยหลังแผ่นใบ (glabrate blade); Me(ab)], *M. japonica* (Mj1 และ Mj2), *M. discreta* (Md1-5) และ *M. bracteata* (Mb)

[โดยเครื่องหมาย* บ่งภาพหมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.05$)]



ชื่อไฟล์ภาพ : Different solvent

วันที่ถ่าย : 22-04-53

สถานที่ถ่าย : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผู้ถ่ายภาพ : นางสาวอรุษา ชัยชุมพร

รายละเอียด : แสดงค่า EC₅₀ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH[•] จากส่วนเหนือดินของสารสกัดด้วยเมทานอลและน้ำของ *Murdannia edulis* [มีขนมากหลังแผ่นใบ (hairy blade) (Me (h1), Me (h2) และ Me (h3) และมีขนน้อยหลังแผ่นใบ (glabrate blade); Me(ab)], *M. japonica* (Mj1 และ Mj2), *M. discreta* (Md1-5) และ *M. bracteata* (Mb)

[โดยเครื่องหมาย* บ่งภาพหมายความว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.05$)]

The Identification of Yah Peking as *Murdannia bracteata* (Commelinaceae) and the Species with which It Has Been Confused



**Thaweesak Thitimetharoch *, Tarinee Subphala *,
Srisomporn Preeprame *, Supatra Porasuphatana *
and Robert B. Faden****

* Department of Pharmaceutical Sciences,
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Thailand.

*** Department of Botany, Smithsonian Institution, Washington, DC, U.S.A.

M. bracteata

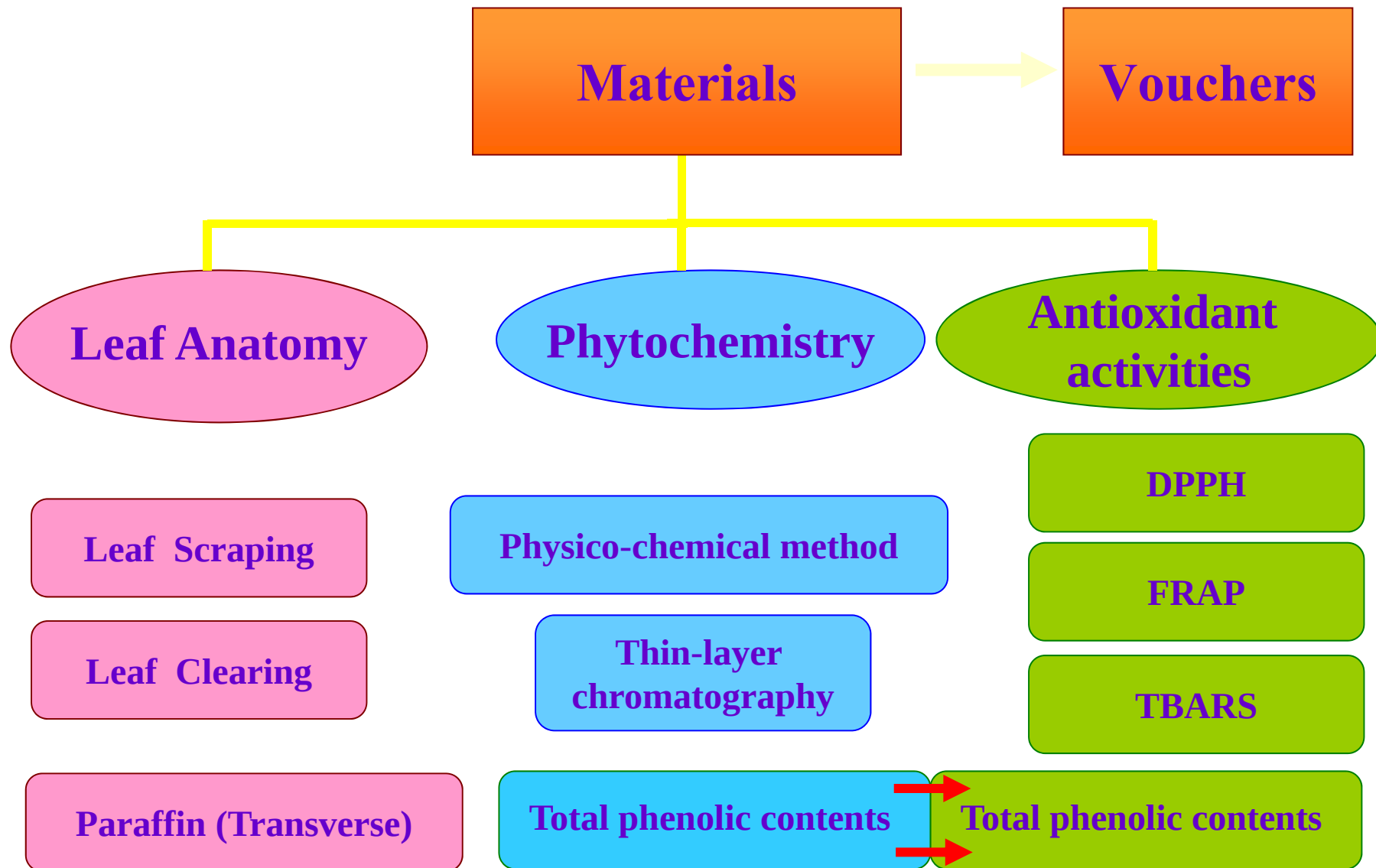


M. nudiflora



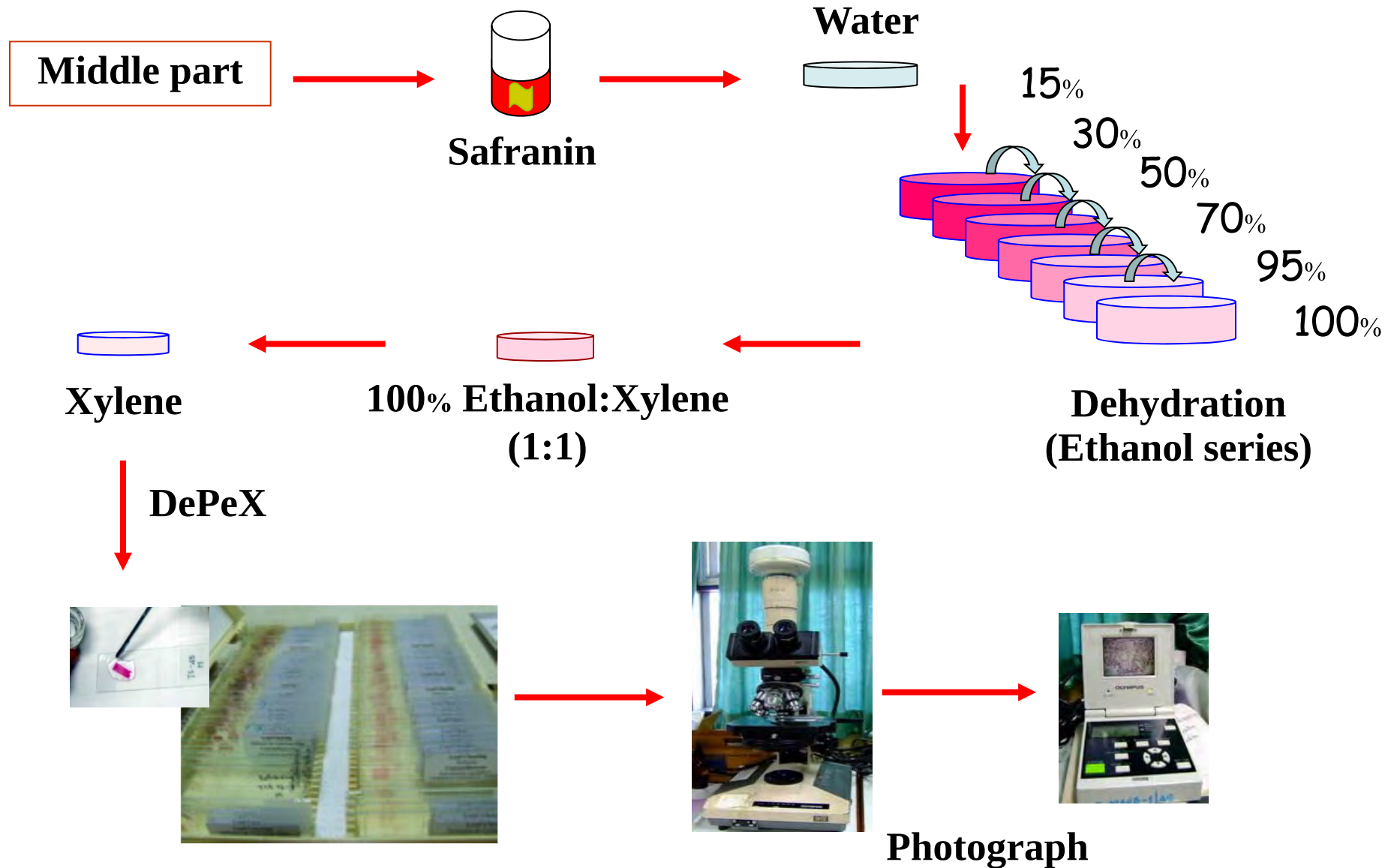
M. loriformis



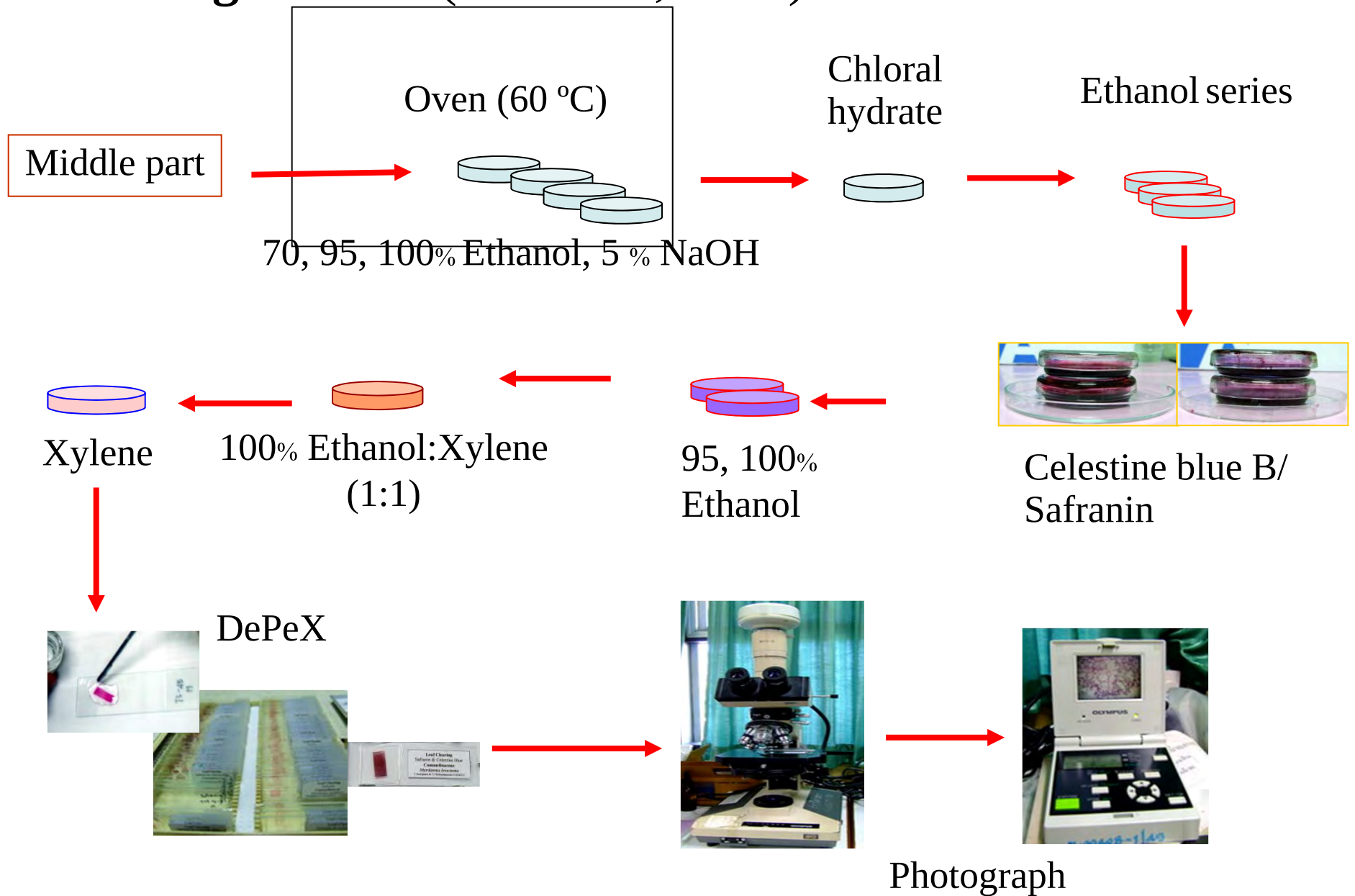


Leaf Anatomy

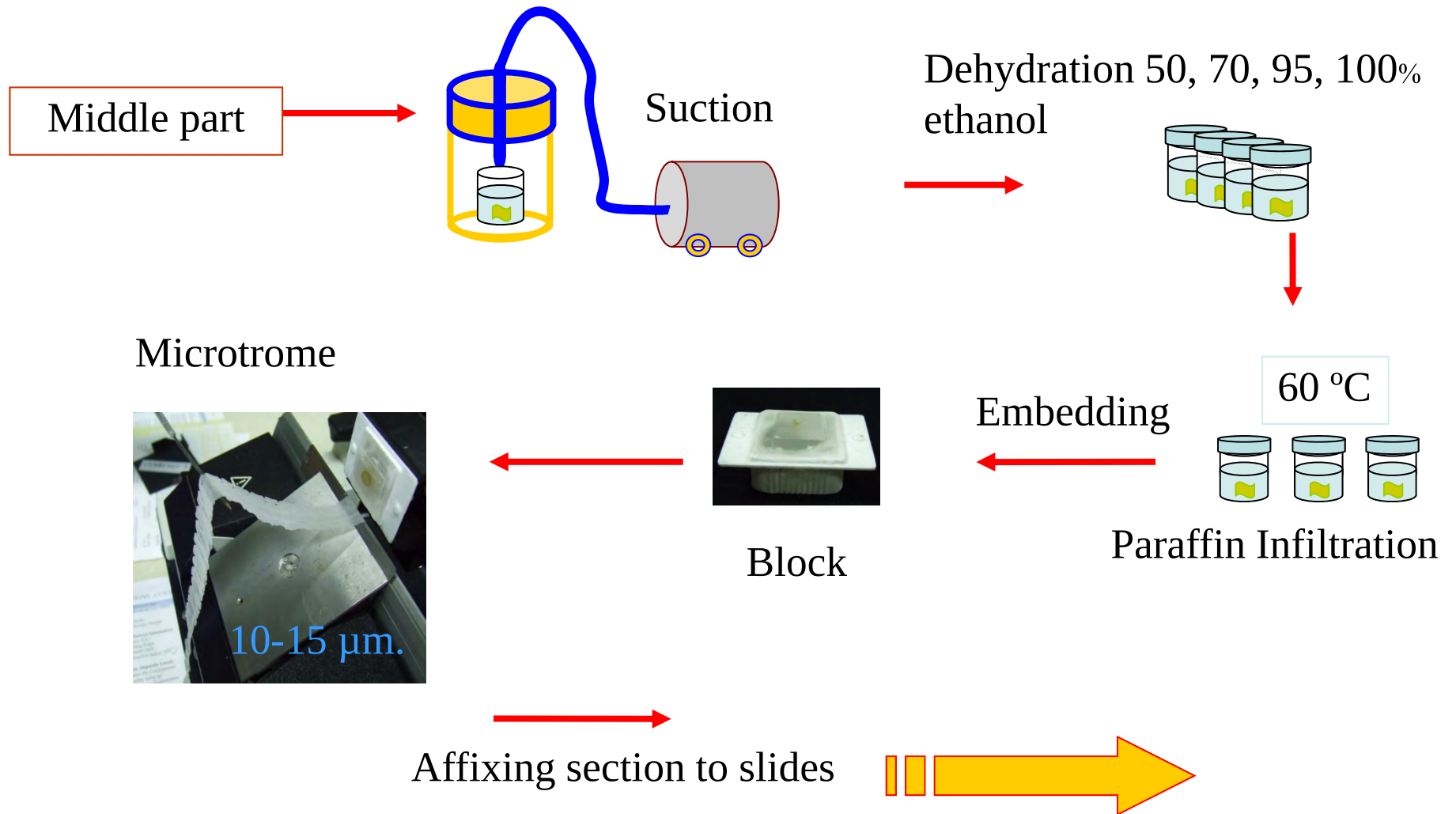
Scraping method (Johansen, 1940)



Clearing method (Johansen, 1940)



Paraffin method (Johansen, 1940)



Safranin & fast green



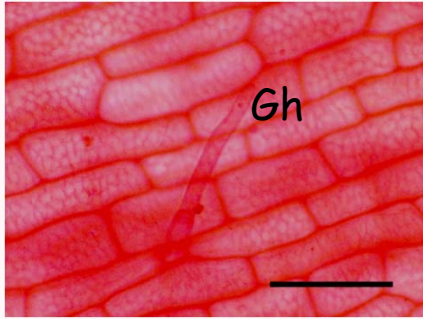
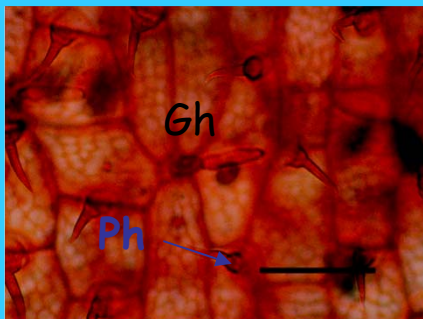
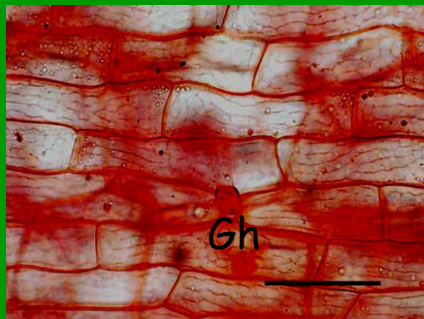
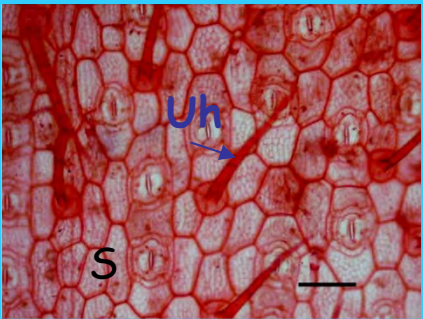
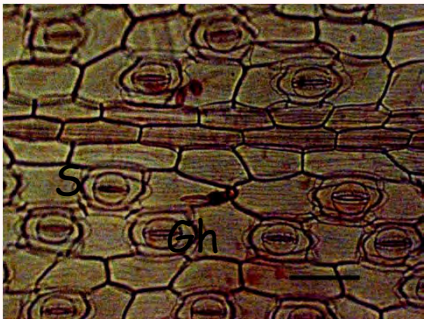
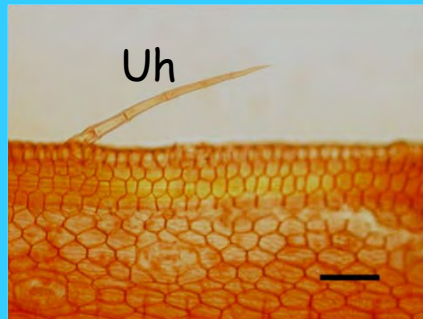
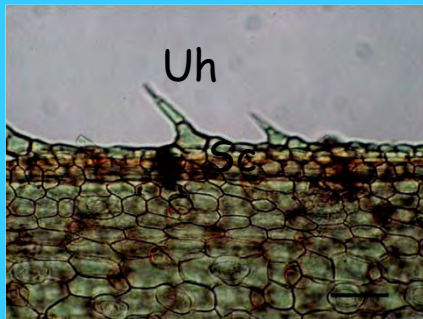
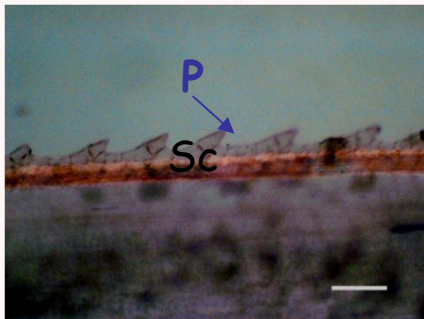
Mounting

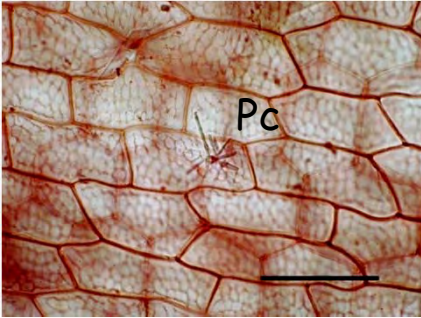
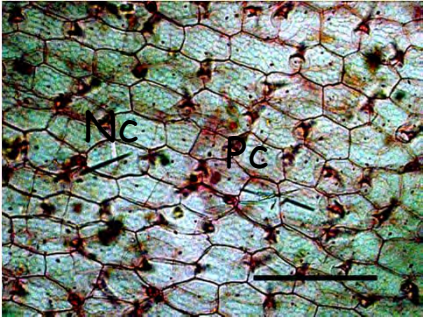
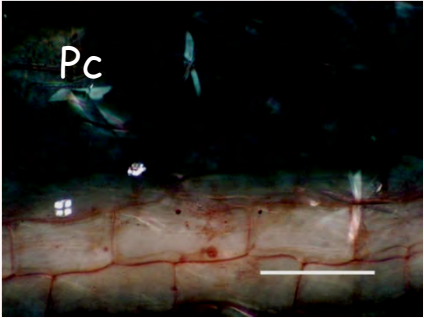
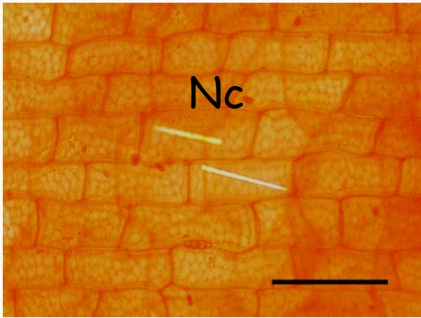
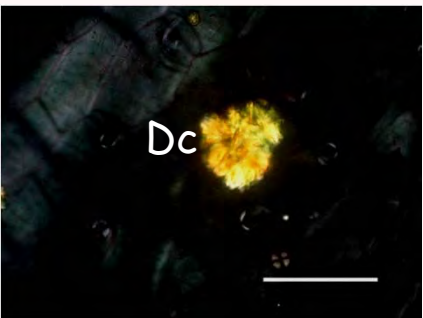
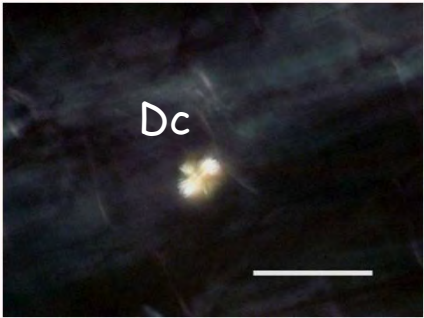
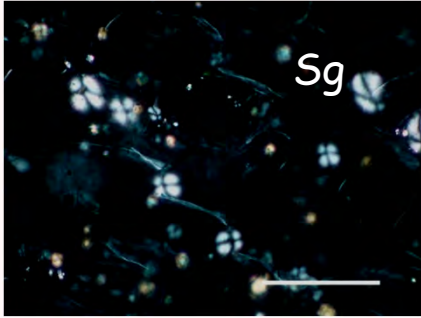
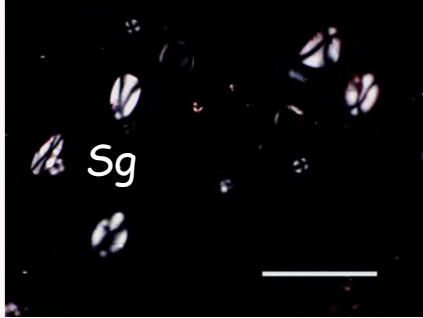
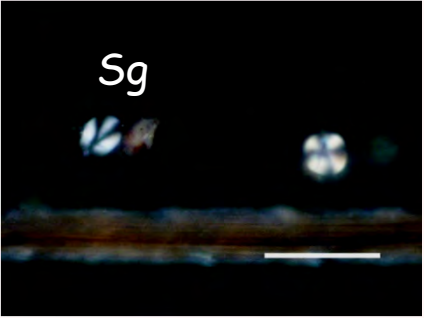


DePeX



Photograph

	<i>M. bracteata</i>	<i>M. loriformis</i>	<i>M. nudiflora</i>
Adaxial epidermis — = 100 μm			
Abaxial epidermis — = 100 μm			
Margin — = 100 μm			

	<i>M. bracteata</i>	<i>M. loriformis</i>	<i>M. nudiflora</i>
Crystal  = 100 μm			
			
Starch grain  = 100 μm			

M. bracteata

M. loriformis

M. nudiflora

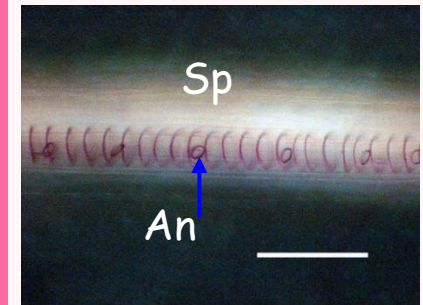
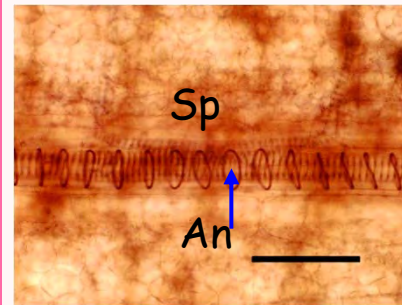
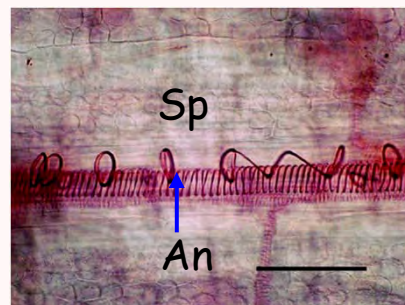
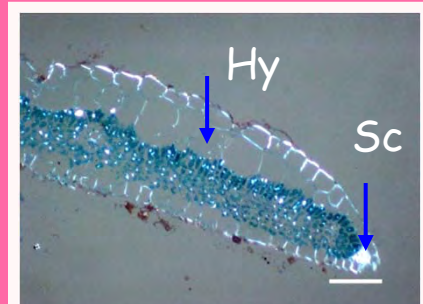
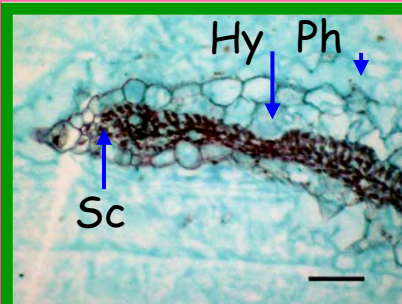
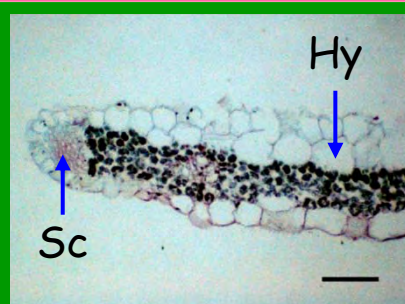
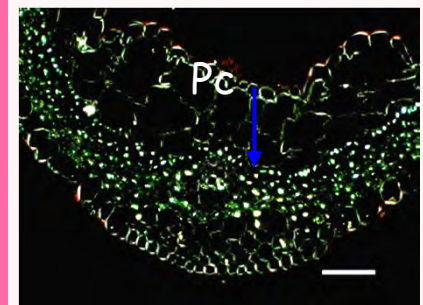
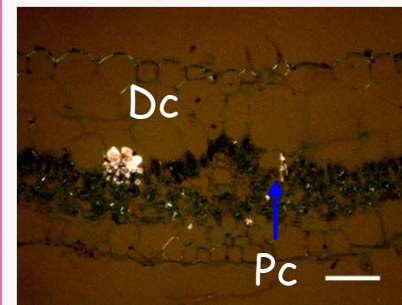
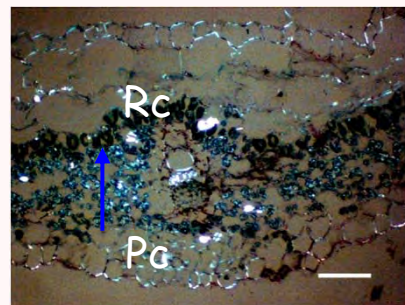
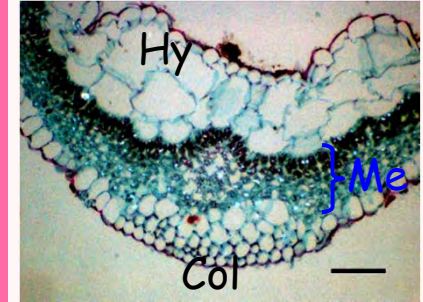
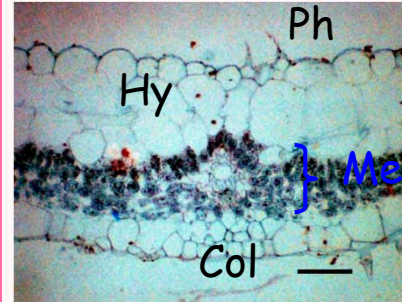
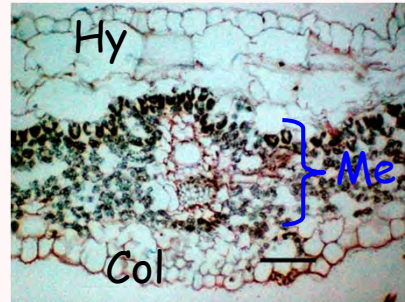
**Ground
tissue**

— = 100 μ m

— = 100 μ m

Vascular

— = 100 μ m



Discussion and conclusion

- General microscopic features are agreed with Tomlinson (1966), Faden and Inman (1996) and Thitimetharoch et al. (2004).
- Cutin patterns and presence or absence of macro-hairs and shape of leaf margin are useful for distinguishing the species.
- 2-celled prickle-hairs and druse crystals are firstly reported for the genus.

Phytochemical methods

 Physico-chemical value

 Thin-layer chromatography, TLC

Physico-chemical value

50 °C

Arial part

2-3 days



5 g of Powder



Extract by Methanol and water (2 hours)



Evaporate



Methanol



Weight



Lyophilize



Water



Filtration

Repeated 3 times

Percent yield of extraction

Parameter	M. bracteata Mean $\pm$ SD (n=3)	M. loriformis Mean $\pm$ SD (n=3)	M. nudiflora Mean $\pm$ SD (n=3)
Methanol-extract (%)	4.13 $\pm$ 0.61	4.26 $\pm$ 0.39	3.88 $\pm$ 0.92
Water-extract (%)	3.26 $\pm$ 0.49	3.38 $\pm$ 0.63	3.03 $\pm$ 0.23

Thin-layer chromatography; TLC

(Wagner and Bladt, 1984)

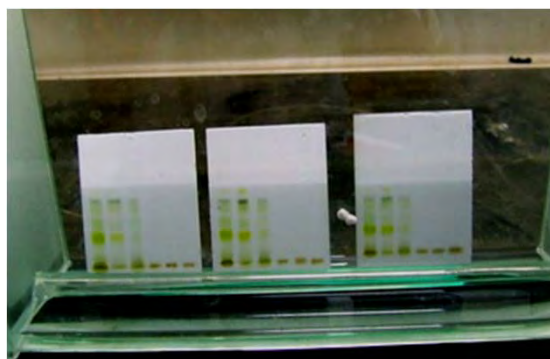
1 g of powder + 15 ml methanol
(15 min)



Using 10 μ l for
testing



TLC Tank

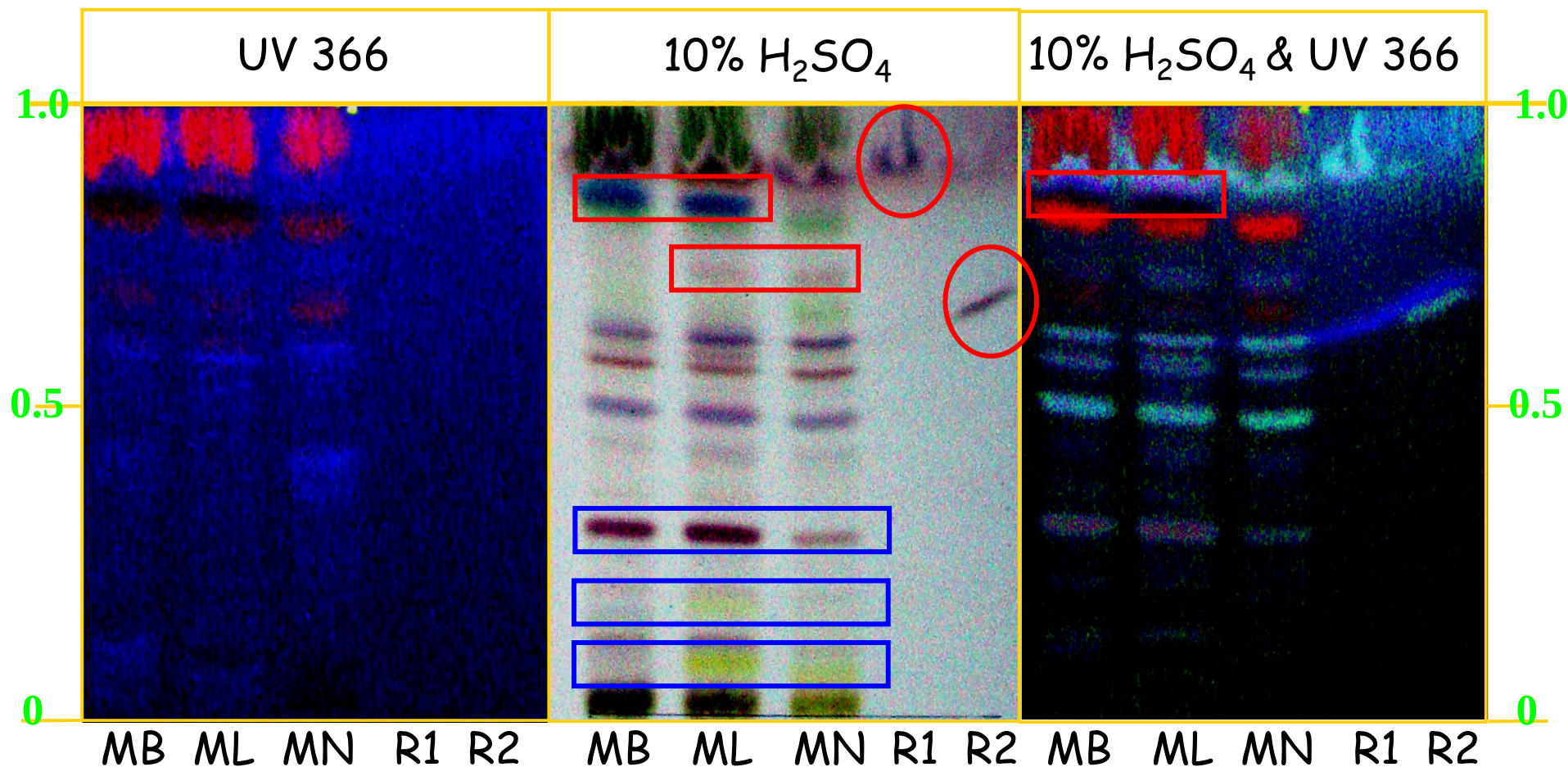


3 systems of Mobile
phase

System Solvent 1

CHCl_3 : EtAc : MeOH : Formic acid : Water

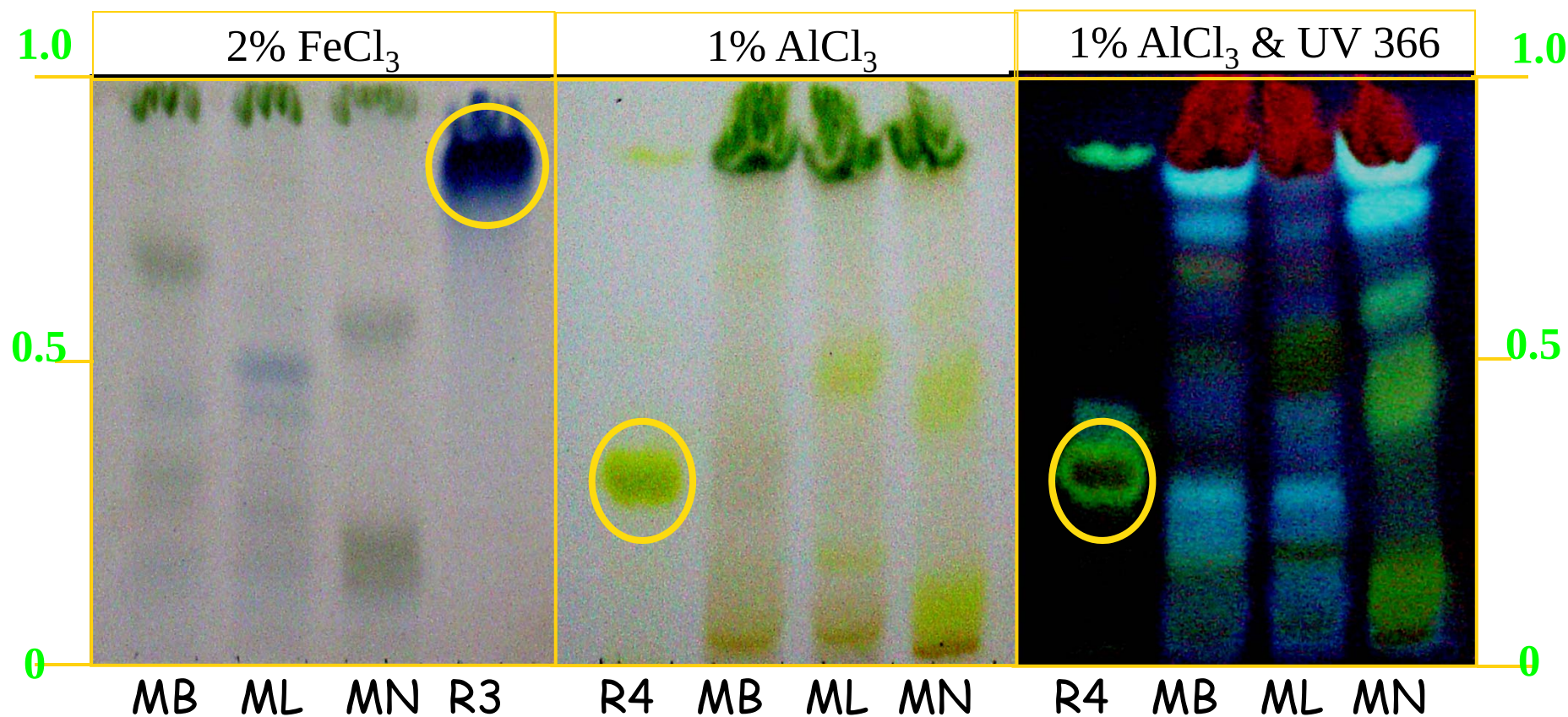
(900 : 250 : 150 : 25 : 25) Stationary phase: Silica gel F₂₅₄



System Solvent 2

EtAc : Formic acid : Acetic acid : Water

(125 : 11 : 11 : 25 : 13.5) Stationary phase: Silica gel F_{254}

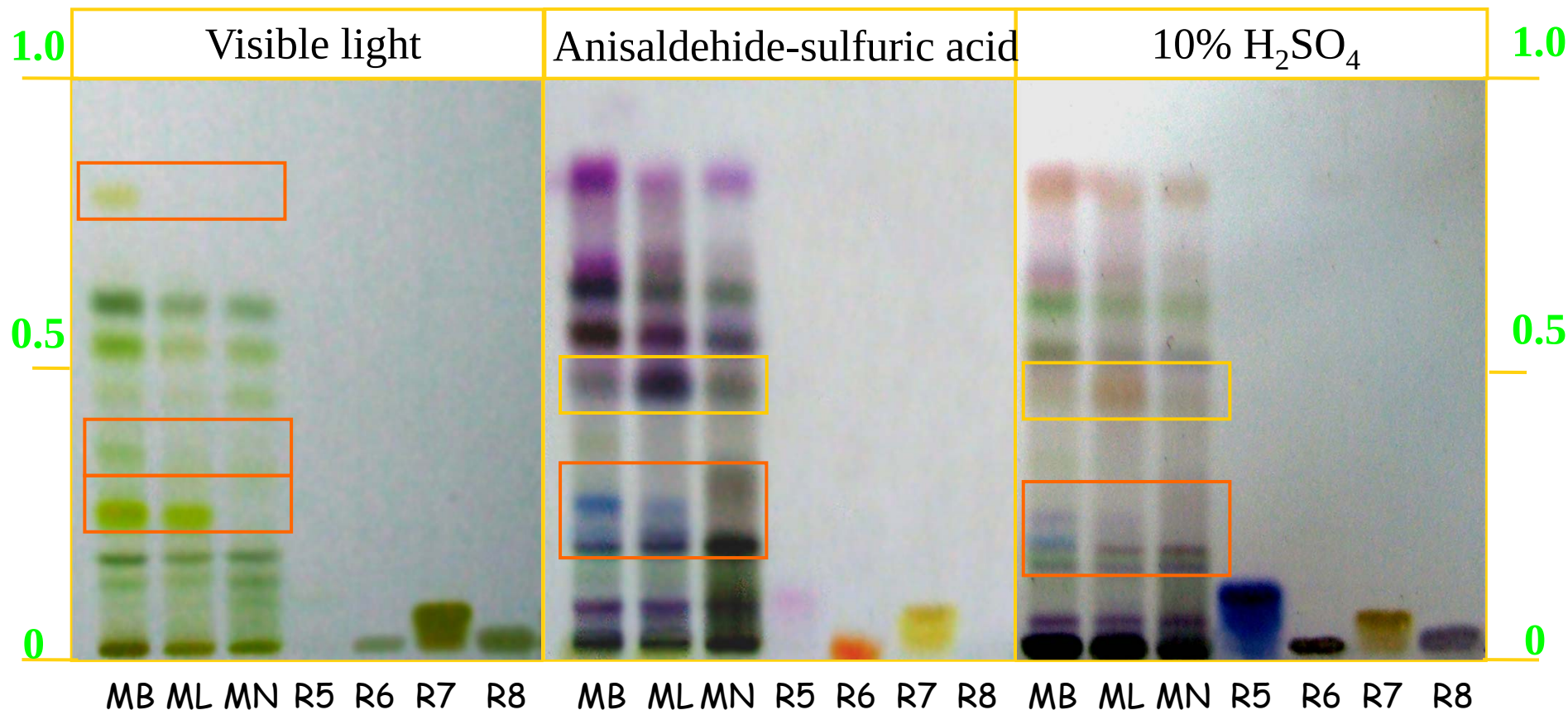


Standards : Tannic acid (R3), Rutin (R4)

System Solvent 3

Hexane : EtAc : MeOH : Acetic acid : Water

(70 : 30 : 5 : 0.5) Stationary phase: Silica gel F₂₅₄

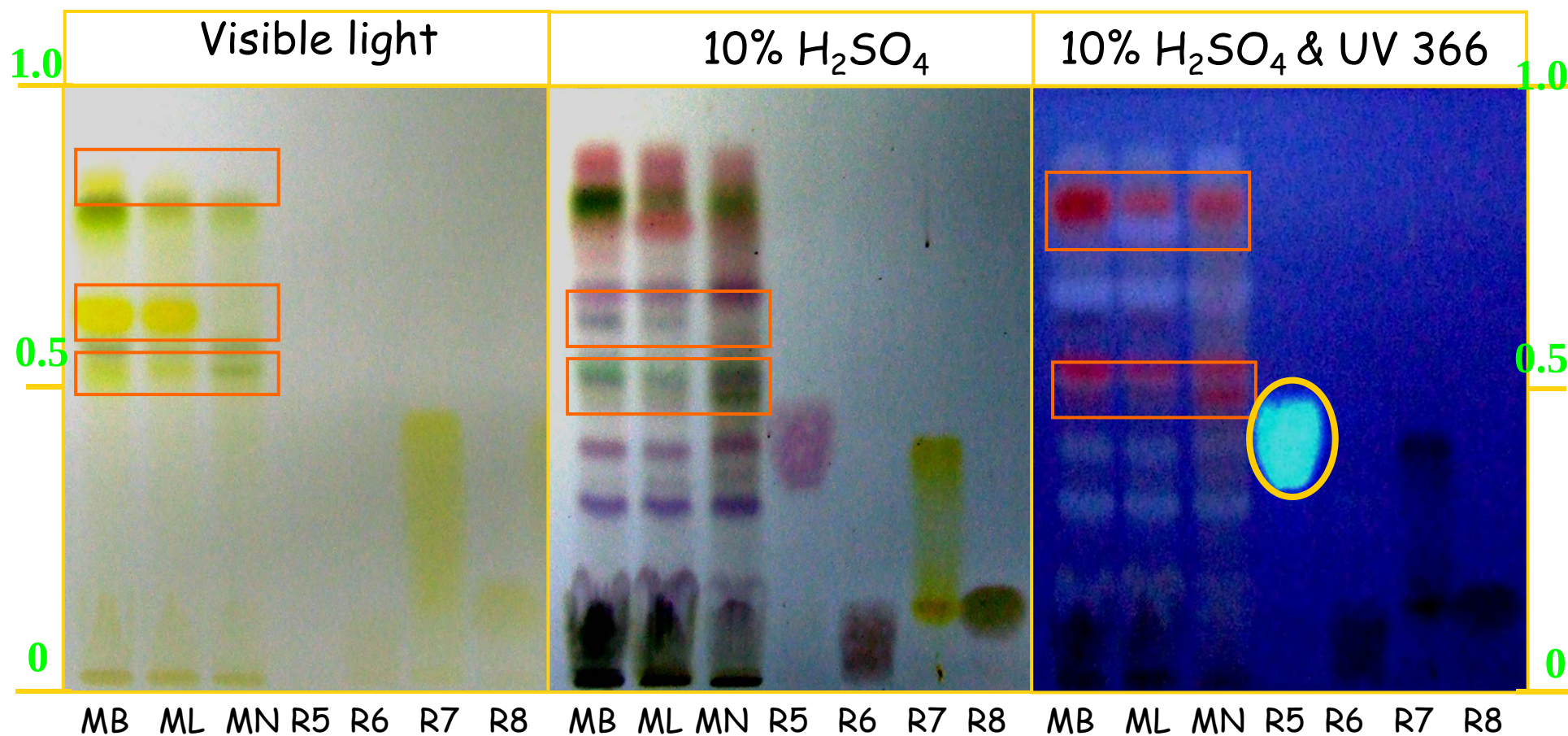


Standards : Ferulic acid (R5), (-)-epicatechin gallate (R6)
Quercitin (R7), Gallic acid (R8)

System Solvent 3

Hexane : EtAc : MeOH : Acetic acid : Water

(70 : 30 : 5 : 0.5) Stationary phase: Reverse phase (RP-18)



Standards : Ferulic acid (R5), (-)-epicatechin gallate (R6)
Quercitin (R7), Gallic acid (R8)

Discussion and conclusion

- Physico-chemical values are not obviously difference
- The results of phytochemical studies (TLC) show relationship among the species and are agreed with morphological features.
- The flavonoid chromatograms of three *Murdannia* are useful for the taxonomic value.
- The most suitable system for separating is EtAc : formic acid : acetic acid : water [125 : 11: 11 : 13.5].

Anti-oxidant activities

■ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
(DPPH assay)

■ Ferric Reducing Antioxidant Power
(FRAP assay)

■ Total phenolic contents
(Folin-Ciocalteu assay)

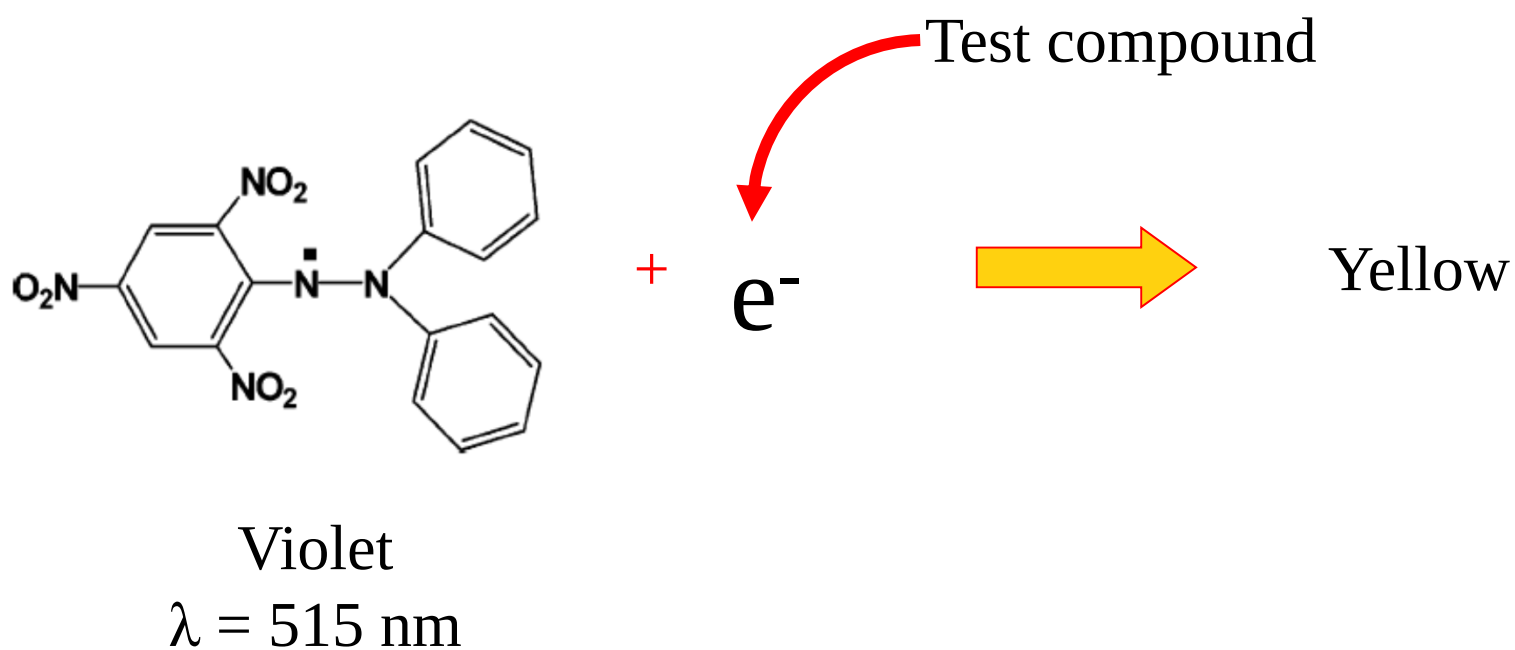
■ Thiobarbituric Acid Reactive Substance
(TBARS assay)

SET

HAT

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH assay)

Ohtake and Tagashira, 1998; Prior et al. (2005)



Add 150 μl DPPH
(6×10^{-5} M) in 96-well plate



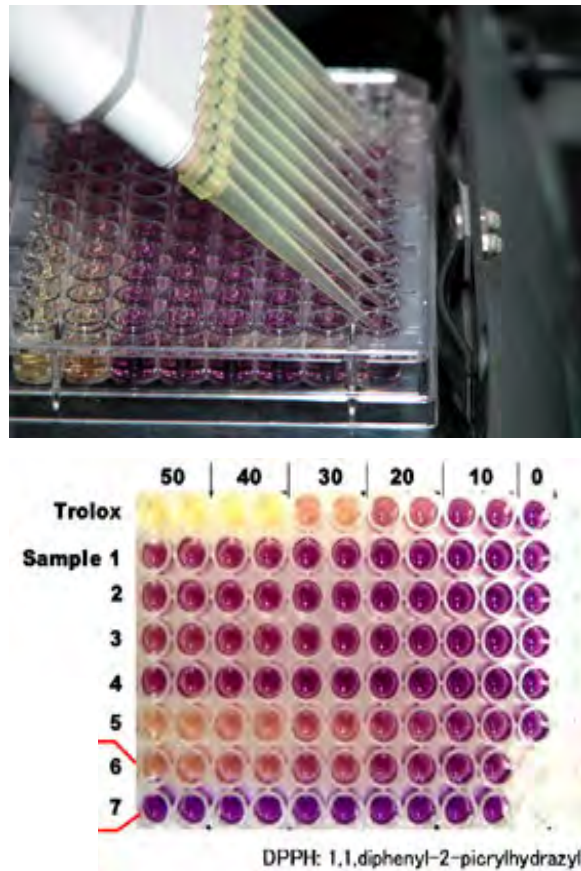
Add 50 μl sample
(Methanol, Aqueous extract)



Incubated at room temperature for 20
min in darkness

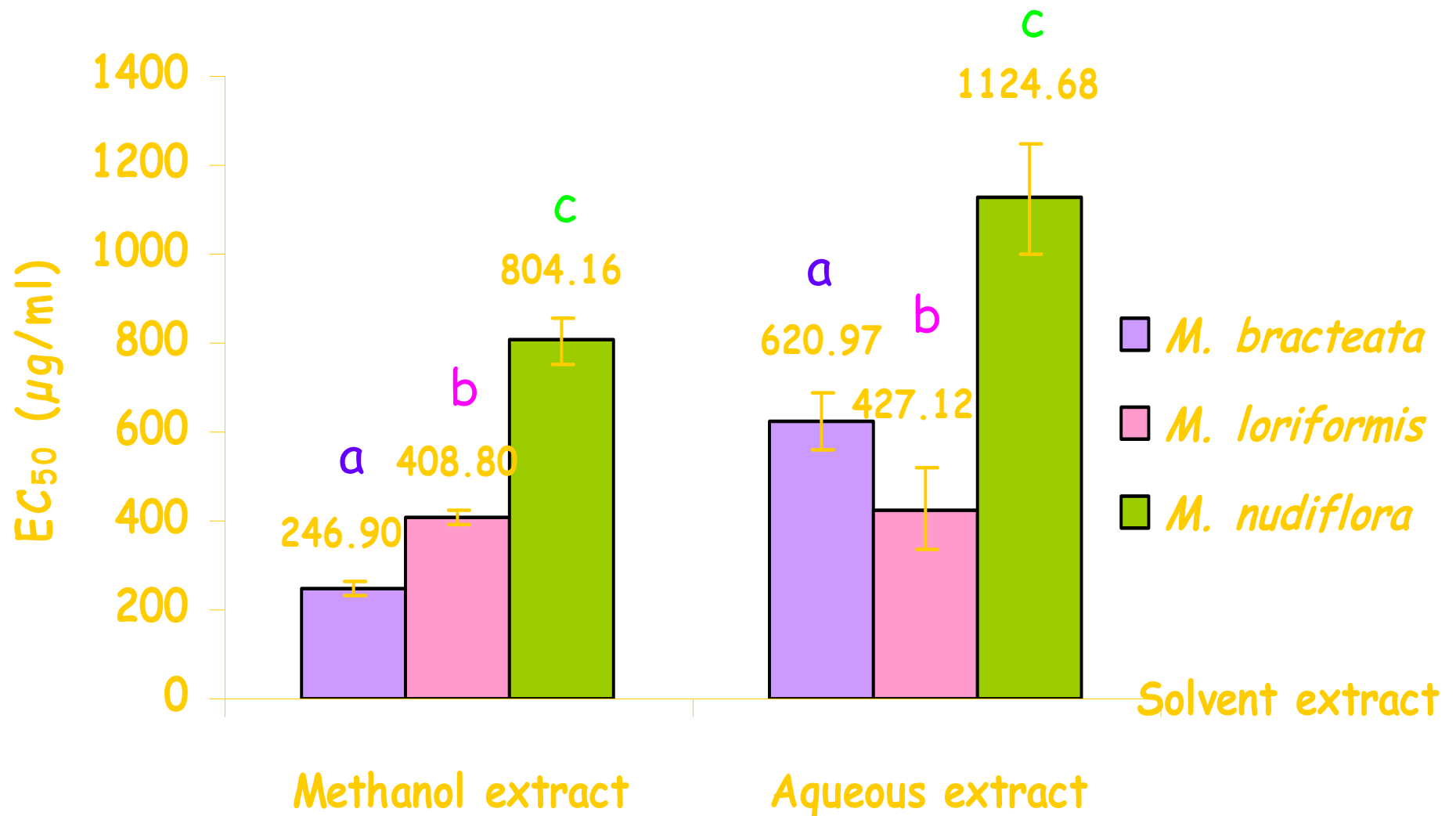


The absorbance was measured at $\lambda=490$
nm using a microplate reader



Use Trolox for standard
Anti-oxidant

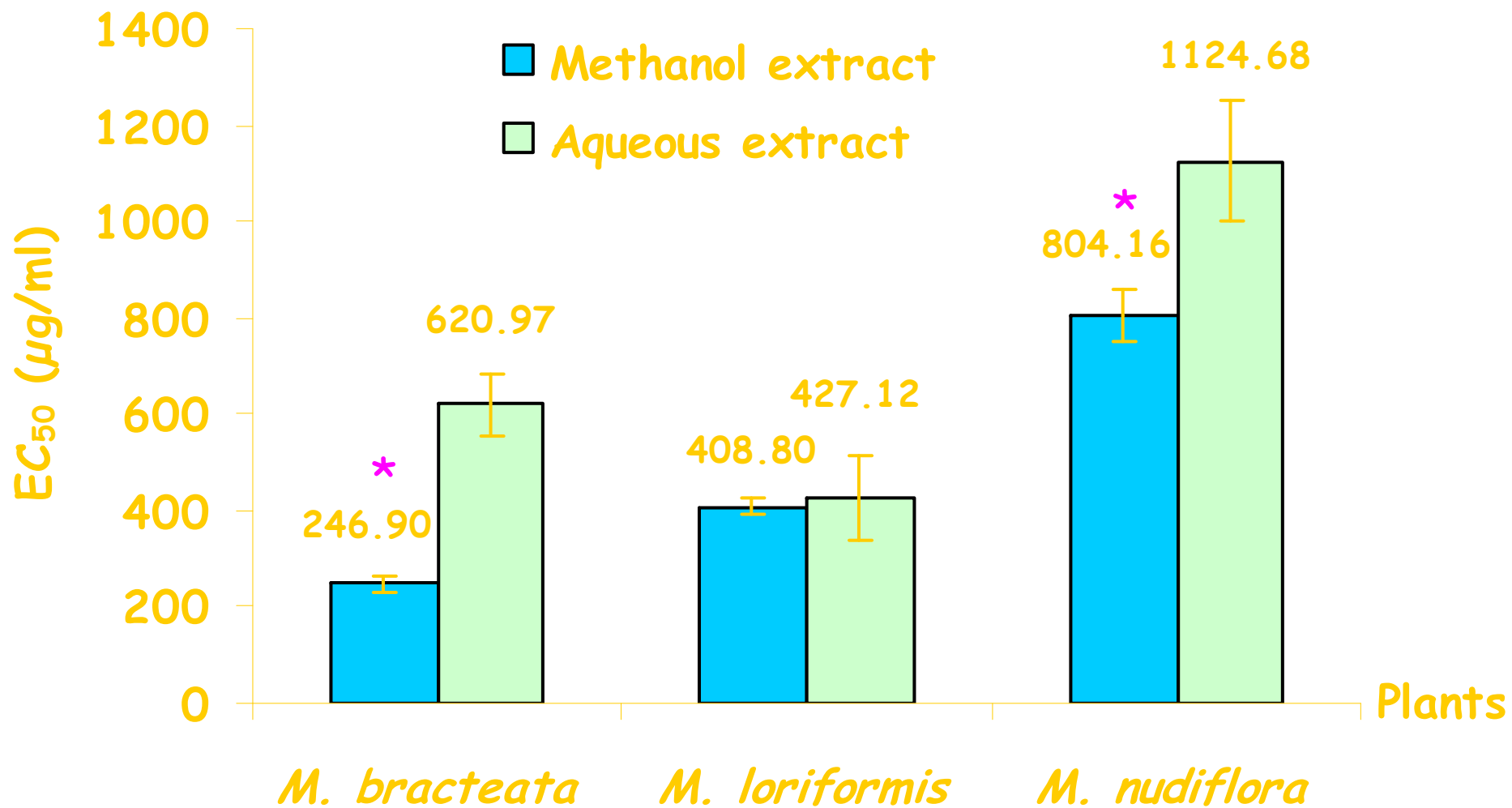
Modify from Li et al. (2005)



^a*M. bracteata* difference from *M. loriformis* and *M. nudiflora* ($p\text{-value} < 0.05$)

^b*M. loriformis* difference from *M. bracteata* and *M. nudiflora* ($p\text{-value} < 0.05$)

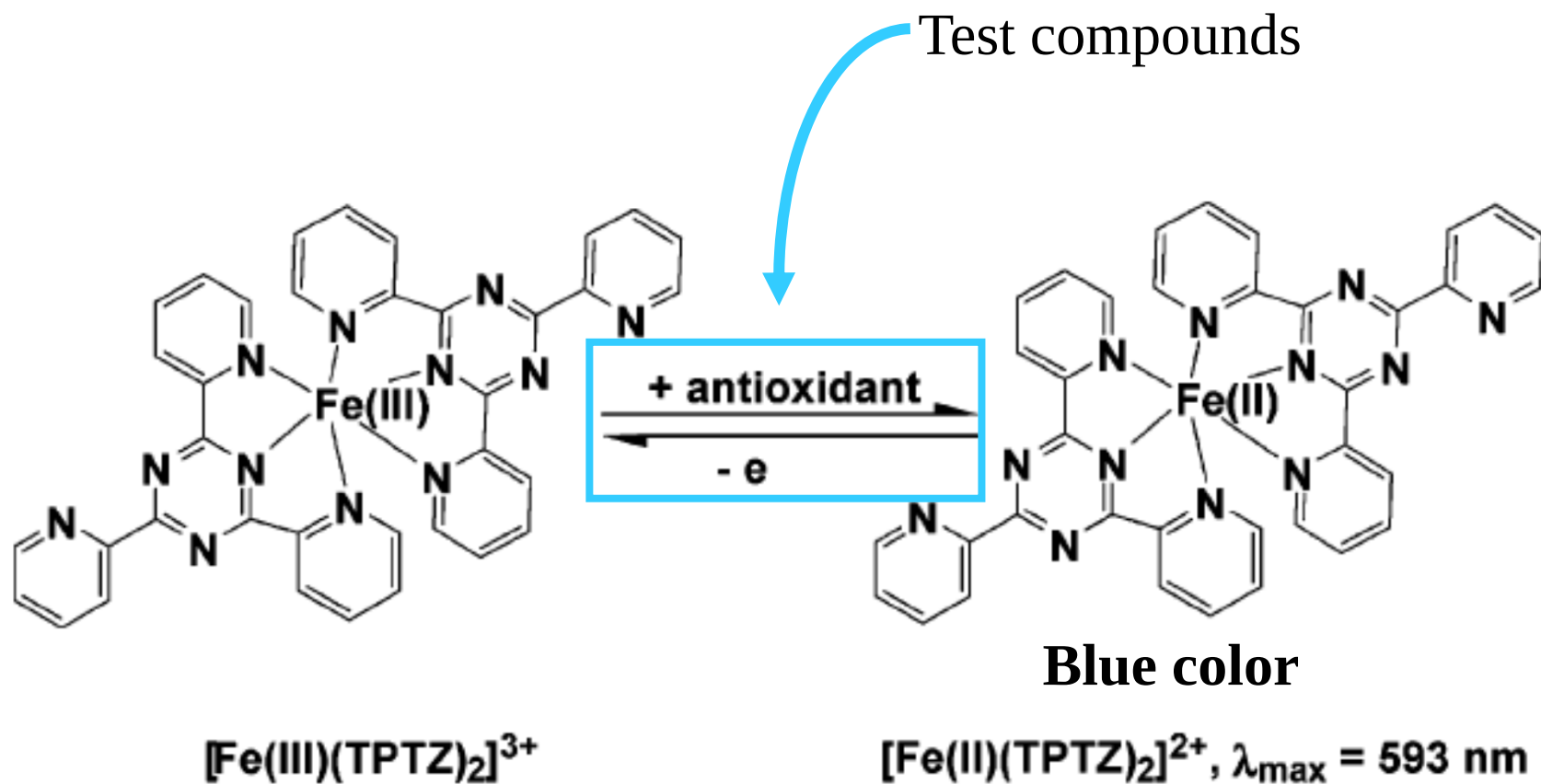
^c*M. nudiflora* difference from *M. bracteata* and *M. loriformis* ($p\text{-value} < 0.05$)

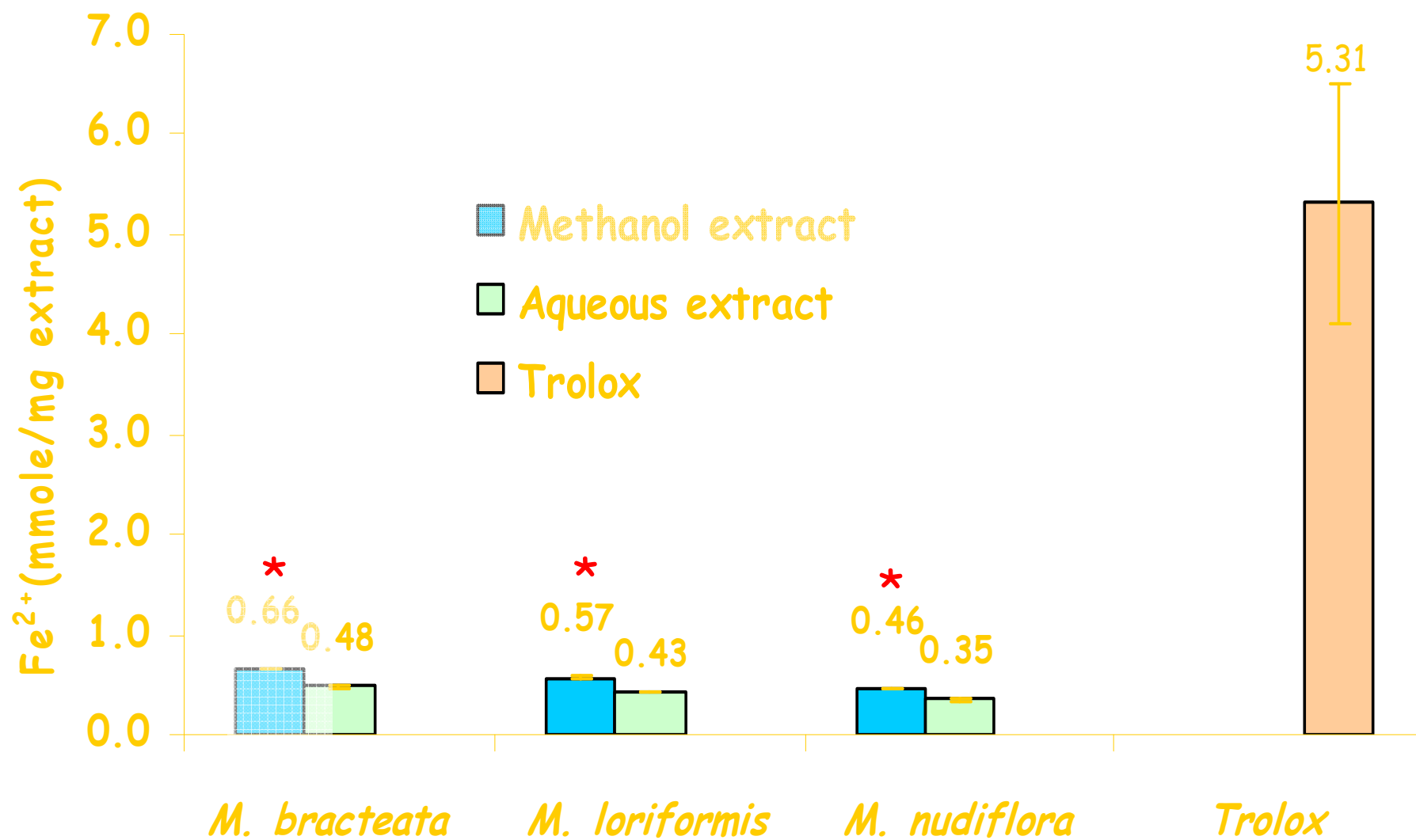


* Significant at p -value < 0.05

Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay)

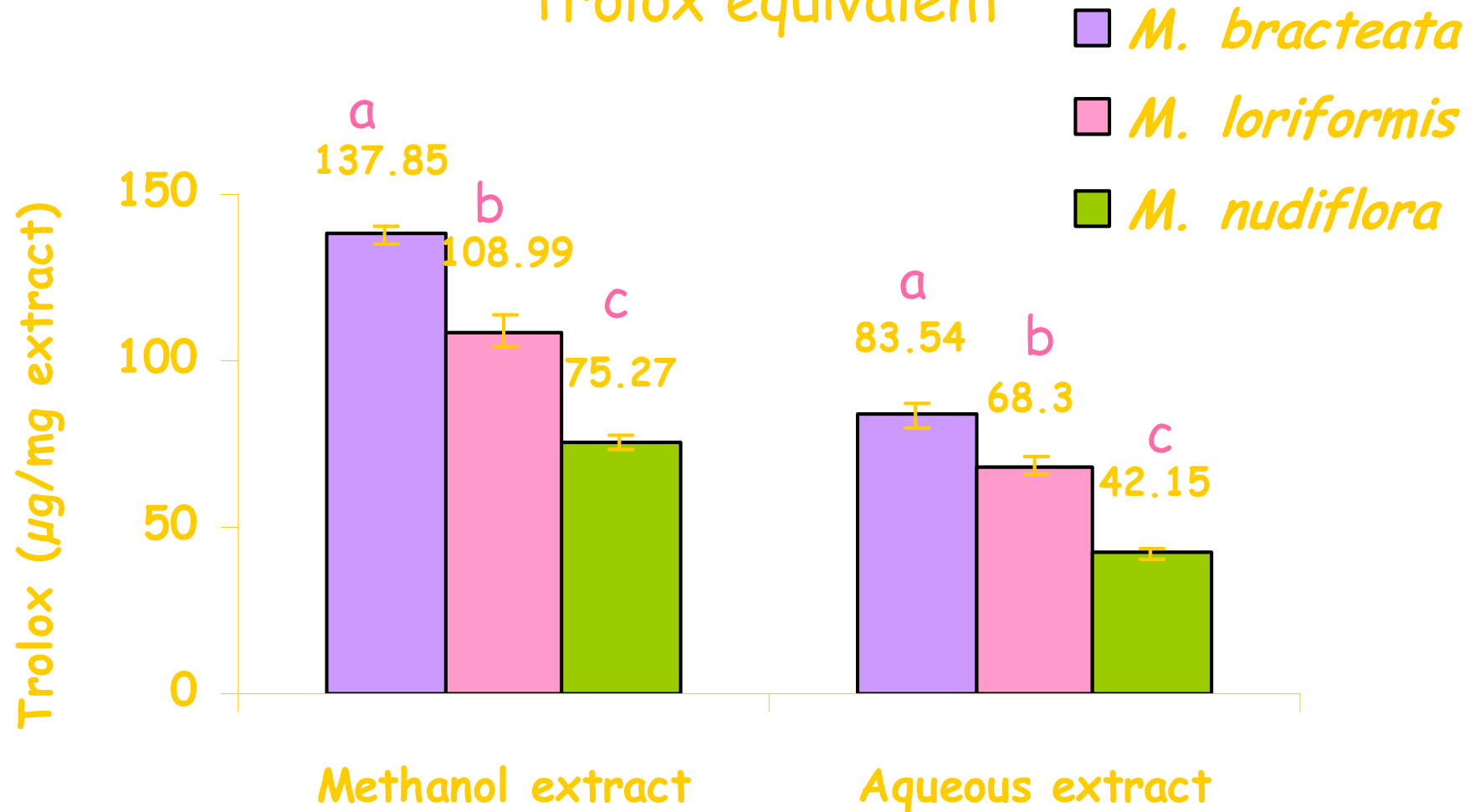
Benzie and Strain (1996); Huang et al. (2005)





* Significant at p -value < 0.05

Trolox equivalent



^a*M. bracteata* difference from *M. loriformis* and *M. nudiflora* (p -value<0.05)

^b*M. loriformis* difference from *M. bracteata* and *M. nudiflora* (p -value<0.05)

^c*M. nudiflora* difference from *M. bracteata* and *M. loriformis* (p -value<0.05)

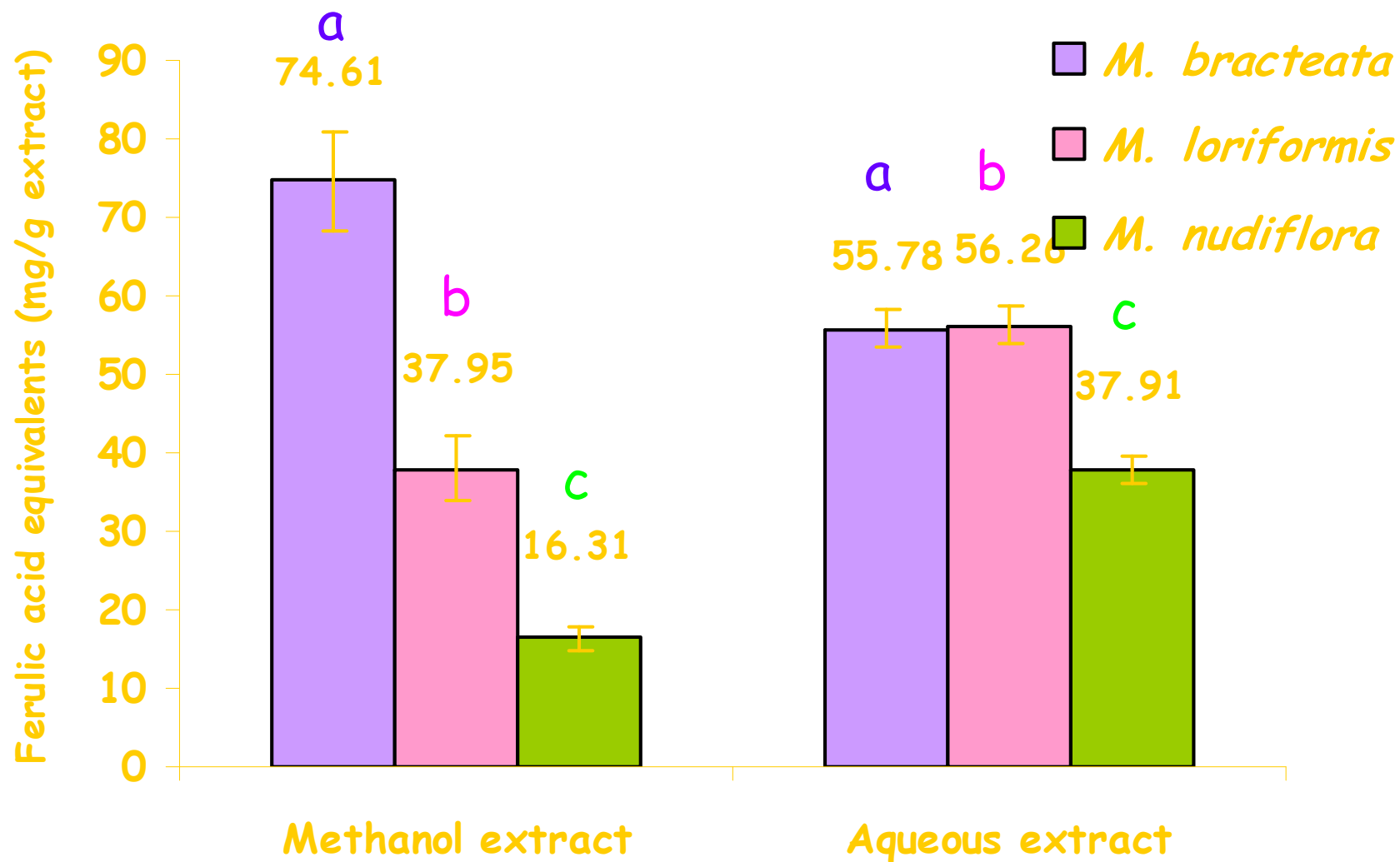
Total Phenolic Contents (Folin-Ciocalteu assay)

Folin, (1927); Singleton and Rossi, (1965)



Phenolic compound

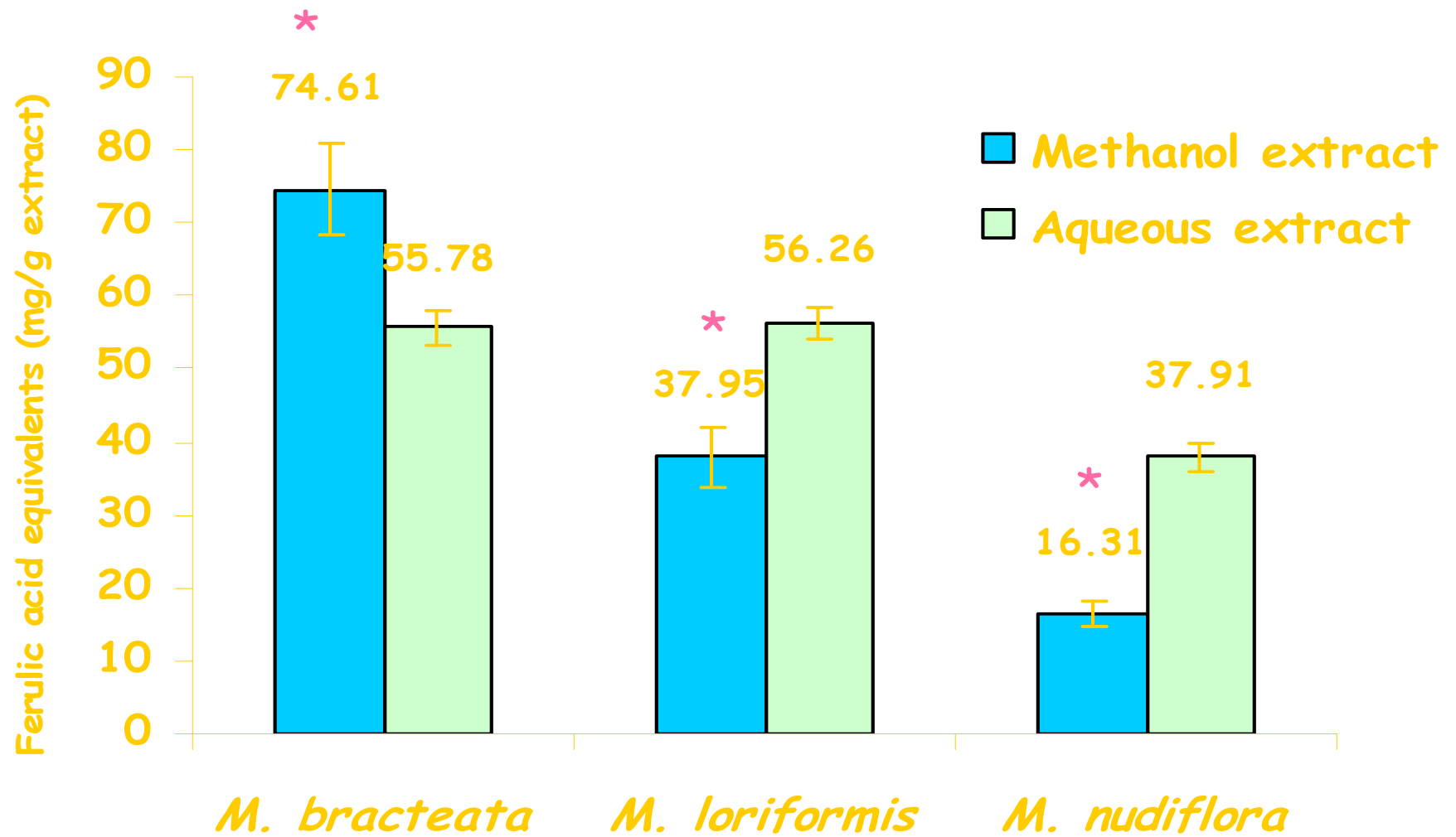
$\lambda = 725 \text{ nm}$



^a*M. bracteata* difference from *M. loriformis* and *M. nudiflora* (p -value <0.05)

^b*M. loriformis* difference from *M. bracteata* and *M. nudiflora* (p -value <0.05)

^c*M. nudiflora* difference from *M. bracteata* and *M. loriformis* (p -value <0.05)



* Significant at p -value < 0.05

Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS assay)

Mahakunakorn et al. (2004); Buege and Aust. (1978)

Inhibition of lipid peroxidation in rat brain homogenate

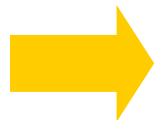
0.5 ml brain tissue homogenate
+ 0.9 ml phosphate buffer (50mM, pH 7.4)
+ 0.5 ml [0.01mM FeSO₄ + 0.1mM ascorbic acid]
+ 0.1 ml of vehicle or test compounds



Incubated of mixture at 37 °C for 30 min



The reaction was terminated on ice by adding 0.5 ml of 35% (v/v) perchloric acid to the mixture



The mixture
centrifugation
at 3000*g* for 15 min



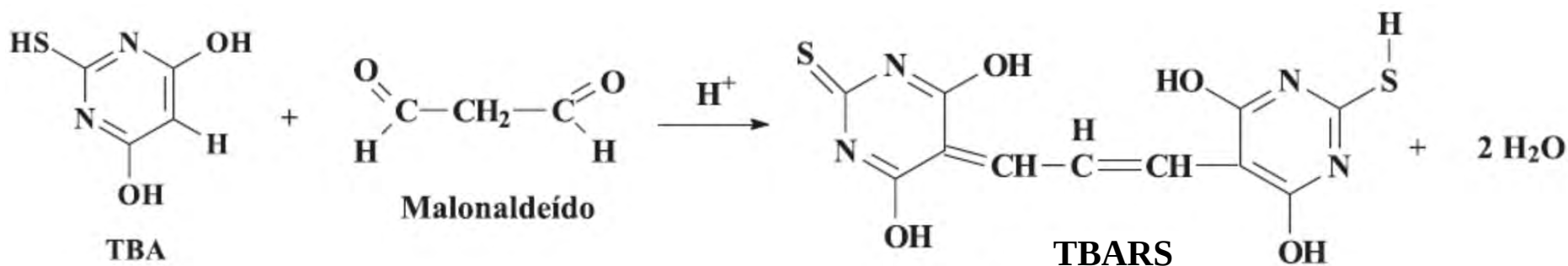
The supernatant was incubated with 0.5
ml of 0.6% thiobarbituric acid at 100 °C
for 60 min



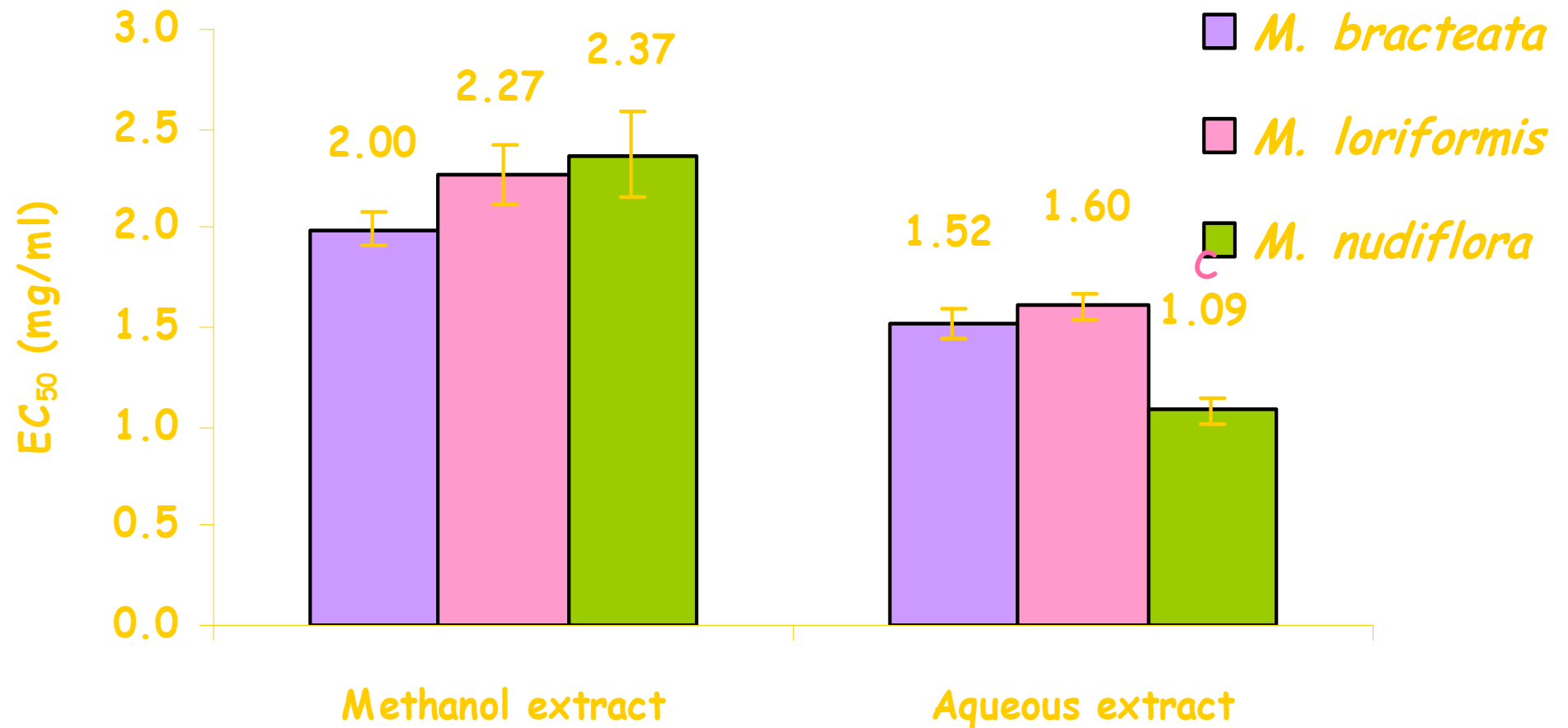
Using trolox for positive
control Methanol and water
for blank



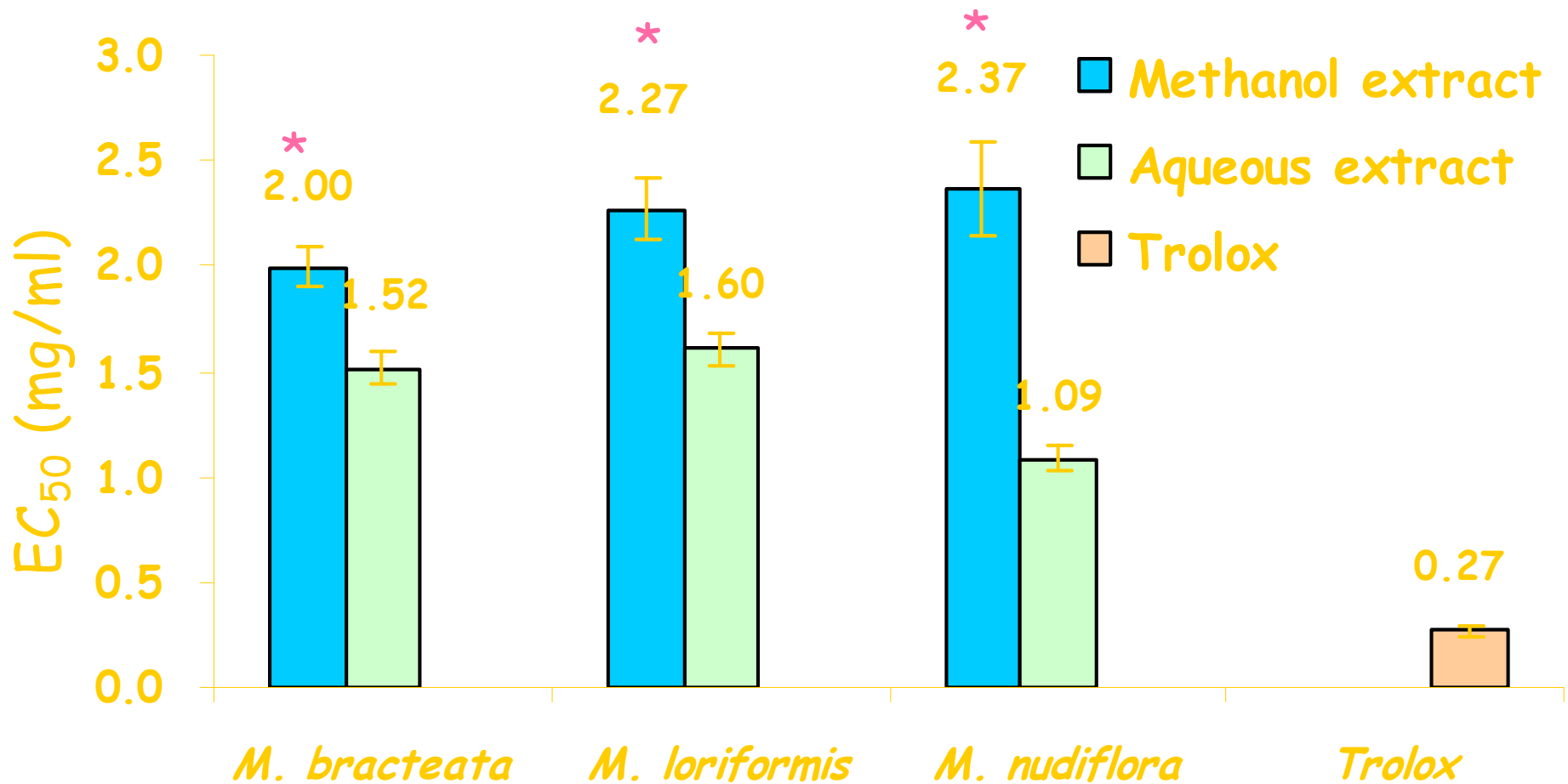
After a cooling period, The
absorbance of TBARS was
measured at $\lambda=532$ nm using a
microplate reader



$$\% \text{ Inhibition} = [(\text{OD}_{\text{Blank}} - \text{OD}_{\text{Test}}) / \text{OD}_{\text{Blank}}] * 100$$



^c*M. nudiflora* difference from *M. bracteata* and *M. loriformis* (p -value <0.05)



* Significant at p -value < 0.05

Discussion and conclusion

- The methanol extract of *M. bracteata* is shown the best of potential antioxidant activity in SET mechanism, whereas the aqueous extract of *M. nudiflora* is in HAT mechanism.
- The activities are varied in each species with the differences.

Acknowledgments



- Facilities: Center for Research and Development of Herbal Health Products (CRD-HHP), Fac. Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University
- Thai and other Herbaria (BK, BKF, CMU, KKU, K, US)
- Financial supports:
KKU Graduate School: GS-KKU 49111118
Thailand Research Fund (**TRF-MRG-5080006**)

Murdannia discreta (Commelinaceae): Recognizing and Understanding a Rare Species in Thailand



Thaweesak Thitimetharoch*
Woraporn Putalun *
Robert B. Faden**

- * Department of Pharmaceutical Sciences,
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Thailand.
** Department of Botany, Smithsonian Institution, Washington, DC, U.S.A.

Murdannia Royle (1839)

Perennial or annual herbs.

Roots thin or thick sometimes tuberous.

Leaves spirally arranged or distichous, lamina sessile.

Inflorescences terminal and/or axillary thyrses, or variously reduced.

Flowers bisexual, actinomorphic or zygomorphic, pedicellate.

Sepals free, sepaline or colored. **Petals** free, not clawed, petaline.

Stamens 6, dimorphic, filaments generally free, glabrous or bearded;

Fertile stamens (2-) 3, antesealous;

Staminodes 3 (-4), antepetalous (if 4, then one, antesealous, anterior, with a minute antherodes or lacking, filaments shorter than the stamens, anthers basifixed, trilobed or hastate.

Capsules (bi-) trilocular, (bi-) trivalved, locule 1-many-seeded.

Seeds uniseriate or biseriate, embryotega circular, dorsal to sublateral, hilum ellipsoid to linear, mid-ventral or subbasal-ventral.



Genus *Murdannia*

- **Faden, R.B.** (1998) : about 50 species, pan tropical and warm temperate, mainly in Asia.
- **Hooker, J.D.** (1892)
India : ca. 30 species
- **Cherfils, H.** (1937)
Indo-China : 20 species
- **Hong & DeFilipps** (2000)
China : 20 species (6 endemic spp.)

Thitimetharoch and et al. (2004)

=> *Murdannia* 14 species were recorded for the Flora.

1. *Murdannia clandestina*
2. *Murdannia divergens*
3. *Murdannia edulis* (<= *Aneilema discreta*)
4. *Murdannia gigantea*
5. *Murdannia japonica*
6. *Murdannia loriformis*
7. *Murdannia macrocarpa*
8. *Murdannia medica*
9. *Murdannia nudiflora*
10. *Murdannia pauciflora*
11. *Murdannia spectabilis*
12. *Murdannia spirata*
13. *Murdannia vaginata*
14. *Murdannia* sp.

***Aneilema discretum* Craib (1912)**
Kew Bull.

(=> 2 fertile stamens ?)

A.F.G. Kerr 1909 (K!, holotype)
Doi Suthep-Pui, Chiang Mai
18 July 1911



It was not recollected for more than half a century.

Kerr 1909 (K!), Doi Suthep-Pui, Chiang Mai, 1911

Sakol 208 (BK), **Surin, 1965**

G. Murata et al. T-37666 (BKF & KYO), **Sangkha, Surin, 1984**

H. Takahashi T-63236 (KYO), **Phu Kradung, Loei, 1988**

P. Chantaranothai et al. 704 (KKU), **Phu Pan NP, Sakon Nakhon, 1997**

Martin Greijmans 78 (BKF& CMU), **Khong Chium, Ubon Ratchathani, 2001**

Despite more than a dozen collections since the mid-1980's, recognition of *A. discretum* as a distinct species of *Murdannia* has remained in doubt.



Wan Kai Jae Lek (ว่านไก่แจ้เล็ก)

Thitimetharoch, T. & Yongvanit, S. (2007) => anti-inflammatory



Pale violet flowers !

***Thitimetharoch* T. 604 (BKF, KKU), 30 May 2005 & 741 (BKF, US), 28 July 2007, Ubon Ratchathani (Kong Chium).**



Dr. Robert B. Faden
9 September 2007
Doi Suthep-Pui,
Chiang Mai

An exact flower opening time : 1640h.



Thaweesak T. & R.B. Faden 766 (BKF, K, KKU, US),
Chiang Mai, Doi Suthep-Pui (type locality), 9 September 2007

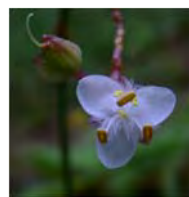
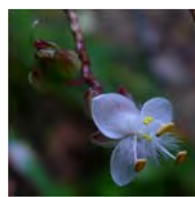
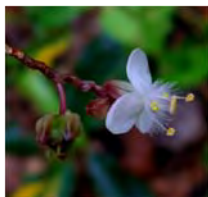


Thailand.— NORTHERN, NORTH-EASTERN, EASTERN
Distribution.— Thailand **and Cambodia (new record).**

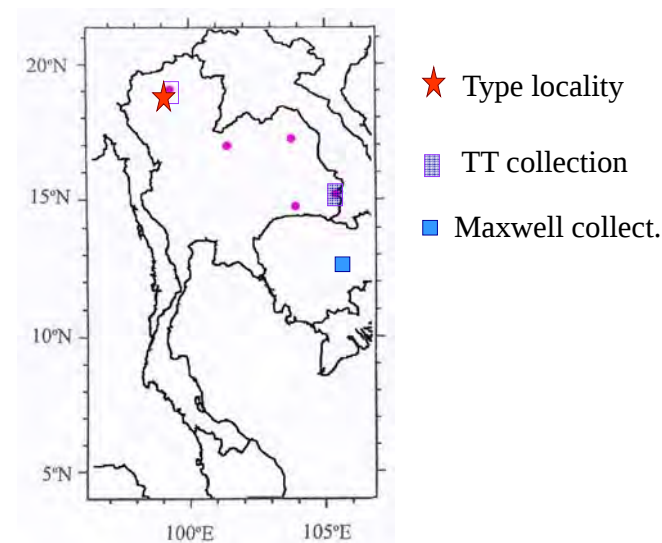
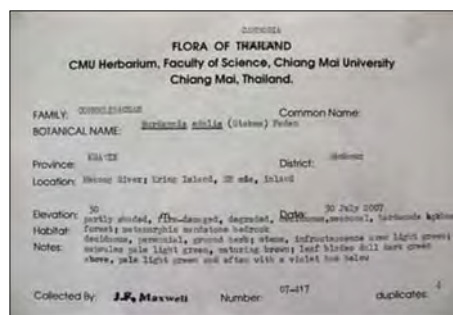
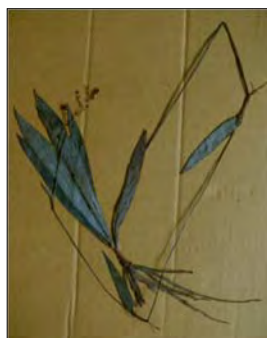
Ecology.— Seasonal swampy soils in deciduous forest,
alt. 30-150-550 m [Cambodia (Kratie) Ubon Ratchathani
(Kong Chium) to Loei (Phu Kra Dung)]

Flowering from June to November,
Flower opening time from late afternoon to evening.

Vernacular.— **Wan Kai Jae Lek** (ว่านไก่แจ้เล็ก) Ubon Ratchathani
(Kong Chium)



J.F. Maxwell 07-417 (CMU): Cambodia, Kratie, Sambour, Kring Island (Mekong River), Ca. 30 m., 30 July 2007



Distribution of **Murdannia discreta**

Murdannia edulis (Stokes) Faden

in Taxon. 29(1): 77. 1980.



Wan khaow niao (ว่านข้าวเหนียว)



Thailand.— NORTHERN, NORTH-EASTERN, EASTERN, SOUTH-WESTERN.

Distribution.— India, Nepal, Bhutan, Bangladesh, China, Taiwan, Myanmar, Thailand, Indo-China, Indonesia (Java), Timor, New Guinea, Philippines.

Ecology.— Seasonal swampy soils in deciduous or oak-pine forests, alt. 40-1,300 m; flowering from January to March, Flower opening time from from late afternoon to evening.

Vernacular.— Dode (โด่ด) (Phu Wiang – Khon Kaen); **Wan khaow niao** (ว่านข้าวเหนียว) (Ban Chum Saeng – Nakhon Ratchasima).

Murdannia japonica (Thunb.) Faden

in Taxon. 26(1): 142. 1977

Kot tung na (โกฐทุ่งนา)



Thailand.— Throughout the country.
Distribution.— India, China (Tonkin), Thailand, Indo-China, Malaysia, Java.

Ecology.— In lowland evergreen forest, exposed areas in gallery forest, wet places in deciduous or bamboo forests, alt. 50-1,000 m; flowering from May to August, Flower opening time from late afternoon to evening.

Vernacular.— **Kot tung na (โกฐทุ่งนา)** (General); Phak plap doi (ผักปลาบดอย) (Doi Chiang Dao-Chiang Mai); Wahn dong ling (หวานดองลิง) (Hin Dat-Kanchanaburi); Ya khing ling (หญ้าขิงลิง) (Nakhon Sawan).

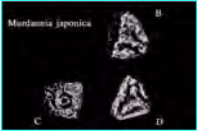
Comparisons of some morphological characters among Murdannia discreta, M. edulis and M. japonica

Character	M. discreta	M. edulis	M. japonica
Distal tubers	Present	Present	Absent
Leaves	Glabrous / rarely Pubescent, with a line of pubescence along the margin above (rarely below or covering the entire lower surface)	Glabrous / Pubescent, with a line of pubescence along the margin above (rarely below or covering the entire lower surface)	Glabrous
Flowering shoots	with ca. 6 lamina sheaths and a few bladeless sheaths on both the uppermost and the lower most in spiral arrangement	with bladeless sheaths in spiral arrangement	with several well-developed lamina sheaths in districhous arrangement and congested at the top

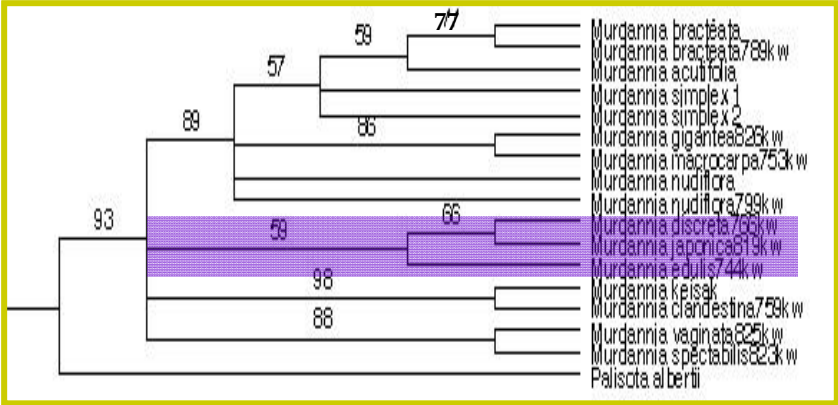
Cont.

Character	M. discreta	M. edulis	M. japonica
Flowers	White / pale violet	Pinkish purple / Violet blue / Rarely white	White / Rarely Pinkish purple
Anthers	Yellow	Cream-colored	Variable, Cream-colored, Yellowish orange / Violet-gray
Filaments of Fertile stamens	6-7 mm long	3.5-4 mm long	3.5-5 mm long
Capsules	Subovoid, 6-7 x 5-6 mm	Oblong-ellipsoid, 5-7 x 3.5-4 mm	Subovoid, 5-7 x 4-5 mm,

Cont.

Character	M. discreta	M. edulis	M. japonica
Seeds	?	Ca. 2 x 1.5 mm (terminal seeds) , Ca. 1 x 1.5-2 mm (medial seeds) Testa obscurely pitted all over; <u>embryotega</u> <u>subdorsal</u>	Ca. 2.5 x 2 mm (terminal seeds) , Ca. 1.5-2 x 1.5-2 mm (medial seeds) Testa finely radiately reticulate and spinulose-warty from <u>Mid-dorsal embryotega</u>
			
Flowering time	Rainy season	Winter	Rainy season

DNA ANALYSIS
Mal. seeds, trnL-F, At103
ML bootstrap consensus tree



Wurdack et al. (unpublished)



“The **Murdannia edulis** Species Group”

Perennials with basal rosettes of broad leaves, roots thick or tuberous, flowering shoots axillary from the rosette leaves, inflorescences panicle-like thyrses, bracteoles perfoliate, and sepals with three longitudinal ribs

- **Murdannia discreta**
- **Murdannia edulis**
- **Murdannia japonica**

KEY TO THE SPECIES

“**Murdannia edulis** Species Group”

Perennials with basal rosettes of broad leaves, roots thick or tuberous, flowering shoots axillary from the rosette leaves, inflorescences panicle-like thyrses, some bracteoles perfoliate, and sepals with three longitudinal ribs

1. Flowering shoots lacking well-developed leaves **M. edulis**
1. Flowering shoots with well-developed leaves
 2. Leaves with a line of pubescence along the margin above **M. discreta**
 2. Leaves glabrous **M. japonica**

Conclusions

- **Murdannia discreta** is a distinct species that resembles **M. japonica** and **M. edulis**.
- **M. discreta** is a rare or uncommon species.
- **M. discreta** is newly reported from Cambodia.
- New characters for **M. discreta** are reported:
 - a. the presence of root tubers
 - b. the presence of 3 instead of 2 fertile stamens
 - c. A new flower color (pale violet)
 - d. An exact flower opening time : 1640h.

Bibliographies

1. Craib, W.G. 1912. Contributions to the Flora of Siam (Miscellaneous Information). **Kew Bulletin**. 1912: 397-435.
2. Faden, R.B. 1977. The Identity of *Commelina japonica* Thunb. (Commelinaceae). **Taxon**. 26(1): 142-144.
3. Faden, R.B. 1980. The Taxonomy and Nomenclature of Some Asiatic Species of *Murdannia*(Commelinaceae). **Taxon**. 29(1): 71-83.
4. Faden, R.B. 1998. Commelinaceae. *In*: Kubitzki, K. **The Families and Genera of Vascular Plants**. Vol. 4
5. Hong, D.Y. and DeFilipps, R.A. 2000. Commelinaceae. **Flora of China**. Vol. 24.
6. Thitimetharoch, T. and et al. 2004. Taxonomic Studies of the Family Commelinaceae in Thailand. **Unpublished Ph.D. Thesis**.
7. Thitimetharoch, T. & Yongvanit, S. 2007. Ethnobotanical Survey of Pha Taem National Park, Ubon Ratchathani Province, Thailand. **The 2nd Sino-Thai International Conference on Traditional Medicine and Natural Products (Proceeding)** .

Acknowledgments



- Prof. Dr. Pranom Chantaranonthai, Dept. Biology, KKU
- Facilities: Fact. Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University and Dept. Botany, Smithsonian Institution, USA.
- Thai and Herbaria abroad (BK, BKF, CU, CMU, KKU, K, KYO, PSU, TCD, US)
- Ken Wurdack *et al.* (Murdannia clade)
- Financial supports:
Research Grants: Thailand Research Fund (**TRF-MRG-5080006**)
Traveling Funds for this trip: Khon Kaen University and Fact. Pharmaceutical Sciences, KKU



DPPH• Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content from Aerial Vegetative Part of *Murdannia bracteata*, *M. discreta*, *M. edulis* and *M. japonica* (Family Commelinaceae)

Orasa Chaichumporn¹, Supratra Porasuphatana², Faden B. Robert³, Thaweesak Thitimetharoch^{2*}

¹Graduate School, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand.

²Faculty of Pharmaceutical Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand.

³Department of Botany, Smithsonian Institution, Washington DC, 20013-7012, USA.

* correspondence author, E-mail: thathi@kku.ac.th

Introduction

According to a view of Subphala *et al.* (2007, 2008), antioxidant activity from some *Murdannia* species (*M. bracteata*, *M. latifolia* and *M. nudiflora*) were contributed to phenolic compounds. The antioxidant activity and total phenolic content (TPC) were influenced by different extracting solvents. The methanolic extract showed higher TPC and stronger antioxidant activity when compared to aqueous extracts.

This study was conducted to compare DPPH• radical scavenging activity (DPPH• RSA) and TPC of methanolic and aqueous extracts from aerial vegetative part of some *Murdannia* species on their population and morphological differences.

Materials and Methods

Aerial vegetative part of *Murdannia bracteata*, *M. edulis*, *M. japonica* and *M. discreta* were collected from natural forest in Thailand (Table 1). The vouchers were deposited at Forest Herbarium Bangkok (BKF), Bangkok and the duplicates were kept at Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Thailand. Each sample was grounded and extracted by using methanol and distilled water (sample:solvent = 1:20 w/v) for 2 hr using a shaker. The methanol extraction was evaporated at 45 °C using a rotary evaporator, whereas the aqueous extract was freeze-dried at -50 °C for solvent removed by Lyophilizer. Crude extract was stored in a desiccator at room temperature, until use extract.

DPPH• radical scavenging activity

According to a modification method from Li *et al.* (2005), The antioxidant activity of each extraction was expressed as the EC₅₀ values as determined from regression equation between concentration and DPPH• RSA (%). Methanol was used as a control and trolox was used as standard agent.

Folin-Ciocalteu assay

Total phenolic content (TPC) was determined using the Folin-Ciocalteu reagent method, by a modifications of Singleton and Rossi (1965). Ferulic acid (FA) was used as the standard for the calibration curve.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SPSS software version 11.5. Differences among the variables were tested for Significance by using the ANOVA procedure (Duncan's Multiple Range Test, DMRT) and linear regression to correlate between free radical scavenging activity with TPC, using a level of significance of $p < 0.05$.

Acknowledgements

This work was financially supported by the TREEBIOTEC Special Program for Biodiversity Research and Training Grant (BRT-T652059). We would like to thank to Center of Research and Development of Herbal Products, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University and Thailand Research Fund (TRF-MRG-5080006) for their facilities.

References

- Li, G. *et al.* 2005. Neuroprotective and Free Radical Scavenging Activities of Phenolic Compounds from *Hesperis alata*. *Archives of Pharmacological Research* 28(7): 804-809.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdate-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Subphala T., Porasuphatana S., Porasuphatana S., Thitimetharoch, T. 2007. Comparative Pharmacological and Antioxidant Activity Studies of Three *Murdannia* species (Family Commelinaceae). *KKU Research Journal (Graduate studies)* 7(2): 99-110.
- Subphala T., Porasuphatana S., Porasuphatana S., Thitimetharoch, T. 2008. Comparative Studies among *Murdannia bracteata*, *M. latifolia* and *M. nudiflora* (Comelinaceae) in Thailand. *Ministry of Science Thesis in Pharmaceutical Chemistry and Natural Products, Graduate School, Khon Kaen University*.

Abstract

DPPH• radical scavenging activity (DPPH• RSA) and total phenolic content (TPC) of methanolic and aqueous extracts from aerial vegetative part of four *Murdannia* species (Family Commelinaceae): *Murdannia bracteata*, *M. discreta*, *M. edulis* and *M. japonica* have been conducted by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and Folin-Ciocalteu assay. All species show amount of TPC established to correspond to DPPH• RSA. In generally, *M. edulis* performs higher value of TPC and DPPH• RSA, especially in methanolic part. Therefore, a population of *Murdannia discreta* exhibits the highest of TPC. Samples from different location significantly display different results as well as morphological differences in *M. edulis* hairy on lower surface of leaves. These factors could influence TPC and scavenging activity value.

Key words: DPPH• radical scavenging activity, total phenolic content, *Murdannia*, Commelinaceae

Table 1 Details of samples.

Sample	Code	Hairy on lower surface of leaves	Locality	Extraction	Collection Date	Location
<i>M. bracteata</i>	MB	absent	Phu Phan Forest, Sakon Nakhon Province	Wet plant in deciduous forest (WF)	08/08/2009	SE, OC & TT 23
<i>M. edulis</i>	Me (1)	present	Phu Manang Temple, Mahachulalongkornrajavidyalaya University	Dried plant in DF	08/10/2008	OC, SE & TT 10
<i>M. edulis</i>	Me (2)	present	Shoeng Chay, Khon Kaen Province	Dried plant in DF	01/04/2009	OC, SE & TT 33
<i>M. edulis</i>	Me (3)	present	Kuchanua District, Khon Kaen Province	Dried plant in DF	01/05/2009	OC, SE & TT 1117
<i>M. edulis</i>	Me (4)	absent	Thongyai District, Khon Kaen Province	Dried plant in DF	01/06/2009	OC, SE & TT 31
<i>M. japonica</i>	Mj 1	absent	Thungyai National Park, Khon Kaen Province	Shed plant	28/04/2009	OC, SE & TT 31
<i>M. japonica</i>	Mj 2	absent	Phu Phan Forest, Sakon Nakhon Province	Dried plant in DF	13/10/2008	TT, OC & SE 1178
<i>M. discreta</i>	MD1	absent	Phu Phan Forest, Sakon Nakhon Province	Shed plant	28/05/2009	OC, SE & TT 53
<i>M. discreta</i>	MD2	absent	Phu Phan Forest, Sakon Nakhon Province	Shed plant	15/06/2009	OC, SE & TT 40
<i>M. discreta</i>	MD3	absent	Phu Phan Forest, Sakon Nakhon Province	Dried plant in DF	15/06/2009	OC, SE & TT 42
<i>M. discreta</i>	MD4	absent	Phu Phan Forest, Sakon Nakhon Province	Dried plant in DF	15/06/2009	OC, SE & TT 71
<i>M. discreta</i>	MD5	absent	Phu Phan Forest, Sakon Nakhon Province	Dried plant in DF	15/06/2009	TT, OC, SE 1113
<i>M. discreta</i>	MD6	absent	Phu Phan Forest, Sakon Nakhon Province	Wet plant in DF	10/10/2009	TT, OC, SE 1200

Results

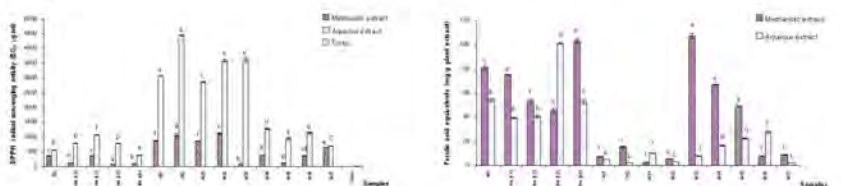


Figure 1 Comparison DPPH• RSA with EC₅₀ value of the plant in different extracts. Values are expressed as mean ± SD (n=4). Mean with different letters are significantly different at the level of $p < 0.05$.

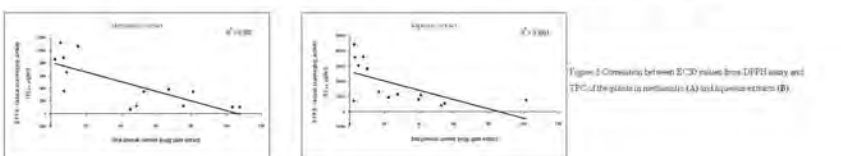


Figure 2 Correlation between EC₅₀ value from DPPH assay and TPC of the plant in methanolic (A) and aqueous extracts (B).

Discussion & Conclusion

TPC and DPPH• RSA could distinguish among the species. *Murdannia edulis* generally performs higher TPC and stronger DPPH• RSA. The methanolic extract displays higher TPC and stronger DPPH• RSA than the aqueous extract. This study suggests that the results are useful for taxonomic evidence and for finding potential source of natural antioxidant from plants in Family Commelinaceae.

Total Phenolic Content and DPPH[•] Radical Scavenging Activity from Aerial Vegetative Part of *Murdannia bracteata*, *M. gigantea*, *M. macrocarpa* and *M. simplex* (Family Commelinaceae)

Sureerut Khaewsaart¹, Supatra Porasuphatana², Faden B. Robert³, Thaweasak Thitimetharoch^{2*}

¹ Graduate School Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand

² Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand

³ Department of Botany, Smithsonian Institution, Washington DC, 20013-7012, USA

* Correspondence author: E-mail: thathi@kku.ac.th



Introduction

A previous study had reported that antioxidant activity and yield of phenolic content were influenced by different extracting solvents (Othman *et al.*, 2007; Subphala *et al.*, 2008). In genus *Murdannia*, methanolic part shows stronger potential antioxidant activity and higher TPC than aqueous part (Subphala *et al.*, 2007, 2008).

Methanolic and aqueous extract of aerial vegetative part of four *Murdannia* species will be made comparative study on TPC and DPPH[•] radical scavenging capacity

Materials and methods

Mature aerial vegetative part of *Murdannia bracteata*, *M. gigantea*, *M. macrocarpa* and *M. simplex* were collected as samples for the experiments (Table 1 and Figure 1). Vouchers were made and deposited. Each sample was grounded and extracted by using methanol and distilled water (sample : solvent = 1:20, w/v), shook at room temperature for 2 hrs. Methanolic extract was evaporated to dryness in a rotary evaporator at 45 °C, whereas aqueous extract was freeze-dried at -50 °C. Crude extract was stored in a desiccator at room temperature for future use.

Folin-Ciocalteu assay (modified from Singleton and Rossi, 1965). Ferulic acid (FA) was used as a standard for the calibration.

DPPH[•] radical-scavenging activity: (modified from Sánchez-Moreno *et al.*, 1999 and Li *et al.*, 2005).

Statistical analysis: Data was determined using SPSS 10.1 (one-way ANOVA). Duncan's significant difference procedure was used for separation of means at the $p < 0.05$. Linear regression to correlate between TPC and DPPH[•] RSA was carried out using Excel 2003.

Acknowledgements

This work was financially supported by the TRF/BIOTEC Special Program for Biodiversity Research and Training grant (BRT-T652058). We would like to thank to Center for Research and Development of Herbal Products, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, and Thailand Research Fund (TRF-MRG-5080006) for their facilities.

References

1. Li, G., Mao, B. S., Zheng, C., Lee, J., Oh, S. R., Ahn, K. S. and Lee, H. E. 2005. Neuroprotective and Free Radical Scavenging Activities of Phenolic Compounds from *Hypericum adpressum*. *Archives of Pharmacol. Research* 30(7): 804-809.
2. Othman, A., Ismail, A., Ghani, N. A. and Adenan, I. 2007. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Beans. *Food Chemistry* 100: 1523-1530.
3. Sanchez-Moreno, C., Larran, J. A. and Saura-Calixto, F. 1999. Free Radical Scavenging Capacity and Inhibition of Lipid Oxidation of Wines, Grape Juices and Related Polyphenolic Constituents. *Food Research International* 32: 407-412.
4. Singleton, V. L. and Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of Total Phenolic with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
5. Subphala, T., Porasuphatana, S., Preepaeng, S. and Thitimetharoch, T. 2007. Comparative Pharmacognostic and Anti-oxidant Activity Studies of Three *Murdannia* species (Family Commelinaceae). *KKU Research Journal (Graduate studies)* 7(2): 98-110.
6. Subphala, T., Porasuphatana, S., Preepaeng, S. and Thitimetharoch, T. 2008. Comparative Studies among *Murdannia bracteata*, *M. longifolia* and *M. nudiflora* (commelinaceae) in Thailand. Master of Science Thesis in Pharmaceutical Chemistry and Natural Products, Graduate School, Khon Kaen University.



Figure 1 *Murdannia bracteata* (A), *M. gigantea* [B – D : B white flowers; Mg (w4), C. purplish white flowers; Mg (pw4), D. violet flowers; Mg (vm)] *M. macrocarpa* (E) and *M. simplex* (F)

Abstract

Total phenolic content (TPC) and DPPH[•] radical scavenging activities (DPPH[•] RSA) between methanolic and aqueous extract from aerial vegetative part of *Murdannia bracteata*, *M. gigantea*, *M. macrocarpa* and *M. simplex* are evaluated by Folin-Ciocalteu assay and DPPH[•] assay. TPC of all species is established to correspond to DPPH[•] radical scavenging capacity. *Murdannia gigantea* generally exhibits the highest TPC and the strongest DPPH[•] scavenging capacity, followed by *M. macrocarpa* and *M. simplex*, respectively. Extracting solvents, variation of the species and environmental factors may be influenced on the difference.

Sample	Code	Color of flowers	Location (Thailand)	Collection date	Plant height (cm)
<i>M. bracteata</i>	Mb	violet	Pin Phun Forest, Sakon Nakhon Province	29-05-2009	75, 60 & 77-88
<i>M. gigantea</i>	Mg (w1)	white: larger plant	Pin Muang temple, Sakon Nakhon Province	05-10-2006	75, 60 & 77-88
<i>M. gigantea</i>	Mg (w2)	white: larger plant	Sai Saran waterfall, Udon Thani Province	10-10-2006	75, 60 & 77-88
<i>M. gigantea</i>	Mg (w3)	white: larger plant	Pin Phun Forest, Udon Thani Province	22-02-2009	75, 60 & 77-88
<i>M. gigantea</i>	Mg (w4)	white: larger plant	Thap Phraya Suan waterfall, Khon Kaen Province	27-06-2009	75, 60 & 77-88
<i>M. gigantea</i>	Mg (w5)	white: smaller plant	Ban Chom Maeng, Nakhon Phanom Province	09-02-2009	75, 60 & 77-88
<i>M. gigantea</i>	Mg (w6)	purplish white: moderate	Pin Bua Forest, Loei Province	27-07-2009	75, 60 & 77-88
<i>M. gigantea</i>	Mg (w7)	violet: moderate	Pin Phun Forest, Sakon Nakhon Province	20-03-2009	75, 60 & 77-88
<i>M. macrocarpa</i>	Ma (1)	violet	Sai Saran waterfall, Udon Thani Province	10-10-2006	75, 60 & 77-88
<i>M. macrocarpa</i>	Ma (2)	violet	Pin Kruang Forest, Loei Province	07-12-2006	75, 60 & 77-88
<i>M. macrocarpa</i>	Ma (3)	violet	Pin Kruang Forest, Loei Province	29-10-2009	75, 60 & 77-88
<i>M. simplex</i>	Ms (1)	violet	Dai Sutthap-Pin Forest, Chiang Mai Province	13-03-2009	75, 60 & 77-88
<i>M. simplex</i>	Ms (2)	violet	Dai Sutthap-Pin Forest, Chiang Mai Province	15-10-2009	75, 60 & 77-88

Result

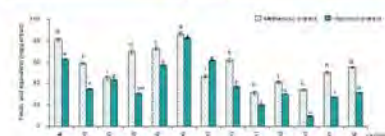


Figure 2 Comparative TPC of the samples in different extracting solvents are measured by means $\pm$ SD (n = 4). The vertical bars represent standard error of the mean. Means marked with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

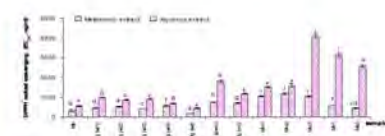


Figure 3 Comparative DPPH[•] RSA of the samples in different extracting solvents are measured by means $\pm$ SD (n = 4). The vertical bars represent standard error of the mean. Means marked with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

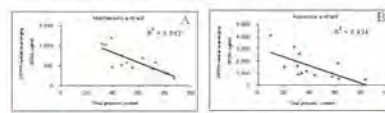


Figure 4 Correlation between TPC and DPPH[•] RSA of the plants in methanolic extract (A) and aqueous extract (B) of the plants.

Discussion & Conclusion

Amount of TPC is established to correspond to DPPH[•] radical scavenging capacity for all species in both methanolic and aqueous extract. Different amount of phenolic compounds in the plants could possess different antioxidant capability.

The results suggest that methanolic extract possesses higher TPC and stronger scavenging activity than the aqueous extract.

Murdannia gigantea shows the highest TPC and the strongest DPPH[•] RSA.

Samples from different locations are significantly different in each species as well as morphological variation of the species (color of flowers, plant size among population) could influence the value of TPC and scavenging activity. (Table 1 and Figure 2, 3 and 4).