บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RSA5580054

ชื่อโครงการ: การวิเคราะห์จีโนมและสารเคมีในพืชสกุลพริกไทยที่มีกลิ่นเหมือนพลู

นักวิจัย: อรุณรัตน์ ฉวีราช มหาวิทยาลัยขอนแก่น

รุ่งลาวัลย์ สุดมูล มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ธวัดชัย ธานี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

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

ระยะเวลาโครงการ: 16 กรกฎาคม 2555 – 15 กรกฎาคม 2558

พลู *Piper betle* เป็นพืชที่คนไทยรู้จักและใช้มาช้านาน มีสารเคมีสำคัญหลายอย่างซึ่งใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัฑณ์มากมาย พลูจึงเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญแต่ในการปลูกมักประสบปัญหาราก เน่า ใบเน่า และใบจุด จากการสำรวจและศึกษาพืชสกุลพริกไทยมากว่า 12 ปี ทำให้ทราบว่าประเทศไทยมีพืชสกุลนี้กว่า 43 ชนิด ดังนั้นจึงควรมีการสร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดของพืชสกุลนี้และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในพืชบางชนิด เนื่องจากมักมีการนำพืชมาใช้แบบแปรรูปเป็นสมุนไพรหรือประกอบในผลิตภัณฑ์อื่นดังนั้นจึงได้สร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดเพื่อใช้ในการระบุชนิดชิ้นส่วนพืช พืชที่ยังอ่อนหรือพืชแปรรูป จากบริเวณ *mat*K gene, *rbc*L gene และ *psb*A-*trn*H spacer สำหรับพืชสกุลพริกไทย 36 ชนิดที่เก็บตัวอย่างได้ ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์บันทึกไว้ในฐานข้อมูล GenBank ทั้งสิ้น 190 accessions ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมที่ได้มีประสิทธิภาพในการระบุชนิดเนื่องจากภายในชนิดเดียวกันมีค่าต่ำ มีเพียงพลูชนิดเดียวที่มีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมบริเวณ *mat*K gene สูงถึง 0.386 ทั้งนี้อาจเนื่องจากพลูเป็นพืชเศรษฐกิจและมีการปลูกเลี้ยงโดยมนุษย์ซึ่งให้ปัจจัยส่งเสริมการเจริญเติบโตปัจจัยเหล่านั้นจึงมีผลต่อความหลากหลายทางพันธุกรรมของพลู ในระหว่างชนิดพืชค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมค่อนข้างมีประสิทธิภาพในการระบุชนิดเช่นเดียวกัน โดยบริเวณ *mat*K gene มีค่าระหว่าง 0.002 ถึง 0.486 มีเพียง 8 คู่ ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ด้วยบริเวณ *mat*K gene แต่สามารถระบุชนิดได้ด้วยบริเวณ *rbc*L gene หรือ *psb*A-*trn*H spacer จากการสำรวจชนิดยังได้พบว่ามีพืชอีก 8 ชนิด ที่มีกลิ่นเหมือนพลู ได้แก่ *P. betloides*, *P. crocatum*, *P. maculaphyllum*, *P. rubroglandulosum*, *P. semiimmersum*, *P. submultinerve*, *P. tricolor* และ *P. yinkiangense* ซึ่งคาดว่าจะมีสารเคมีที่สำคัญคล้ายกับพลูจึงได้สกัดกสารจากพืชทั้ง 9 ชนิด และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบสารที่เหมือนในพลู ได้แก่ eugenol, isoeugenol, chavicol, caryophyllene, sabinene, phellandrene, germacrene A and germacrene D และ sesquiterpenes และได้นำสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ มาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อโรค พบว่า สารสกัด *P. rubroglandulosum* และ *P. yinkiangense* ที่ไม่เจือจางมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa* สารสกัด *P. betloides* ที่ไม่เจือจาง และสารสกัด *P. maculaphyllum* ทุกระดับความเข้มข้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ

Staphylococcus aureus ดังนั้น *P. maculaphyllum* จึงเป็นพืชที่น่าสนใจที่สุดเนื่องจากสารสกัดที่เจือจางก็สามารถยับยั้ง *S. aureus* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคหลายชนิดในมนุษย์ได้ ต่อมาได้ประเมินปริมาณและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้ง 9 ชนิด พบว่าพลูให้ปริมาณสูงที่สุด คือ 2.73 มิลลิลิตร/กิโลกรัม ขณะที่พืชป่าที่ให้ปริมาณสูงสุดคือ *P. tricolor* ได้ 0.76 มิลลิลิตร/กิโลกรัม สารเคมีที่พบเป็นองค์ประกอบหลักได้แก่ eugenol/isoeugenol, 4-allyl-1,2-diacetoxybenzene, L-linalool, α-terpineol, β-terpineol, β-selinene, butylated hydroxytoluene, trans-caryophyllene, α-caryophyllene, germacrene D และ β-elemene

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสามารถเสนอได้ว่ามนุษย์สามารถผลิตยาจากพืชที่มีกลิ่นเหมือนพลูทั้ง 8 ชนิดนี้ได้ทั้งในระดับท้องถิ่นและระดับอุตสาหกรรม จากที่ปัจจุบันใช้ได้เพียงพลูชนิดเดียว ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าพืชทั้ง 8 ชนิดนี้มีศักยภาพในทางอุตสาหกรรมเช่นเดียวกับพลู นอกจากนี้แล้วพืชทั้ง 8 ชนิดยังเป็นพืชป่าซึ่งมีความแข็งแรง ทนต่อโรค แตกกิ่งและใบได้มากกว่าพลูอีกด้วย การใช้พืชหลากหลายชนิดเป็นแนวทางการใช้ทรัพยากรอย่างยั่งยืนและยังนำไปสู่การจัดการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติอีกด้วย

คำหลัก: เครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ด, น้ำมันหอมระเหย, พืชสกุลพริกไทย, พืชสกุลพริกไทยที่มีกลิ่นเหมือนพลู, พฤกษเคมี

Abstract

Project Code:	RSA5580054	
Project Title:	Analysis of genomics and chemicals in betel-like-scented *Piper* species	
Investigators:	Arunrat ChaveerachKhon	Kaen University
	Runglawan Sudmoon	Khon Kaen University
	Tawatchai Tanee	Mahasarakham University
E-mail Address:	raccha@kku.ac.th	
Project Period:	16 July 2012 – 15 July 2015	

Piper betle (Piperaceae) or betel leaf, known locally as “Phlu” has been used by people in Thailand for chewing for a long time. It contains economically important chemicals used in several household products. However, it was reported that root rot, leaf rot and leaf spot are important problems for its cultivations. Over the past 12 years of our researches on *Piper* species, we found that there are more than 43 species. Therefore, the plants should be DNA barcoding constructed and screened for their chemical constituents. As of the *Piper* species are usually used in processed forms for medicines and other products, barcode construction using *mat*K gene, *rbc*L gene and *psb*A-*trn*H spacer regions has been done for serving identification of plant parts, young plants and modified forms in 36 collected species. The 190 sequence accessions have been recorded in GenBank. At intraspecific levels, the genetic distances are most effective for a species identification starting from same sequence or no difference in each species to very low distance values. Only *P. betle* posted the highest values at 0.386 of *mat*K gene, this may be because it is an economic and cultivated species, so is supported growth factors from human affected on its genetic distance. The genetic distances at interspecific level are also most effective for different species identification by *mat*K gene ranged from 0.002 to 0.486, excepted for eight species-pair which could be identified by each of the other two regions without of combination. There are some plants other than *P. betle* that possess a betel-like scent, viz. *P. betloides*, *P. crocatum*, *P. maculaphyllum*, *P. rubroglandulosum*, *P. semiimmersum*, *P. submultinerve*, *P. tricolor*, and *P. yinkiangense*. It was expected that these plants would contain similar useful chemicals as betel, their extracts were screened for the chemical contents by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The extracts contain some important chemical substances that are similar to the betel extract, namely, eugenol, isoeugenol, chavicol, caryophyllene, sabinene, phellandrene, germacrene A and germacrene D, and sesquiterpenes. Different dilutions of these extracts were tested for inhibitory activity

against pathogenic bacteria and fungi. Effectiveness against *Pseudomonas aeruginosa* was found with undiluted *P. rubroglandulosum* and *P. yinkiangense* extracts, and effectiveness against *Staphylococcus aureus* was observed with undiluted *P. betloides* extract and all concentrations of *P. maculaphyllum* extract. Therefore, the most interesting species is *P. maculaphyllum*, as it was effective against *S. aureus*, which causes many human diseases. Volatile oil quantity and chemical components were detected in the nine species by GC-MS. The oil quantity is highest in the cultivated *P. betle* species at 2.73 mL/kg, while wild species had a highest amount at 0.76 mL/kg in *P. tricolor*. Substances found in a satisfactory amount include eugenol/isoeugenol, 4-allyl-1,2-diacetoxybenzene, L-linalool, α-terpineol, β-terpineol, β-selinene, butylated hydroxytoluene, trans-caryophyllene, α-caryophyllene, germacrene D, and β-elemene.

From the chemical constituents and the extract activities, it is suggested that human population can benefit from both local and industrial medicines produced from the eight betel-like-scented *Piper* species, which to date have only been produced from betel leaves. The results also indicate that the eight plant species would have as high a potential as *P. betle* for industrial purposes. Moreover, as the plants are wild species they have a greater vigor, thus growing well and with more branching than betel. The diverse *Piper* species studied and documented are important for sustainable uses and can enable conservation management of natural resouces.

Keywords : betel-like-scented *Piper* species, DNA barcode, essential oil, phytochemicals, *Piper* species