

รูปแบบและการกระจายของผลึกแคลเซียมออกซาเลตในใบพืชสมุนไพรบางชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี Types and Distribution of Calcium Oxalate Crystals in Leaves of Some Medicinal Plants in Ubon Ratchathani Province

วิโรจน์ เกษรบัว^{1*} ดารัลพร ตะหนูชน¹ และ อนิษฐา ศรีนวล²

Wirot Kesonbua^{1*} Daranporn Tanuchon¹ and Anitthan Srinual²

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

¹Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

²Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

*E-mail: wirot.k@ubu.ac.th

Received: Nov 03, 2022

Revised: Dec 02, 2022

Accepted: Dec 06, 2022

บทคัดย่อ

ผลึกแคลเซียมออกซาเลตเป็นสารสะสมที่พบในพืชมากกว่า 215 วงศ์ ข้อมูลของรูปแบบและลักษณะของผลึกที่พบมีประโยชน์ต่อการระบุชนิดในการศึกษาด้านอนุกรมวิธาน และเป็นเครื่องมือวินิจฉัยสำคัญในการระบุและตรวจสอบสิ่งเจือปนในผงพืชสมุนไพร งานวิจัยนี้เป็นการศึกษารูปแบบ และการกระจายของผลึกแคลเซียมออกซาเลตในตัวอย่างใบพืชสมุนไพรที่พบในจังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 18 ชนิด จำแนกเป็น 18 สกุล และ 15 วงศ์ โดยนำตัวอย่างของแผ่นใบ และก้านใบมาตัดตามขวางแล้วย้อมด้วยสีซาฟรานิน จากนั้นศึกษารูปแบบ และการกระจายของผลึกแคลเซียมออกซาเลตในพืชด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยการกระจายของผลึกในแผ่นใบศึกษาในบริเวณเนื้อเยื่อชั้นผิว ชั้นมีโซฟิลล์ และเนื้อเยื่อลำเลียง ส่วนการกระจายของผลึกในก้านใบศึกษาในบริเวณเนื้อเยื่อชั้นผิว คอร์เทกซ์ และเนื้อเยื่อลำเลียง ผลการศึกษาพบว่าพืชส่วนใหญ่จำนวน 13 ชนิด มีผลึกรูปดาว ได้แก่ *Akschindlium godefroyanum* (Kuntze) H. Ohashi, *Buchanania siamensis* Miq., *Casearia flexuosa* Craib, *Catunaregam tomentosa* (Blume ex DC.) Tirveng., *Cyrtophyllum fragrans* (Roxb.) DC., *Getonia floribunda* Roxb., *Leea indica* (Burm.f.) Merr., *Memecylon edule* Roxb., *Microcos tomentosa* Sm., *Ochna integerrima* (Lour.) Merr., *Polyalthia evecta* (Pierre) Finet & Gagnep., *Salacia chinensis* L. และ *Sphaerocoryne lefevrei* (Baill.) D.M. Johnson & N.A. Murray นอกจากนี้ยังพบว่ามีพืช 3 ชนิดมีผลึก รูปปริซึม และผลึกรูปดาว ซึ่งได้แก่ *Artabotrys harmandii* Finet & Gagnep., *Suregada multiflora* (A. Juss.) Baill. และ *Xylopia vielana* Pierre ในขณะที่ *Dianella ensifolia* (L.) Redouté และ *Tetracera scandens* (L.) Merr. เป็นพืชที่มีเฉพาะผลึก รูปปริซึม และผลึกรูปเข็ม ตามลำดับ การกระจายของผลึกแคลเซียมออกซาเลตที่พบในพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช และ ส่วนของใบพืชที่ใช้ในการศึกษา

คำสำคัญ: ผลึกแคลเซียมออกซาเลต พืชสมุนไพร จังหวัดอุบลราชธานี

Abstract

Calcium oxalate (CaOx) crystals are ergastic bodies observed in over 215 plant families. Information of types and characteristics of CaOx crystals is useful for taxonomic identification of plant taxa and serves as an essential diagnostic tool for identification and detection of adulterants in crude drugs. This research was to study types and distribution of CaOx crystals in leaf samples of 18 medicinal plant species in Ubon Ratchathani province, classified into 18 genera and 15 families. Leaf blades and petioles of all samples were cross sectioned and stained with safranin. Types and distribution of CaOx crystals in the plants were examined by a bright field microscope.

The distribution of CaOx crystals in leaf blades was examined in epidermis, mesophyll and vascular tissue while that in petioles was examined in epidermis, cortex and vascular tissue. The results revealed that most of the studied plants which were 13 species had druse crystals including *Akschindlium godefroyanum* (Kuntze) H. Ohashi, *Buchanania siamensis* Miq., *Casearia flexuosa* Craib, *Catunaregam tomentosa* (Blume ex DC.) Tirveng., *Cyrtophyllum fragrans* (Roxb.) DC., *Getonia floribunda* Roxb., *Leea indica* (Burm.f.) Merr., *Memecylon edule* Roxb., *Microcos tomentosa* Sm., *Ochna integerrima* (Lour.) Merr., *Polyalthia evecta* (Pierre) Finet & Gagnep., *Salacia chinensis* L. and *Sphaerocoryne lefevrei* (Baill.) D.M. Johnson & N.A. Murray. It was also found that 3 plant species had prismatic crystals and druse crystals including *Artabotrys harmandii* Finet & Gagnep., *Suregada multiflora* (A. Juss.) Baill. and *Xylopiella vielana* Pierre. *Dianella ensifolia* (L.) Redouté and *Tetracera scandens* (L.) Merr. were the plant species having only prismatic crystals and raphide crystals, respectively. The distribution of CaOx crystals found in different plants varied depending on plant species and parts of plant leaves used in the study.

Keywords: Calcium oxalate crystals, Medicinal plants, Ubon Ratchathani province

1. บทนำ

ผลึกแคลเซียมออกซาเลต (Calcium oxalate (CaOx) crystals) เป็นสารสะสมในพืชที่เกิดจากการรวมตัวของแคลเซียม (Ca) และกรดออกซาลิก ($C_2H_2O_4$) [1] เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบในกลุ่มพืชที่มีเนื้อเยื่อลำเลียงมากกว่า 215 วงศ์ [2], [3] สะสมในหลายอวัยวะของพืช ได้แก่ ลำต้น ใบ และเมล็ด [4] รวมทั้งโครงสร้างของดอกทั้งในกลีบเลี้ยง กลีบดอก รังไข่ และอับเรณู แต่ไม่พบในเรณู [5] อาจกระจายเฉพาะเจาะจงในแต่ละเนื้อเยื่อหรือบางบริเวณ เช่น ในเนื้อเยื่อชั้นผิว (Epidermis) คอร์เทกซ์ (Cortex) โพลเอ็ม (Phloem) ไซเล็ม (Xylem) และไส้ไม้ (Pith) [6]-[8] หรืออาจพบในทุกเนื้อเยื่อ [9] ผลึกที่พบส่วนใหญ่สร้างขึ้นในแวคิวโอล (Vacuole) ของเซลล์พืชดอก หรืออยู่ระหว่างผนังเซลล์ของพืชเมล็ดเปลือย [10]

รูปร่างของผลึกแคลเซียมออกซาเลตมีหลายแบบ เช่น ผลึกรูปปริซึม (Prismatic crystals) ที่มีลักษณะเป็นเหลี่ยมคล้ายปริซึม ผลึกรูปเข็ม (Raphide crystals) มีรูปร่างเป็นแท่งยาวปลายแหลมคล้ายเข็ม ผลึกรูปดาว (Druse crystals) ที่เกิดจากการรวมตัวของผลึกปริซึมจำนวนมากเป็นก้อนรูปทรงกลมคล้ายดาว ผลึกรูปแท่ง (Styloid crystals) มีลักษณะเป็นแท่งยาวปลายแหลม มีความหนาและขนาดใหญ่กว่าผลึกรูปเข็ม และผลึกเม็ดทราย (Crystal sands) เป็นก้อนเหลี่ยมกลมขนาดเล็ก [7] หน้าที่หลักของผลึกต่าง ๆ เหล่านี้ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน แต่มีรายงานจากผลการศึกษาที่แตกต่างออกไป เช่น เพื่อป้องกันตัวจากสัตว์กินพืช ช่วยรักษาสภาพสมดุลในเนื้อเยื่อ ช่วยควบคุมกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง

ช่วยในกระบวนการขับโลหะหนักที่เป็นสารพิษในเนื้อเยื่อ และการเก็บสะสมไว้เพื่อรอการสลายจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) ต่อไป [11] นอกจากนี้ บางรายงานกล่าวว่าผลึกแคลเซียมออกซาเลตเป็นของเสียขั้นสุดท้ายจากกระบวนการเมแทบอลิซึมที่ไม่มีประโยชน์ต่อพืช [12]

งานวิจัยด้านพืชสมุนไพร [12] พบว่าพืชที่มีการสะสมของผลึกแคลเซียมออกซาเลตมักมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระหรือช่วยผสานกระดูกที่หักและรักษาโรคกระดูกได้ อย่างไรก็ตาม หากสัตว์ได้รับแคลเซียมออกซาเลตจากการบริโภคมากเกินไป จะทำให้เกิดการสะสมของตะกอนบริเวณรอบท่อที่เป็นสาเหตุของโรคนี้ได้ และผลึกที่แหลมคมจะทำให้เกิดการบาดเจ็บต่อเนื้อเยื่อในร่างกายและเกิดการอักเสบ [13] ดังนั้นการสำรวจเพื่อหาลักษณะเฉพาะอย่างละเอียดของสัณฐานวิทยาและการกระจายของผลึกในพืช สามารถใช้เป็นข้อมูลเพื่อกำหนดข้อห้ามหรือข้อควรพิจารณาสำหรับการบริโภคพืชสมุนไพรได้ นอกจากนี้ รูปแบบและการกระจายของผลึกแคลเซียมออกซาเลตเป็นลักษณะเฉพาะของพืชแต่ละชนิดหรือเฉพาะกลุ่ม [7], [8] จึงมีการนำไปใช้เพื่อจำกัดขอบเขตของชนิดและสนับสนุนการจัดจำแนกทางด้านอนุกรมวิธานพืชในระดับต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง เช่น จากการศึกษาในพืชเผ่า Cardueae วงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) พบว่าการมีและไม่มีผลึกแคลเซียมออกซาเลตจัดเป็นลักษณะทางอนุกรมวิธานสำคัญของพืชกลุ่มนี้ [14] และจากการศึกษาในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว [11] พบว่าผลึกรูปเข็ม ผลึกรูปแท่ง และผลึกรูปดาวสามารถกำหนดเป็นลักษณะที่นำไปจำกัดขอบเขตของพืชบางชนิดได้

จากความจำเพาะของรูปแบบและการกระจายของ
ผลึกแคลเซียมออกซาเลตในพืชแต่ละชนิด จึงสามารถนำ
ลักษณะดังกล่าวไปประยุกต์ในการตรวจสอบความบริสุทธิ์และ
รับรองคุณภาพของพืชสมุนไพรที่อยู่ในสภาพแห้งหรือเป็น
ชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืช [15] ดังเช่นการศึกษาพืชสมุนไพร
พื้นเมืองของประเทศซาอุดีอาระเบียจำนวน 60 ชนิด [16]
พบว่าพืชจำนวน 60% ที่ไม่พบผลึก พบผลึกบริเวณลำต้น
จำนวน 20% พบผลึกที่ใบจำนวน 6.7% ส่วนพืชที่เหลือพบ
ผลึกทั้งในใบและลำต้น 13.3% ส่วนการศึกษาการปรากฏและ
ความหลากหลายของผลึกแคลเซียมออกซาเลตของพืช
สมุนไพรบางชนิดในประเทศฟิลิปปินส์จำนวน 15 ชนิด [17]
พบสารสะสมส่วนใหญ่เป็นผลึกรูปเข็ม ส่วนผลึกรูปปรีซึมและ
ผลึกเม็ดทรายพบน้อยที่สุด จากการสำรวจพืชสมุนไพรล้มลุกที่
นิยมใช้ทั่วไปในประเทศจีน จำนวน 22 ชนิด พบว่าผลึก
แคลเซียมออกซาเลตในพืชแต่ละชนิดมีปริมาณแตกต่างกัน
อย่างมีนัยสำคัญ แม้จะเป็นพืชวงศ์เดียวกัน [18] อย่างไรก็ตาม
การศึกษาเบื้องต้นเป็นข้อมูลของต่างประเทศ ไม่สามารถใช้
อ้างอิงสำหรับพืชสมุนไพรในประเทศไทยได้ เนื่องจากพืชต่าง
ชนิดกันหรือพืชที่เจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมต่างกันจะมี
ลักษณะความหนาแน่น และการกระจายของผลึกที่ต่างกัน
กัน [6]-[8]

งานวิจัยที่เกี่ยวกับลักษณะกายวิภาคศาสตร์พืช
สมุนไพรในจังหวัดอุบลราชธานี พบเฉพาะการศึกษาเนื้อเยื่อ
ชั้นผิวใบของพืชบางชนิด [19] ส่วนการศึกษาเพื่อตรวจสอบ
ผลึกแคลเซียมออกซาเลต พบเฉพาะในพื้นที่อื่นของภาค
ตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น การตรวจหาผลึกแคลเซียมออกซาเลต
ในผักพื้นบ้าน [20] และการศึกษาผลึกแคลเซียมออกซาเลตใน
ผักบางชนิดในจังหวัดหนองคาย [21] งานวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการ
สำรวจรูปแบบของผลึกแคลเซียมออกซาเลตบริเวณเนื้อเยื่อ
ของแผ่นใบและก้านใบของพืชสมุนไพรบางชนิดที่มีการใช้
ประโยชน์ในจังหวัดอุบลราชธานี โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหา
และเปรียบเทียบลักษณะของผลึกในแต่ละเนื้อเยื่อของพืช เพื่อ
เป็นการรายงานข้อมูลเบื้องต้น และอาจนำมาใช้ในการระบุ
หรือจำกัดขอบเขตของชนิดพืช ที่สามารถใช้เป็นฐานข้อมูล
สำหรับการตรวจสอบเพื่อรับรองความถูกต้องของพืชสมุนไพร
ที่ศึกษา ตลอดจนเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปใช้สำหรับการจัด
จำแนกทางอนุกรมวิธานพืชหรือการประยุกต์ต่อยอดในสาขา
ชีววิทยาด้านอื่นที่เกี่ยวข้อง

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. พื้นที่ศึกษาและการเก็บตัวอย่าง

รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับพืชสมุนไพรที่พบบริเวณพื้นที่
จังหวัดอุบลราชธานี โดยการสอบถามเบื้องต้นจากหมอยา
พื้นบ้านและตรวจสอบความถูกต้องจากงานวิจัยต่าง ๆ แล้ว
ออกสำรวจเพื่อเก็บตัวอย่างพร้อมระบุชนิดโดยใช้รูปพรรณจาก
หนังสือพรรณพฤกษชาติในประเทศไทย (Flora of Thailand)
หรือเอกสารอื่นที่เกี่ยวข้อง (Table 1) นำตัวอย่างของพืชแต่ละ
ชนิดที่มีส่วนประกอบครบทั้งดอกและผลไปจัดทำเป็น
ตัวอย่างพรรณไม้แห้งตามแบบมาตรฐานของการศึกษาด้าน
อนุกรมวิธานพืช เพื่อใช้สำหรับการอ้างอิง โดยเก็บรักษาไว้ที่
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย
อุบลราชธานี ตัวอย่างใบสดของพืชแต่ละชนิดอีกส่วนหนึ่งที่มี
สภาพสมบูรณ์และเจริญเติบโตเต็มที่ จะนำไปเตรียมสไลด์เพื่อ
ศึกษาลักษณะของผลึกแคลเซียมออกซาเลตต่อไป

2.2. การเตรียมสไลด์ตัวอย่าง

นำตัวอย่างใบสดของพืชแต่ละชนิดมาตัดแยกระหว่าง
ส่วนของก้านใบและแผ่นใบด้วยใบมีดโกน แล้วตัดตามขวาง
บริเวณกึ่งกลางของก้านใบและแผ่นใบตำแหน่งผ่านเส้นกลาง
ใบให้เป็นชิ้นบางที่สุด แล้วนำไปย้อมสีโดยแช่ในสารละลาย
ซาฟรานิน (Safranin) ความเข้มข้น 1 % ที่ละลายในน้ำเป็น
เวลา 3-5 นาที หลังจากนั้นล้างสีส่วนเกินด้วยน้ำกลั่น แล้ว
นำไปฟีนิกสไลด์ โดยจัดเตรียมสไลด์พืชแต่ละชนิด จำนวนชนิด
ละ 10 ซ้ำ

2.3. การวิเคราะห์ผล

นำสไลด์ที่เตรียมได้ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ
ใช้แสงเพื่อวิเคราะห์ประเภทและการกระจายของผลึก
แคลเซียมออกซาเลตในใบของพืชตัวอย่าง พร้อมบันทึกภาพ
ด้วยกล้อง Olympus รุ่น DP12 การจำแนกรูปแบบของผลึกที่
พบใช้เกณฑ์ตามการศึกษาของ Prychid and Paula [11]

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาพืชสมุนไพรในจังหวัดอุบลราชธานี
จำนวน 18 ชนิด พบผลึกแคลเซียมออกซาเลตกระจายอยู่ใน
เนื้อเยื่อของแผ่นใบพืชที่ศึกษาทั้งหมด จำนวน 3 แบบ ได้แก่
(1) ผลึกรูปดาว (Druse crystals) อยู่ภายในเซลล์พาเรงคิมา

(Parenchyma) ประกอบด้วยกลุ่มผลึกปลายแหลมจำนวนมากมาเกาะรวมกันเป็นรูปร่างกลม ยื่นส่วนปลายผลึกแหลมออกรอบ ๆ ก้อนผลึก มีรูปร่างคล้ายดาว ผลึกรูปดาวที่มีขนาดใหญ่จะอยู่เกือบเต็มเซลล์ มี 1 ก้อนต่อเซลล์ (Figure 1 A-B) (2) ผลึกรูปปริซึม (Prismatic crystals) มีลักษณะเป็นแท่งรูปลูกบาศก์หรือรูปแท่งยาว ปลายตัดลักษณะแหลมหรือมนอยู่ภายในเซลล์ ส่วนใหญ่มี 1 แท่งต่อเซลล์ (Figure 1 C-D) และ (3) ผลึกรูปเข็ม (Raphide crystals) มีลักษณะเป็นแท่งยาวคล้ายเข็มปลายแหลมทั้งสองด้าน มักรวมกันเป็นมัดหรือกลุ่ม แต่ละกลุ่มมีจำนวนผลึกมากน้อยแตกต่างกัน มักพบในเนื้อเยื่อพารากิมา (Figure 1 E-F) ส่วนการกระจายของผลึกในแต่ละเนื้อเยื่อ แตกต่างกันในพืชที่ศึกษาแต่ละชนิด ซึ่งในการศึกษาค้างนี้ได้สำรวจผลึกบริเวณแผ่นใบและก้านใบ โดยพิจารณาส่วนของแผ่นใบบริเวณเนื้อเยื่อชั้นผิว (Epidermis) ชั้นมีโซฟิลล์ (Mesophyll) และในเนื้อเยื่อลำเลียง (Vascular bundle) ส่วนของก้านใบได้ศึกษาบริเวณเนื้อเยื่อชั้นผิว เนื้อเยื่อพื้น (Ground tissue) ในบริเวณ คอร์เทกซ์ (Cortex) และในเนื้อเยื่อลำเลียง พบผลึกในแต่ละเนื้อเยื่อของพืชที่ศึกษา ดังนี้ (Table 1)

3.1. แผ่นใบ

พืชที่ศึกษาทุกชนิดพบผลึกบริเวณแผ่นใบ มีรูปแบบและการกระจายดังนี้ ในเนื้อเยื่อชั้นผิวพบผลึกรูปดาวเฉพาะใน *Ar. harmandii*, *B. siamensis*, *L. indica*, *P. evecata*, *Sp. lefevrei* และ *X. vielana* (Figure 2 A-B) ส่วนพืชที่เหลือไม่พบผลึกรูปดาวในเนื้อเยื่อชั้นผิว ส่วนชั้นมีโซฟิลล์พบผลึกในพืชส่วนใหญ่ ยกเว้น *Ar. harmandii*, *P. evecata*, *Sp. lefevrei* และ *X. vielana* ที่ไม่มีผลึกในมีโซฟิลล์ รูปแบบผลึกที่พบส่วนใหญ่เป็นผลึกรูปดาว (Figure 2 C-D) ยกเว้นใน *D. ensifolia* ที่มีผลึกเป็นแบบปริซึม และใน *T. scandens* มีผลึกเป็นแบบรูปเข็ม สำหรับบริเวณเนื้อเยื่อลำเลียง พืชส่วนใหญ่ไม่มีผลึก ยกเว้น ใน *A. godefroyanum* *B. siamensis*, *C. flexuosa*, *G. floribunda*, *Mi. tomentosa*, *S. chinensis* และ *Su. multiflora* ที่มีการสะสมผลึกรูปดาว (Figure 2 E-F) ส่วนใน *D. ensifolia* มีผลึกเป็นแบบปริซึม

3.2. ก้านใบ

พืชที่ศึกษาส่วนใหญ่ไม่พบผลึกในเนื้อเยื่อชั้นผิว ยกเว้น *L. indica* และ *T. scandens* ที่มีผลึกรูปดาวและผลึกรูปเข็ม ตามลำดับ ส่วนบริเวณคอร์เทกซ์ของพืชส่วนใหญ่พบ

ผลึกรูปดาวแบบเดี่ยว (Figure 3 A-D) และใน *D. ensifolia* มีผลึกแบบปริซึมแบบเดี่ยว ส่วน *Ar. harmandii*, *Su. multiflora* และ *X. vielana* พบทั้งผลึกรูปดาวและผลึกรูปปริซึม พืชที่ไม่พบผลึกบริเวณคอร์เทกซ์ คือ *P. evecata*, *Sp. lefevrei* และ *T. scandens* ในบริเวณมัดท่อลำเลียงของพืชส่วนใหญ่ไม่พบผลึก ยกเว้น *B. siamensis*, *G. floribunda*, *Mi. tomentosa* และ *S. chinensis* (Figure 3 E) ที่พบผลึกรูปดาว ส่วนใน *D. ensifolia* พบผลึกรูปปริซึม และพบทั้งผลึกรูปดาวและผลึกรูปปริซึมใน *Su. multiflora* (Figure 3 F)

ผลึกทั้งสามรูปแบบที่พบในการศึกษาค้างนี้ทั้งผลึกรูปดาว รูปเข็ม และรูปปริซึม เป็นรูปแบบทั่วไปที่สามารถพบได้ทั้งในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ [2] ซึ่งพืชแต่ละชนิดจะมีการสร้างผลึกที่หลากหลาย อาจมีผลึกเป็นแบบเดี่ยวที่พบทั่วทุกส่วนของพืช หรือมีหลายแบบโดยแต่ละแบบจะเฉพาะเจาะจงในแต่ละอวัยวะ หรืออาจพบในอวัยวะเดียวกัน แต่ต่างเนื้อเยื่อ [1] การศึกษาค้างนี้พบผลึกรูปเข็มเฉพาะใน *T. scandens* แตกต่างจากการศึกษาของ Pennisi et al. [22] ที่รายงานว่าผลึกรูปเข็มเป็นรูปแบบทั่วไปที่พบมากที่สุดในพืช เมื่อเทียบกับผลึกรูปดาวและรูปแท่ง แต่สอดคล้องกับการศึกษาของ Capacio and Belonias [17] ที่รายงานการพบผลึกในพืชส่วนใหญ่เป็นรูปดาว

จากรูปแบบของผลึก สามารถจำแนกกลุ่มพืชที่ศึกษาออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่มีเฉพาะผลึกรูปดาว ได้แก่ *A. godefroyanum*, *B. siamensis*, *C. flexuosa*, *Ca. tomentosa*, *Cy. fragrans*, *G. floribunda*, *L. indica*, *M. edule*, *Mi. tomentosa*, *O. integerrima*, *P. evecata*, *S. chinensis* และ *Sp. lefevrei* (2) กลุ่มที่มีเฉพาะผลึกรูปปริซึม ได้แก่ *D. ensifolia* (3) กลุ่มที่มีเฉพาะผลึกรูปเข็ม ได้แก่ *T. scandens* และ (4) กลุ่มที่มีผลึกรูปปริซึมและผลึกรูปดาวร่วมกัน ได้แก่ *Ar. harmandii*, *Su. multiflora* และ *X. vielana* เมื่อพิจารณาเฉพาะรูปแบบของผลึกอย่างเดียว พบว่าสามารถใช้ระบุชนิดของ *D. ensifolia* และ *T. scandens* ได้ แต่เมื่อนำกลุ่มที่ได้ไปเปรียบเทียบกับการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานในระดับสกุลและวงศ์ ยังไม่สามารถยืนยันการนำลักษณะดังกล่าวมาใช้กับกลุ่มพืชที่ศึกษาได้ เนื่องจากจำนวนตัวอย่างพืชที่เป็นตัวแทนของการศึกษาค้างนี้ยังมีน้อย อย่างไรก็ตาม เคยมีรายงานการนำรูปแบบของผลึกไปใช้จัดจำแนกในกลุ่มพืชระดับอนุกรมวิธานต่ำกว่าวงศ์ได้หลายวงศ์ เช่น วงศ์ทานตะวัน [23] วงศ์ไทร (Moraceae) [24] และวงศ์ผักปลาบ (Commelinaceae) [25]

เมื่อนำรูปแบบมาใช้พิจารณาเกี่ยวกับการกระจายของผลึกในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของแผ่นใบและก้านใบ สามารถใช้ลักษณะดังกล่าวระบุชนิดของพืชในกลุ่มที่ศึกษา ได้แก่ *Ar. harmandii*, *B. siamensis*, *D. ensifolia*, *L. indica*, *P. eveceta*, *S. chinensis*, *T. scandens* และ *X. vielana* ส่วนพืชที่เหลือไม่สามารถระบุชนิดได้ เนื่องจากพืชบางชนิดมีลักษณะของผลึกที่คล้ายกัน และเมื่อพิจารณาในระดับวงศ์ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้มีตัวอย่างพืชวงศ์กระดังงา (Annonaceae) จำนวน 4 ชนิด ที่ได้ทำการศึกษา ได้แก่ *Ar. harmandii*, *P. eveceta*, *Sp. lefevrei* และ *X. vielana* พบพืชกลุ่มนี้มีลักษณะร่วมกันคือการมีผลึกรูปดาวที่เนื้อเยื่อชั้นผิว แต่ยังไม่สามารถใช้ลักษณะดังกล่าวจำกัดขอบเขตของวงศ์ได้ เนื่องจากมีพืชอีกสองวงศ์ที่มีลักษณะเดียวกันคือวงศ์มะม่วง (Anacardiaceae) และวงศ์องุ่น (Vitaceae) จึงควรมีการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ด้านอื่นประกอบด้วย เช่น ลักษณะเนื้อเยื่อชั้นผิว การเรียงตัวของเซลล์ในเนื้อเยื่อพื้น รูปแบบของเนื้อเยื่อลำเลียง และสารผสมชนิดอื่น

บริเวณที่พบการกระจายของผลึกแคลเซียมออกซาเลตมากที่สุดคือชั้นมีโซฟิลล์ของแผ่นใบและบริเวณคอร์เทกซ์ของก้านใบ มีข้อสมมติฐานหลายประการเกี่ยวกับการสร้างผลึกบริเวณนี้ เช่น ผลึกแคลเซียมออกซาเลตที่สังเคราะห์ขึ้นในคลอโรพลาสต์ (Chlorenchyma) ที่เก็บไว้ในแวคิวโอลมีผลต่อการสะท้อนและการกระจายของแสง ทำให้เซลล์คลอโรพลาสต์ในบริเวณต่าง ๆ ของชั้นมีโซฟิลล์ได้รับแสงอย่างทั่วถึง ส่งผลช่วยให้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น [1] นอกจากนี้ ผลึกที่มีลักษณะแหลมคม ยังช่วยปกป้องใบพืชจากแมลงหรือสัตว์กินพืชได้ด้วย [26] ส่วนที่บริเวณเนื้อเยื่อลำเลียงเป็นตำแหน่งที่พบผลึกแคลเซียมออกซาเลตรองลงมาจากรากชั้นมีโซฟิลล์ เกิดจากแคลเซียมที่มีการลำเลียงจากรากผ่านไซเล็มไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช เมื่อมีปริมาณมากเกินไปจะเกิดการตกตะกอนและสะสมในบริเวณเนื้อเยื่อลำเลียง [27] ส่วนในเนื้อเยื่อชั้นผิว พบจำนวนพืชที่มีการสะสมผลึกน้อยกว่าบริเวณอื่น อาจเนื่องจากเซลล์ในเนื้อเยื่อส่วนใหญ่ไม่มีคลอโรพลาสต์ (Chloroplast) จึงเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมต่ำ อย่างไรก็ตาม มีการรายงานถึงเซลล์คุมของปากใบ ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีคลอโรพลาสต์ จะมีกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ส่งผลให้มีการสังเคราะห์แคลเซียมออกซาเลตเกิดขึ้น และมีความสัมพันธ์กับการเปิดปิดของปากใบด้วย [28]

ผลการศึกษาครั้งนี้ได้สนับสนุนงานวิจัยก่อนหน้านี้ [9], [15]-[18] ที่แสดงให้เห็นว่ารูปแบบและการกระจายของผลึก

แคลเซียมออกซาเลตในพืชสมุนไพรส่วนใหญ่มีความแตกต่างกัน อาจพบทั่วทุกส่วนหรือเฉพาะบางส่วนของพืช ถือเป็นเครื่องมือสำคัญที่สามารถนำลักษณะดังกล่าวไปประยุกต์ใช้เพื่อตรวจสอบหรือรับรองความบริสุทธิ์ของพืชสมุนไพรบางชนิดในกลุ่มที่ศึกษาที่มีสภาพเป็นผงหรือมีเฉพาะส่วนของใบ ตลอดจนเป็นข้อมูลประกอบเพื่อพิจารณาการนำกลุ่มพืชที่ศึกษาไปใช้เป็นพืชสมุนไพร โดยเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่มีการสะสมของแคลเซียมออกซาเลตในร่างกายสูง

แม้ว่ารูปแบบและการกระจายของผลึกแคลเซียมออกซาเลตจะสามารถช่วยระบุชนิดหรือการจัดจำแนกพืชในบางกลุ่มดังที่ได้กล่าวถึงข้างต้น การพิจารณาข้อมูลต้องคำนึงถึงพื้นที่การกระจายพันธุ์ของพืชที่ศึกษาด้วย เนื่องจากลักษณะทางพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม เช่น ความเข้มข้นของแคลเซียม แสง และสภาพความเป็นกรดเป็นด่างในดิน ยังมีส่วนสำคัญที่จะเป็นตัวกำหนดปริมาณ รูปแบบ ขนาด และหน้าที่ของผลึก [1], [2] ดังนั้น จึงควรมีการจัดทำข้อมูลสำหรับพืชสมุนไพรแต่ละชนิดในแต่ละสภาพแวดล้อมให้มีความครอบคลุม เพื่อความเหมาะสมในการประยุกต์ใช้ประโยชน์ต่อไป

4. บทสรุป

จากการศึกษารูปร่างและการกระจายของผลึกในพืชสมุนไพรบริเวณจังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 18 ชนิด จำแนกเป็น 18 สกุล 15 วงศ์ พบรูปร่างของผลึกในพืชตัวอย่าง 3 แบบ ได้แก่ ผลึกรูปดาว ผลึกรูปปริซึม และผลึกรูปเข็ม โดยการกระจายของผลึกพบบริเวณที่มีผลึกมากที่สุดคือบริเวณคอร์เทกซ์ของก้านใบ ชั้นมีโซฟิลล์ บริเวณเนื้อเยื่อลำเลียง และบริเวณเนื้อเยื่อชั้นผิว ตามลำดับ ทั้งนี้ พบผลึกในส่วนของก้านใบมากกว่าในแผ่นใบ ซึ่งลักษณะของผลึกที่ศึกษาในครั้งนี้ไม่สามารถนำไปใช้ในการสร้างรูปวิธานสำหรับการระบุชนิดของพืชที่ศึกษาได้ เนื่องจากพืชส่วนใหญ่มีลักษณะการมีผลึกที่คล้ายกัน ทั้งรูปแบบและตำแหน่งที่มีการกระจาย แต่อย่างไรก็ตาม สามารถนำลักษณะดังกล่าวไปใช้ในการจำกัดขอบเขตชนิดของพืชที่ศึกษาในบางชนิดที่มีลักษณะของผลึกที่จำเพาะได้ และสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลเบื้องต้นในการรายงานถึงชนิดและตำแหน่งที่พบผลึกในพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่ศึกษา

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาเฉพาะพืชสมุนไพรบางชนิดที่พบในจังหวัดอุบลราชธานีเท่านั้น ยังมีพรรณไม้อีกหลายชนิดที่ยังขาดข้อมูล ในอนาคตจึงควรมีการศึกษาจำนวนชนิดพืชเพิ่มเติม เพื่อสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการระบุชนิดได้

อย่างครอบคลุม อีกทั้งยังควรเพิ่มจำนวนชนิดของพืชในแต่ละกลุ่มทั้งในระดับวงศ์และสกุลให้มีความหลากหลายมากขึ้น ซึ่งอาจพบลักษณะความแปรผันที่สามารถใช้สนับสนุนการจัดจำแนกในการศึกษาด้านอนุกรมวิธานพืชได้อีกด้วย นอกจากนี้ควรมีการศึกษากายวิภาคศาสตร์ด้านอื่นประกอบ เพื่อให้ข้อมูลของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดในพื้นที่ที่มีความสมบูรณ์มากขึ้น เช่น การศึกษากายวิภาคศาสตร์ของแผ่นใบ ก้านใบ ลำต้น และเนื้อไม้ ซึ่งลักษณะดังกล่าวมีความสำคัญสามารถใช้เป็นเอกลักษณ์ทางเภสัชเวท หรือการประยุกต์เพื่อควบคุมคุณภาพของยาสมุนไพรได้ [6]-[8]

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับงานวิจัย

6. References

- [1] Franceschi, V.R. and Nakata, P.A. 2005. Calcium oxalate in plants: formation and function. **Annual Review of Plant Biology**. 56: 41-71.
- [2] Franceschi, V.R. and Horner, H.T. Jr. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. **The Botanical Review**. 46: 361-427.
- [3] Molano-Flores, B. 2001. Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). **Annals of Botany**. 88: 387-391.
- [4] Ilarslan, H., Palmer, R.G. and Horner, H.T. Jr. 2001. Calcium oxalate crystals in developing seeds of soybean. **Annals of Botany**. 88(2): 243-257.
- [5] Tilton, V.R. and Horner, H.T. Jr. 1980. Calcium oxalate raphide crystals and crystalliferous idioblasts in the carpels of *Ornithogalum caudatum*. **Annals of Botany**. 46: 533-539.
- [6] Cutter, E.G. 1978. **Plant Anatomy: Cells and Tissues Pt. 1: Experiment and Interpretation (Contemporary Biology)**. 2nd edition. London: Hodder & Stoughton.
- [7] Esau, K. 1977. **Anatomy of Seed Plants**. 2nd edition. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc.
- [8] Fahn, A. 1982. **Plant Anatomy**. 3rd edition. Oxford: Pergamon Press.
- [9] Genua, T.M. and Hillson, C.J. 1985. The occurrence, type and location of calcium oxalate crystals in the leaves of fourteen species of Araceae. **Annals of Botany**. 56: 351-361.
- [10] Ilarsan, H. and et al. 1997. Quantitative determination of calcium oxalate and oxalate in developing seeds of soybean (Leguminosae). **American Journal of Botany**. 84(8): 1042-1046.
- [11] Prychid, C.J. and Rudall, P.J. 1999. Calcium oxalate crystals in monocotyledons: a review of their structure and systematics. **Annals of Botany**. 84: 725-739.
- [12] Anitha, R. and Sandhiya, T. 2014. Occurrence of calcium oxalate crystals in the leaves of medicinal plants. **International Journal of Pharmacognosy**. 1(6): 389-393.
- [13] Odufuwa, T.K. and et al. 2014. Juicing alters oxalates contents in commonly consumed leafy vegetables in Southwest Nigeria. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**. 3(3): 183-186.
- [14] Kartal, C. 2016. Calcium oxalate crystals in some species of the tribe Cardueae (Asteraceae). **Botanical Sciences**. 94(1): 107-119.
- [15] Munuswamy, E., Krishnan, V. and Amerjothy, S. 2016. Occurrence, type and location of calcium oxalate crystals in selected medicinal plants. **Journal of Applied and Advanced Research**. 1(4): 21-24.
- [16] El-Zaidy, M. and Alsahli, A.A. 2021. Occurrence of calcium oxalate crystals in some wild plants used in traditional medicine in Saudi Arabia. **Journal of Medicinal Plants Research**. 15(2): 96-107.
- [17] Capacio, A.F.Z. and Belonias, B.S. 2018. Occurrence and variation of calcium oxalate crystals in selected medicinal plant species. **Annals of Tropical Research**. 40(2): 45-60.

- [18] Huang, J., Huang, C. and Liebman, M. 2015. Oxalate contents of commonly used Chinese medicinal herbs. **Journal of Traditional Chinese Medicine**. 35(5): 594-599.
- [19] Kesonbua, K. and Kodkaew, Y. 2022. Leaf epidermal anatomy for the identification of some medicinal plant in Ubon Ratchathani University. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University**. 24(1): 17-33. (in Thai)
- [20] Khoomgratok, S. and et al. 2006. Examination of calcium oxalate from indigenous vegetable. **Agricultural Science Journal**. 37(6) (Suppl): 189-192. (in Thai)
- [21] Piwpuan, N. 2014. Calcium oxalate crystals and oxalate content in some vegetables from Nong Khai province. **KKU Science Journal**. 42(4): 820-829. (in Thai)
- [22] Pennisi, S.V. and et al. 2002. Intercellular calcium oxalate crystal structure in *Dracanea sanderiana*. **New Phytologist**. 150(1): 111-120.
- [23] Meric, C. 2009. Calcium oxalate crystals in some species of the tribe Inuleae (Asteraceae). **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**. 51(1): 105-110.
- [24] Wu, C.C. and Kuo-Huang, L.L. 1997. Calcium crystals in the leaves of some species of Moraceae. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**. 38: 97-104.
- [25] Edeoga, H.O. and Ugbo, H.N. 1997. Histochemical localization of calcium oxalate crystals in leaf epidermis of some *Commelina* L. (Commelinaceae) and its Bearing on Taxonomy. **Acta Phytotaxonomica et Geobotanica**. 48(1): 23-30.
- [26] Franceschi, V. 2001. Calcium oxalate in plants. **Trends in Plant Science**. 6(7): 331.
- [27] Borrelli, N, Benvenuto, M.L. and Osterrieth, M. 2016. Calcium oxalate crystal production and density at different phenological stages of soybean plants (*Glycine max* L.) from the southeast of the Pampean Plain, Argentina. **Plant Biology**. 18(6): 1016-1024.
- [28] Klomklaeng, T.S. and Cha-um, S. 2019. Physiological, organic and inorganic biochemical changes in the leaves of Elephant Ear (*Colocasia esculenta* Schott var. *aquatillis*). **The Horticulture Journal**. 88(4): 499-506.

Table 1 Types and distribution of calcium oxalate crystals found in leaves of the selected medicinal plants

Scientific name	Native name	Family	Collector number	Leaf blade			Petiole		
				Epidermis	Mesophyll	Vascular tissue	Epidermis	Cortex	Vascular tissue
<i>Akschindlium godefroyanum</i> (Kuntze) H.Ohashi	ไผ่หิน	Fabaceae	Tanuchon 001	-	Dr	Dr	-	Dr	-
<i>Artabotrys harmandii</i> Finet & Gagnep.	นมวัว	Annonaceae	Tanuchon 002	Dr	-	-	-	Dr, Pr	-
<i>Buchanania siamensis</i> Miq.	ธนนไชย	Anacardiaceae	Tanuchon 003	Dr	Dr	Dr	-	Dr	Dr
<i>Casearia flexuosa</i> Craib	มะแตกตัน	Salicaceae	Tanuchon 004	-	Dr	Dr	-	Dr	-
<i>Catunaregam tomentosa</i> (Blume ex DC.) Tirveng.	มะเค็ด	Rubiaceae	Tanuchon 005	-	Dr	-	-	Dr	-
<i>Cyrtophyllum fragrans</i> (Roxb.) DC.	กันเกรา	Gentianaceae	Tanuchon 006	-	Dr	-	-	Dr	-
<i>Dianella ensifolia</i> (L.) DC.	หญ้าหนวด	Xanthorrhoeaceae	Tanuchon 007	-	Pr	Pr	-	Pr	Pr
<i>Getonia floribunda</i> Roxb.	ติ่งติ่ง	Combretaceae	Tanuchon 008	-	Dr	Dr	-	Dr	Dr
<i>Leea indica</i> (Burm. f.) Merr.	กะดังใบ	Vitaceae	Tanuchon 009	Dr	Dr	-	Dr	Dr	-
<i>Memecylon edule</i> Roxb.	พลองเหมือด	Melastomataceae	Tanuchon 010	-	Dr	-	-	Dr	-
<i>Microcos tomentosa</i> Sm.	พลับพล	Malvaceae	Tanuchon 011	-	Dr	Dr	-	Dr	Dr
<i>Ochna integerrima</i> (Lour.) Merr.	ช้างน้ำว	Ochnaceae	Tanuchon 012	-	Dr	-	-	Dr	-
<i>Polyalthia evecta</i> (Pierre) Finet & Gagnep.	กล้วยเต่า	Annonaceae	Tanuchon 013	Dr	-	-	-	-	-
<i>Salacia chinensis</i> L.	กำแพงเจ็ดชั้น	Celastraceae	Tanuchon 014	-	Dr	Dr	-	Dr	Dr
<i>Sphaerocoryne lefevrei</i> (Baill.) D. M. Johnson & N. A. Murray	ลำตวน	Annonaceae	Tanuchon 015	Dr	-	-	-	-	-
<i>Suregada multiflora</i> (A. Juss.) Baill.	ขึ้นทองพญาบาท	Euphorbiaceae	Tanuchon 016	-	Dr	Dr	-	Dr, Pr	Dr, Pr
<i>Tetracera scandens</i> (L.) Merr.	รสสุคนธ์	Dilleniaceae	Tanuchon 017	-	Rh	-	Rh	-	-
<i>Xylopi velana</i> Pierre	กล้วยน้อย	Annonaceae	Tanuchon 018	Dr	-	-	-	Dr, Pr	-

Dr = druse crystals; Pr = prismatic crystals; Rh = raphide crystals

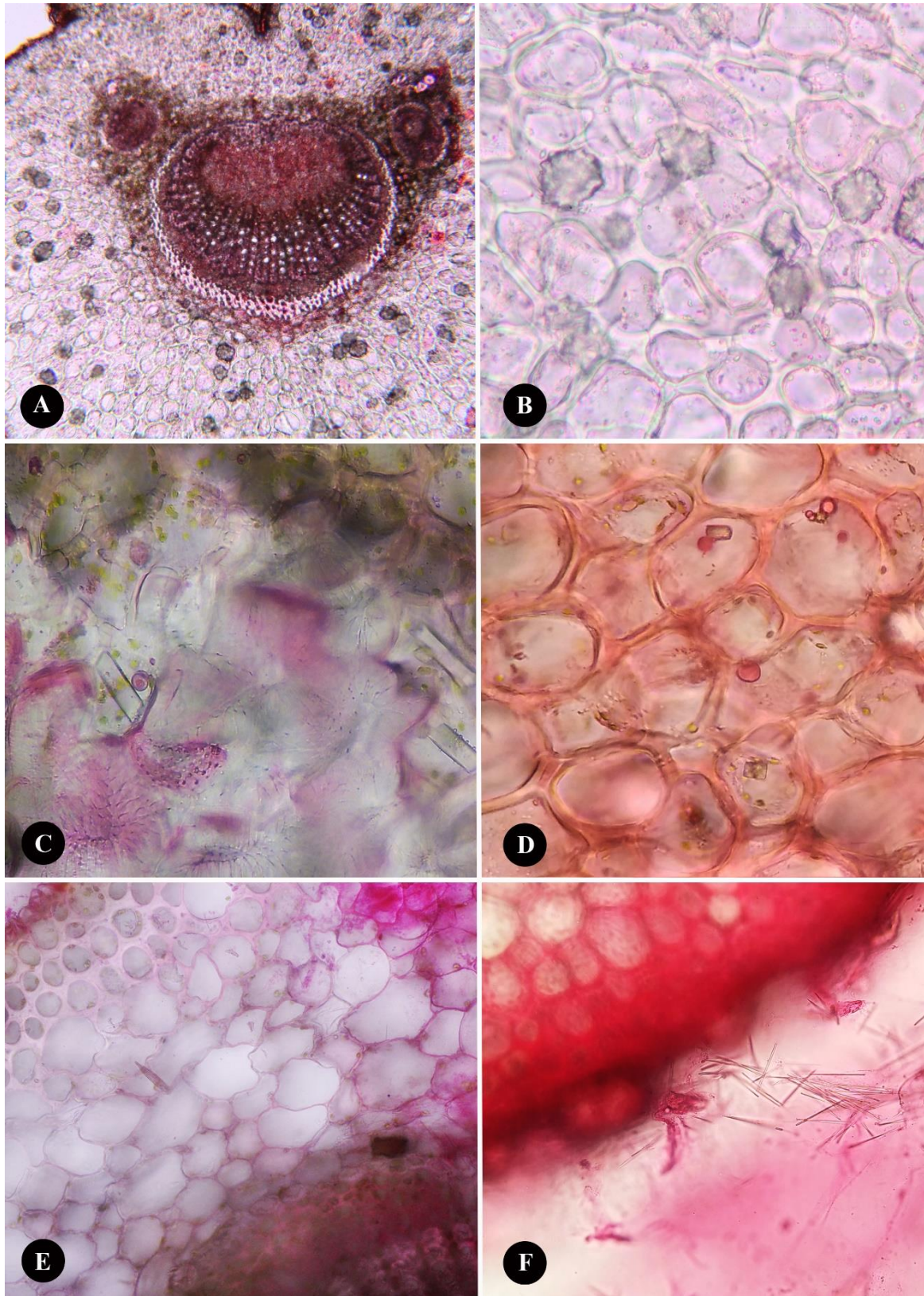


Figure 1 Types of calcium oxalate crystals in the selected medicinal plants

A. and B. druse crystals (*Memecylon edule*); C. and D. prismatic crystals (C. *Artabotrys harmandii* and D. *Xylopia vielana*); E. and F. raphide crystals (*Tetracera loureireii*); scale = 50 micrometers.

(Co = collenchyma cell, Dr = druse crystals, Pa = parenchyma cell, Pr = prismatic crystals, Ra = raphide crystals)

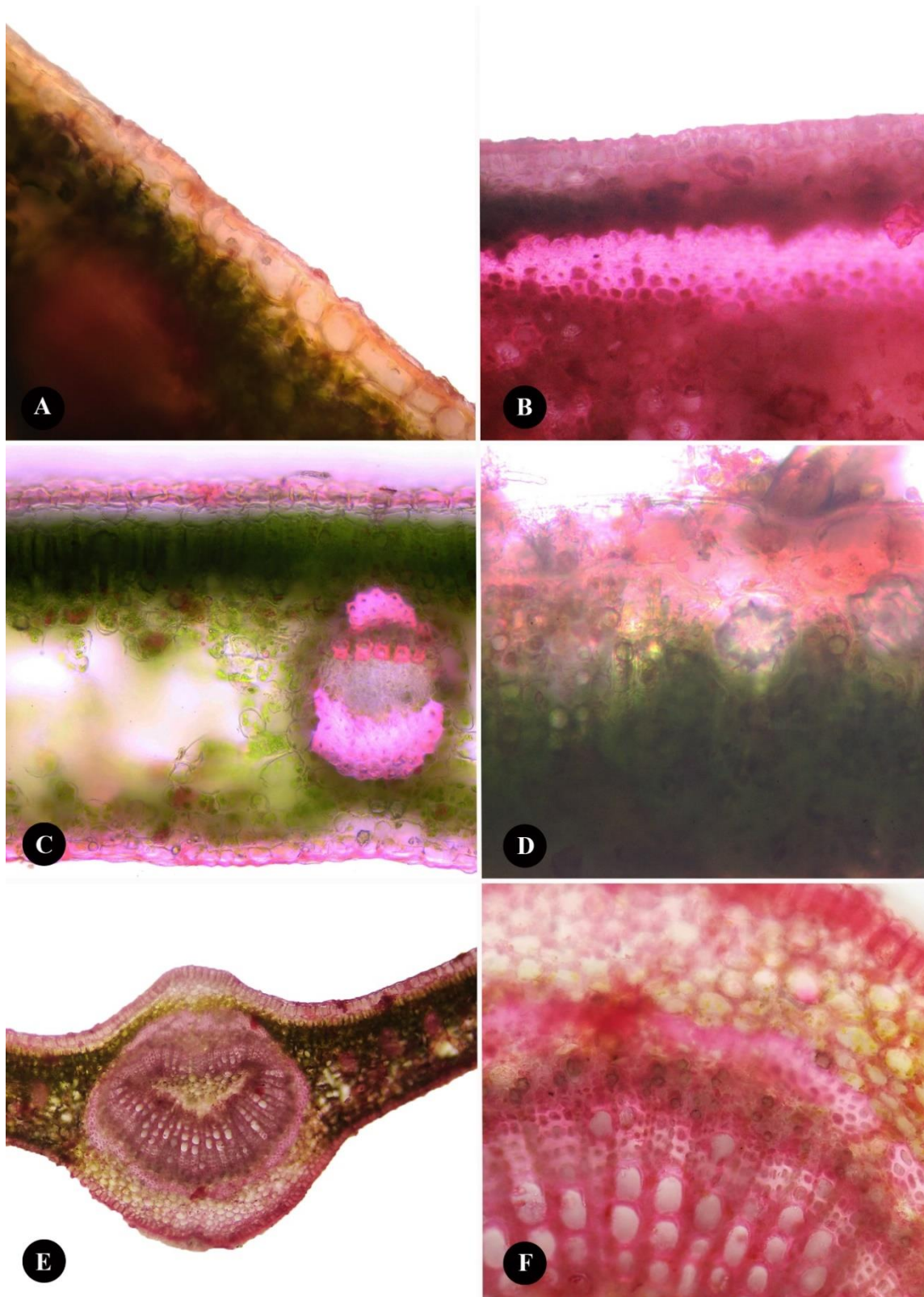


Figure 2 Distribution of calcium oxalate crystals in leaf blades of the selected medicinal plants
 A. and B. epidermis (A. *Artabotrys harmandii* and B. *Sphaerocoryne lefevrei*); C. and D. mesophyll (C. *Suregada multiflora* and D. *Catunaregam tomentosa*); E. and F. vascular tissue of the main vein (*Salacia chinensis*); scale = 50 micrometers.
 (Dr = druse crystals, Ep = epidermis, Fi = fiber, Ph = phloem, Pl = palisade, Sp = spongy, Va = vascular tissue, Xy = xylem)

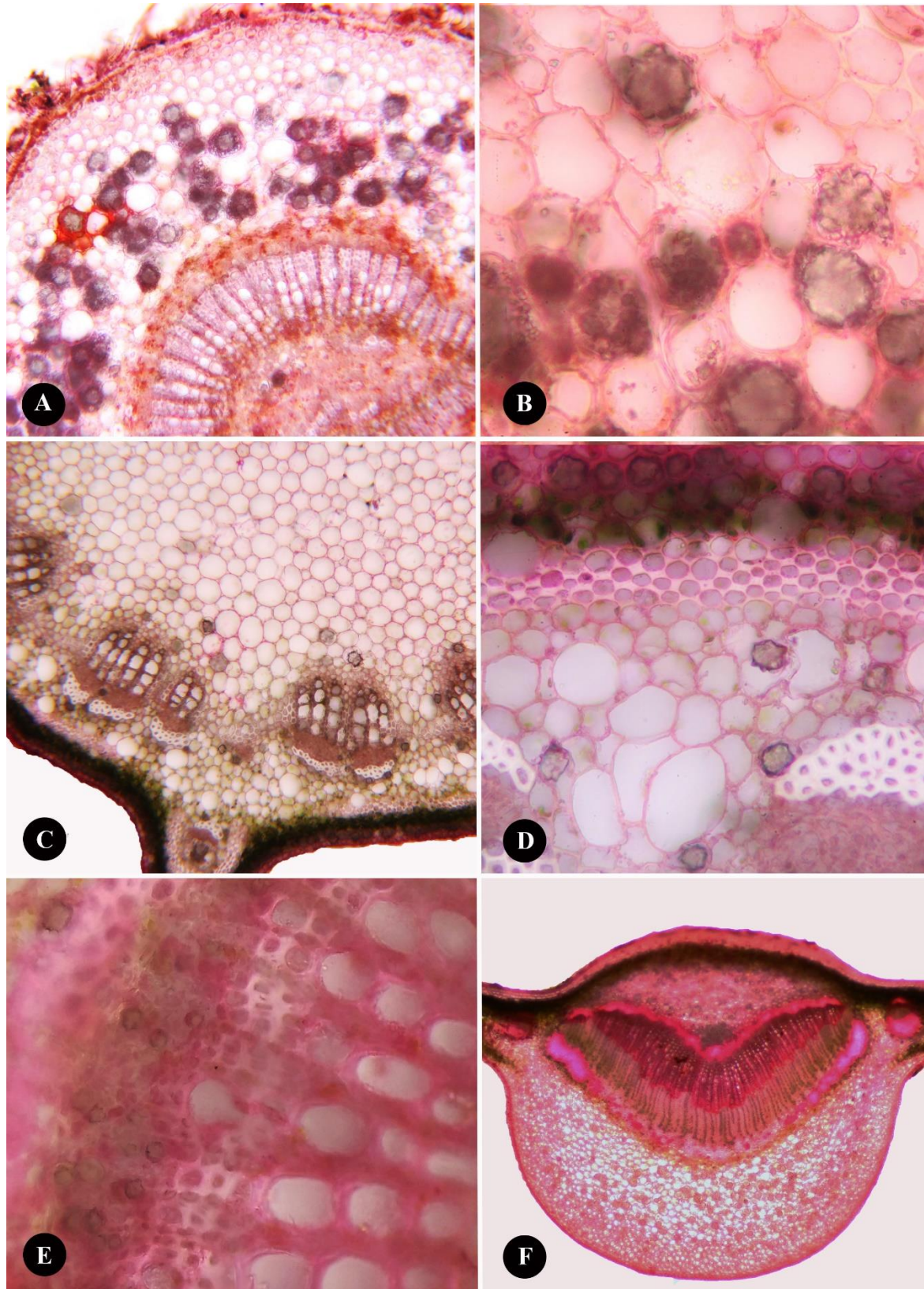


Figure 3 Distribution of calcium oxalate crystals in petioles of the selected medicinal plants
A.-D. crystals in ground tissue (A. and B. *Catunaregam tomentosa* and C. and D. *Leea indica*);
E. and F. crystals in vascular tissue (E. *Salacia chinensis* and F. *Suregada multiflora*); scale = 50 micrometers.
(Dr = druse crystals, Pa = parenchyma cell, Ph = phloem, Va = vascular tissue and Xy = xylem)