บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้รองเท้านารีจัดไว้ในวงศ์ Orchidaceae วงศ์ย่อย Cypripedioideae ซึ่งประกอบด้วย 4 สกุล (Genus) (*Paphiopedilum*, *Cypripedium*, *Phragmipedium* และ *Selenepedium*) (Dressler, 1993; Soon, 1989) หรือ 5 สกุล ซึ่งรวม *Criosanthes* ไว้ด้วย [Atwood, 1984 (อ้างจาก Cribb, 1987)] สำหรับกล้วยไม้รองเท้านารีที่พบในประเทศไทยทั้งหมดจัดอยู่ในสกุล *Paphiopedilum* (ระพี, 2535) ซึ่งในอดีตก่อนปีคริสตศักราช 1886 *Paphiopedilum* ถูกจัดอยู่ในสกุล *Cypripedium* ต่อมา Ernst Hugo Heinrich Pfitzer ซึ่งเป็นนักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมันได้จัดให้ *Paphiopedilum* แยกเป็นสกุลใหม่ต่างหาก โดยอาศัยระบบการจัดจำแนกทางสัณฐานวิทยา และลักษณะการเจริญเติบโต (Cribb, 1987; Cootes, 2001)

กล้วยไม้รองเท้านารีมีแหล่งกำเนิดอยู่ในเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยมีการกระจายพันธุ์นับจากแนวเทือกเขาหิมาลัยลงมาสู่ตอนล่าง ตั้งแต่ประเทศจีนตอนใต้ อินเดีย พม่า ไทย ลาว เวียตนาม มาเลเซีย อินโดนีเซีย และ ฟิลิปปินส์ (ระพี, 2535) ไปถึงปาปัวนิวกินี (Soon, 1989) และเกาะโซโลมอน (Cribb, 1987) กล้วยไม้รองเท้านารีมีชื่อที่รู้จักกันโดยทั่วไป คือ Venus slipper orchid, Lady slipper orchid หรือ Slipper Orchid เพราะลักษณะพิเศษที่ปาก (Lip) มีรูปร่างคล้ายรองเท้าของผู้หญิง ซึ่งในมาเลเซียมีภาษาถิ่นเรียก *Paphiopedilum barbatum* ว่า Bunga Kasut ซึ่งแปลว่าดอกไม้ที่มีลักษณะเหมือนรองเท้า (Soon, 1989)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้รองเท้านารี เป็นกล้วยไม้ประเภทฐานร่วม (sympodium) คือเจริญเติบโตโดยแตกหน่อใหม่จากตาข้างของต้นเดิมเพื่อสร้างช่อดอก ลำต้นสั้นมาก ไม่มีลำลูกกล้วย ปกติในสภาพธรรมชาติที่พบกล้วยไม้สกุลนี้ มักอาศัยอยู่บนพื้นดินและพื้นหินที่มีใบไม้ผุและหินผุปกคลุมเป็นชั้นหนามากพอสมควร มีบางชนิดที่อาศัยขึ้นบนพื้นผิวของต้นไม้ โดยพบได้ในประเทศร้อนชื้นหรือกึ่งร้อน ในสภาพภูมิประเทศที่เป็นภูเขามีระดับพื้นที่สูงเหนือระดับน้ำทะเลมากๆ หรือขึ้นตามซอกผาหินที่มีซากใบไม้ผุทับถมอยู่เป็นเวลานานหลายปี (ระพี, 2535)

Cribb (1987) กล่าวไว้ว่า มีกล้วยไม้รองเท้านารี 5 ชนิดที่มีการเจริญเติบโตอยู่เหนือพื้น คือ *P. parishii* และ *P. lowii* ที่มักพบว่าเจริญเติบโตแบบอิงอาศัย (epiphytic) บนต้นไม้เสมอ ในขณะที่ *P. hirsutissimum*, *P. villosum* และ *P. glanduliferum* มีการเจริญแบบกึ่งอิงอาศัย (facultative

epiphytic) ส่วนชนิดอื่นๆ ที่เหลือเป็นพวกที่เจริญบนพื้นดิน (terrestrial) หรือไม่ก็เจริญบนหิน (lithophytic) ส่วนมากพบว่ากล้วยไม้รองเท้านารี เจริญอยู่เป็นกลุ่มเล็กๆ ซึ่งรากของมันจะชอนไชไปบนพื้นที่ปกคลุมด้วยใบไม้ และพบว่ากล้วยไม้รองเท้านารีบางชนิดของสกุลย่อย (Subgenus) *Brachypetalum* มักหยั่งรากลึกลงไปจนถึงพื้นซึ่งเป็นหินปูน กล้วยไม้รองเท้านารีในกลุ่ม *Brachypetalum* เป็นพวกที่ชอบแคลเซียม (calcicoles) มักพบว่าเจริญเติบโตบนพื้นที่มีหินปูน โดยปกติอยู่บนพื้นที่ที่เป็นแอ่งตื้นๆที่มีหินที่เกิดจากการกัดเซาะ และมีรายงานว่าพบ *P. concolor* เจริญได้บนพื้นทรายที่มีหินปูนในประเทศไทย ส่วนกล้วยไม้รองเท้านารี ที่อยู่ในหมู่ (Section) *Paphiopedilum* เช่น *P. fairrieanum* และ *P. spicerianum* พบว่าเจริญบนพื้นดินและกรวดที่มีหินปูนอยู่ และพบว่าในหมู่ *Coryopedilum* เช่น *P. stonei, P. supardii* และ *P. sanderianum* มักเจริญอยู่บนหินปูนเสมอ ส่วนชนิดที่อยู่ในหมู่ *Cochlopetalum* ที่มักพบในสุมาตรา และชวา พบว่าเจริญบนพื้นหินปูนหรือบริเวณที่มีหินปูนมากๆ ในหมู่ *Barbata* มีเพียงชนิดเดียวที่ถูกบันทึกไว้ว่าเจริญบนพื้นหินปูน คือ *P. hookerae* ในกาลิมันตัน และซาราวัค อย่างไรก็ตามในซาบาห์ พบว่า *P. hookerae* เจริญอยู่บนพื้นหลายชนิด สำหรับกล้วยไม้รองเท้านารีชนิดหลักๆในหมู่ *Barbata* พบว่าเจริญในบริเวณที่มีการทับถมของใบไม้บนพื้นหลายๆชนิดตั้งแต่บนพื้นแกรนิตจนถึงกรวดภูเขาไฟ และยังมีรายงานว่าพบ *P. callosum* เจริญได้บนพื้นทรายในประเทศไทย

Cribb (1987) กล่าวว่า กล้วยไม้รองเท้านารี สามารถเจริญได้ในหลายพื้นที่ ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงที่ระดับความสูงประมาณ 2,300 เมตร กล้วยไม้รองเท้านารีส่วนใหญ่เจริญเติบโตในป่าผลัดใบตามฤดูกาลหรือในป่าไม่ผลัดใบ โดยมักพบตามพื้นป่าที่มีร่มเงา มีเพียง 2 – 3 ชนิด เช่น *P. exul* และ *P. philippinense* ที่เจริญได้ในบริเวณที่ได้รับแสงอาทิตย์โดยตรง หรือบางชนิด เช่น *P. niveum, P. philippinense* และ *P. rothschildianum* ซึ่งเจริญในที่เปิดโล่ง และได้รับแสงอาทิตย์โดยตรงในหลายช่วงของวัน ในทางตรงกันข้ามบางชนิดที่มีใบลายมักเจริญอยู่ในบริเวณที่มีร่มเงามาก หรือบริเวณที่ไม่ได้รับแสงอาทิตย์โดยตรง ในหลายพื้นที่ที่รองเท้านารีเจริญเติบโตในบริเวณที่มีฝนตกทำให้บริเวณนั้นมีความชื้นสูง แต่ฝนมักตกตามฤดูกาลเท่านั้น ดังนั้นมันจึงต้องมีการปรับตัวเพื่อให้อยู่รอดผ่านช่วงแล้ง โดยการมีใบที่มีลักษณะคล้ายหนังหนา และสามารถฟื้นตัวได้อย่างรวดเร็วเมื่อฤดูฝนมาเยือนอีกครั้ง

ลำต้น กล้วยไม้รองเท้านารีเกือบทั้งหมดมีลำต้นสั้นมาก แต่บางครั้งอาจพบบางชนิดที่มีลำต้นยืดยาว (Cribb, 1987)

ราก กล้วยไม้รองเท้านารีออกจากโคนต้นแล้วแผ่กระจายในแนวราบ มีขนาดใหญ่ สีน้ำตาลหรือสีสนิม และมีขนรากปกคลุมอย่างหนาแน่น (Cribb, 1987)

ใบ มีหลายแบบทั้งรูปขอบขนาน (oblong) รูปรี (elliptic) รูปแถบ (linear) ออกสลับกันทั้งสองข้างและซ้อนกัน จำนวน 3–5 ใบต่อต้น อาจตั้งขึ้นหรือแผ่ขนานไปกับพื้นดิน แผ่นใบหนา เส้นกลางใบพับเป็นร่อง ปลายใบมนเว้า หรือแหลม พื้นใบมีทั้งสีเขียวเป็นมัน เป็นลายตาราง หรือเป็นลายคล้ายหินอ่อน สีเขียวเข้มสลับกับสีเขียวอมเทาทั่วทั้งใบ ใต้ใบมีสีเขียว รองเท้านารีบางชนิดมีสีม่วงแดง หรือจุดเล็กๆสีม่วงแดง กระจายทั่วใบ โคนกาบใบอาจมีสีม่วงแดงเรื่อ (อบฉันท์, 2544)

ดอก ออกที่ปลายยอดโดยปกติช่อดอกของกล้วยไม้รองเท้านารีจะตั้งตรงหรือโค้ง จำนวนดอกขึ้นอยู่กับชนิด กล้วยไม้รองเท้านารีที่อยู่ในหมู่ *Coryopedilum*, *Pardalopetalum* และ *Cochlopetalum* ปกติมีดอกอย่างน้อย 3 ดอกต่อช่อ ส่วนกล้วยไม้รองเท้านารีในหมู่อื่นๆ ปกติมีดอกเดี่ยว แต่ถ้าได้รับการปลูกเลี้ยงอย่างดีมีหลายชนิดที่ให้ดอกได้ 2 ดอก แต่ลักษณะที่มีดอกได้ 2 ดอกต่อช่อ ปกติจะไม่พบในกล้วยไม้รองเท้านารีบางชนิด เช่น *P. barbatum* และ *P. callosum* แต่ในสกุลย่อย *Brachypetalum* ชนิดที่มีดอก 2 ดอก เป็นปกติพบใน *P. niveum*, *P. delenatii* และ *P. concolor* (Cribb, 1987) ก้านดอกรองเท้านารีอาจยาวหรือสั้น มีสีเขียว ม่วงแดง หรือน้ำตาลแดง และมักมีขนปกคลุม กาบรองดอกรูปไข่ หรือรูปหอกเรียวแหลม ห่อหุ้มรังไข่ไว้ มีสีเขียว น้ำตาลแดง หรือม่วงแดง และมีขนนุ่มปกคลุมอยู่ทั้งสองส่วน กลีบดอกบางชนิดหนาเป็นมันด้านในมีสีสันสวยงาม (อุไร, 2541)

ดอกรองเท้านารีประกอบด้วย

กลีบนอก หรือกลีบเลี้ยง (sepal) แบ่งเป็น 3 กลีบ คือ กลีบนอกบน (dorsal sepal) 1 กลีบ อยู่ส่วนบนของดอกและเห็นเด่นชัด ส่วนใหญ่มีปลายกลีบแหลมเห็นได้ชัด กลีบอาจแผ่แบนตั้งตรงหรือโค้งงุ้มมาด้านหน้า อีก 2 กลีบอยู่ด้านล่าง และมักเชื่อมติดกันเป็นชิ้นเดียวเรียกว่า กลีบนอกล่าง (synsepalum) ปลายกลีบนอกล่างมักแหลม ชี้ลง งุ้มน้อยกว่ากลีบนอกบน ถ้ามองจากด้านหน้าอาจไม่สามารถเห็นได้ เนื่องจากส่วนของปากบังไว้ หรืออาจเห็นได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น กลีบนอกล่างที่มีลักษณะแฝดติดกันจนกระทั่งหากดูเผินๆรู้สึกว่าเป็นเพียงกลีบเดียวซึ่งเป็นผลจากวิวัฒนาการของพืช บางครั้งเมื่อได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมธรรมชาติปลายกลีบอาจปรากฏแยกออกจากกันให้เห็นได้ แม้มิใช่กรณีที่พบได้บ่อยนัก (ระพี, 2535; Cribb, 1987)

กลีบใน หรือกลีบดอก (petal) มี 2 กลีบ ชี้ออกด้านข้างทั้งสองด้านมีขนาดและลักษณะเหมือนกัน อาจเป็นแถบ เรียวยาว กลม หรือป้อม แผ่นแบนบิดเป็นคลื่น หรืององุ้ม (อุไร, 2541) ในสกุลย่อย *Brachypetalum* กลีบดอกมีรูปทรงรีจนถึงกลมหรือกลมกว้าง กลีบดอกที่มีลักษณะเรียวยาวจากโคนถึงปลายพบได้ในกล้วยไม้รองเท้านารีทุกชนิดในหมู่ *Coryopedilum* ลักษณะพิเศษนี้เห็นได้ชัดใน *P. sanderianum* ซึ่งมีกลีบดอกบิดเป็นเกลียวยาว ในหมู่

Cochlopetalum กลีบดอกจะกางออก บิดและหยักเป็นคลื่น ขอบกลีบมักมีขนเส้นเล็กๆ นอกจากนี้บริเวณกลีบดอกอาจมี หรือไม่มีปุ่มนูนสีดำขึ้นมา (warts) เช่น ใน *P. barbatum* และ *P. lawrenceanum* และชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในกลุ่มนี้จะมี warts ที่เด่นมากอยู่ด้านบน หรือด้านล่างของขอบกลีบดอก ส่วนใน *P. superbiens* และ *P. ciliore* มี warts ที่เล็กกว่าพบทั่วไปบนผิวด้านในของกลีบดอก ในขณะที่ *P. sukhakulii* และ *P. wardii* จะมีปุ่มนี้กระจายทั่วผิวด้านในของกลีบดอก ส่วนกล้วยไม้รองเท้านารีชนิดอื่นๆนอกจากที่กล่าวมามีจุดนี้มากน้อย ใหญ่ หรือเล็กแตกต่างกันไป โดยปกติจุดเหล่านี้มีอยู่บริเวณโคนกลีบดอก (Cribb, 1987) กลีบในอีกกลีบหนึ่งซึ่งอยู่ด้านล่างของดอกหรือปาก (lip) ได้เปลี่ยนรูปเป็นถุงห้อยลงคล้ายหัวรองเท้า เรียกว่า กระเป๋า (pouch) (อบฉันท์, 2544) ปากนี้ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ mid-lobe จะเป็นส่วนที่เปลี่ยนไปเป็นถุงลึก และ side-lobes อีก 2 อันพับเข้าหากันบริเวณโคนของปาก โดยปากนี้สามารถแบ่งได้ 4 แบบ คือ แบบที่ 1 และ 2 พบในสกุลย่อย *Brachypetalum* ซึ่งมีลักษณะที่ปากพองออกและบาง มีสีสันสดใสพบในกล้วยไม้รองเท้านารีหมู่ *Parvisepalum* ลักษณะปากที่หนากว่าพบได้ในกล้วยไม้รองเท้านารีหมู่ *Brachypetalum* โดยลักษณะปากทั้ง 2 แบบนี้ขอบของปากจะม้วนเข้า แบบที่ 3 พบในกล้วยไม้รองเท้านารีหมู่ *Barbata*, *Cochlopetalum*, *Paphiopedilum* และ *Pardalopetalum* ขอบของปากไม่ม้วนเข้าแต่ side lobes จะโค้งเข้าจนกลายเป็นหลอดที่ฐานของปาก อย่างสุดท้ายแบบที่ 4 พบในกล้วยไม้รองเท้านารีหมู่ *Coryopedilum* side-lobes ลดรูปมากเหลือให้เห็นเป็นเพียงติ่งแหลมที่ชี้เข้าไปในปาก ปากของกล้วยไม้รองเท้านารีทำหน้าที่เหมือนกับดักที่คอยดักแมลงที่ตกลงไปไม่ให้หนีออกไปได้โดยตรง โดยข้างในจะมีขนที่เป็นเหมือนขั้นบันไดนำแมลงไต่ขึ้นไปออกจากถุง ขึ้นไปยังบริเวณฐานของปากเพื่อให้แมลงออกไปทางช่องซึ่งอยู่ด้านข้างแต่ละด้านของเส้าเกสร ผ่านใต้เกสรตัวเมีย และตัวผู้ตามลำดับ (Cribb, 1987)

ดอกกล้วยไม้รองเท้านารีเป็นดอกสมบูรณ์เพศ เกสรตัวผู้มีลักษณะเป็นก้อนค่อนข้างนิ่มคล้ายเนยมีเยื่อบางๆ หุ้มไว้ และมีสีเหลืองอ่อนๆเห็นได้สองข้างของเส้าเกสรข้างละอัน ขนาดประมาณเท่าหัวเข็มหมุด หรือเล็กกว่า เส้าเกสรในช่วงกลางๆ แยกออกไปเป็นสองปลาย ปลายหนึ่งยื่นลงสู่ด้านล่าง อีกปลายหนึ่งยื่นออกมาสู่ด้านหน้า ทั้งสองปลายมีชิ้นส่วนซึ่งมีลักษณะคล้ายโล่ (staminode) เป็นแผ่นปิดอยู่ตรงปลาย โล่ที่ยื่นสู่ด้านหน้ามีไว้เพื่อป้องกันเกสรตัวผู้ไม่ให้ถูกกระทบและเป็นอันตรายได้ง่าย ได้มีผู้สนใจพยายามนำลักษณะโล่ของกล้วยไม้รองเท้านารีแต่ละชนิดมาศึกษาความแตกต่าง เพื่อนำความรู้ไปใช้ประโยชน์ในการกำหนดความแตกต่างระหว่างชนิด อวัยวะอีกชิ้นส่วนหนึ่งที่มีลักษณะเป็นโล่เช่นกัน แต่อยู่ที่ปลายเส้าเกสร มีลักษณะชี้ลงสู่ด้านล่างคว่ำหน้าลง พื้นผิวด้านล่างคือยอดเกสรตัวเมีย (ระพี, 2535) มีลักษณะเป็นแผ่นนูนมีร่องเป็นแนวแบ่งออกเป็น 3 ส่วน

ฝัก เมื่อแก่มีสีน้ำตาล และแตกออกตามแนวยาว ภายในมีเมล็ดเล็กๆ มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลคล้ายฝุ่นสามารถปลิวไปตามลมได้ง่าย (อุไร, 2541) เมล็ดของกล้วยไม้รองเท้านารีมีหลายรูปแบบตั้งแต่รูปไข่ (ellipsoid) หรือรูปเล็กเรียวสั้น (shortly spindle-shaped) จนถึงรูปยาวเรียว (elongate) และรูปเล็กเรียวแคบ (narrowly spindle-shaped) (Cribb, 1987)

การจำแนกชนิด

Cribb (1987) ได้แบ่งกล้วยไม้สกุลนี้ออกเป็น 2 สกุลย่อย คือ

1. สกุลย่อย *Brachypetalum* โดยสกุลย่อยนี้พบได้ตั้งแต่ด้านตะวันตกเฉียงใต้ทางตอนใต้ของจีน และในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จนถึงทางตอนเหนือของมาเลเซีย ทุกชนิดพบว่าเจริญเติบโตบนพื้นที่ที่เป็นหินปูน หรือสถานที่ที่อุดมด้วยแคลเซียม สกุลย่อยนี้มีลักษณะเด่นคือ ดอกมีสีเหลืองข้าวโพด กลีบดอกรูปรีถึงค่อนข้างกลม กระเป๋ามักงองุ้มขอบมักม้วนเข้า ใบของทุกชนิดยกเว้น *P. emersonii* ผิวใบด้านบนเป็นลาย (tessellated) และใต้ใบมีจุดสีม่วง ทุกชนิดมีจำนวนโครโมโซม 2n = 26 ประกอบด้วย 2 หมู่ คือ

   1.1 หมู่ *Brachypetalum* พบในเขตร้อนบริเวณตะวันตกเฉียงใต้ของจีน ตะวันออกเฉียงเหนือของพม่า เวียตนาม ไทย และตอนเหนือของมาเลเซีย ใบมักเป็นลายแต้มหรือจุด ดอกสีขาว หรือเหลืองนวล มีจุดประสีม่วงเข้มบนกลีบ กลีบดอกหนารูปรีกว้าง กระเป๋าเป็นรูปไข่ โล่เป็นรูปไข่จนถึงรูปรีแนวขวาง และมีหยักคล้ายฟันฉลามที่ปลายด้านล่าง 1 หรือ 3 แฉก ทุกชนิดเจริญเติบโตบนพื้นหินปูน มี 4 ชนิด ได้แก่ *P. bellatulum, P. concolor, P. godefroyae* และ *P. niveum*

   1.2 หมู่ *Parvisepalum* พบบริเวณตะวันตกเฉียงใต้ของจีน และเวียตนาม ใบเป็นลายเห็นได้เด่นชัด มีทั้งดอกเดี่ยวและดอกเป็นช่อ ดอกมีขนาดใหญ่ กลีบดอกรูปรีกว้างถึงค่อนข้างกลมมี 2 ชนิด ที่มีเส้นสีม่วงเข้ม และจางลงบนกลีบ กลีบดอกมีหลายสี เช่น สีเหลืองข้าวโพด ชมพู และเขียวอ่อนขึ้นกับชนิด กระเป๋ารูปร่างค่อนข้างกลมขนาดใหญ่และบาง โล่มีหลายรูปแบบทั้งรูปหัวใจ และมีร่องยาวลึกจนถึงรูปทรงกลม ส่วนใหญ่เกสรตัวผู้เป็นก้อนกลม ทุกชนิดพบเจริญในพื้นที่ที่มีหินปูน และเป็นพืชเฉพาะถิ่น (endemic) มี 5 ชนิด ได้แก่ *P. armeniacum, P. delenatii, P. malipoense, P. micranthum* และ *P. emersonii*

2. สกุลย่อย *Paphiopedilum* เป็นรองเท้านารีที่มีดอกเดี่ยวหรือดอกออกเป็นช่อ กลีบดอกเป็นแถบ หรือเป็นรูปช้อน ซึ่งมีความยาวมากกว่าสองเท่าของความกว้างของกลีบดอก ปลายกระเป๋าตรง หรืองอออกเล็กน้อย ขอบกระเป๋าเรียบหรือเว้าลง สกุลย่อยนี้สามารถแบ่งได้เป็น 5 หมู่ คือ

   2.1 *Coryopedilum* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 พบแถบหมู่เกาะบอร์เนียว บางชนิดพบที่ฟิลิปปินส์ มีใบสีเขียว ออกดอกเป็นช่อ กลีบดอกเป็นแถบยาว มักบิดเป็นเกลียว ขอบกลีบด้านบนมีไฝ และมีขนอ่อนปกคลุมที่ปลายกลีบ กระเป๋ายาวห้อยลง ด้านในขอบกลีบจะงุ้มเข้า กึ่งกลางโล่มักเป็นรูปขอบขนาน และมีขนอ่อนปกคลุมด้านล่าง ได้แก่ *P. philippinense*, *P. randsii*, *P. sanderianum*, *P. stonei* , *P. kalopakingii*, *P. adductum*, *P. glanduliferum*, *P. rothschildianum*, และ *P. supardii*

   2.2 *Pardalopetalum* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 เป็นพวกพืชอิงอาศัย (epiphyte) มีใบสีเขียว ลักษณะดอกของพืชในสกุลนี้มักมีรูปร่างคล้ายกัน โดยเฉพาะโล่มักเป็นรูปหัวใจกลับ กลีบดอกเป็นแถบบิดเกลียว ขอบกลีบด้านบนมีจุดสีเข้มหรือมีไฝสีดำ ได้แก่ *P. haynaldianum*, *P. lowii* และ *P. parishii*

   2.3 *Cochlopetalum* มีจำนวนโคโมโซม 2n=30-37 มักพบตามชายฝั่งของหมู่เกาะสุมาตราและชวา ดอกเล็ก กาบรองดอกรูปรี กลีบดอกแคบบิดเป็นเกลียว และมีขนปกคลุม กระเป๋ามีจุดประกระจายทั่ว โล่เป็นรูปค่อนข้างสี่เหลี่ยม และมีขนปกคลุมที่โคน ได้แก่ *P. glaucophyllum*, *P. liemianum*, *P. primulinum*, *P. victoria-mariae* และ *P. victoria-regina*

   2.4 *Paphiopedilum* ประกอบด้วยกล้วยไม้รองเท้านารี 10 ชนิด ซึ่งมีดอกเดี่ยว ใบสีเขียวไม่มีลาย มีลักษณะดอกและโล่ที่หลากหลาย มีจำนวนโครโมโซม 2n=26-30 ได้แก่ *P. hirsutissimum*, *P. barbigerum*, *P. charlesworthii*, *P. druryi*, *P. exul*, *P.* fairrieanum, *P. gratrixianum*, *P. insigne*, *P. spicerianum*, และ *P. villosum*

   2.5 *Barbata* ประกอบด้วยกล้วยไม้รองเท้านารี 24 ชนิด ดอกเป็นดอกเดี่ยวมีใบลาย side-lobes บริเวณปากม้วนเข้า ส่วนใหญ่กลีบดอกมีจุดประหรือไฝ โล่เป็นรูปพระจันทร์เสี้ยวและหยักเป็นฟันซี่เล็กๆ 3 ซี่ บริเวณปลายโล่ หรือลักษณะอื่นๆ ที่คล้ายที่กล่าวมา มีจำนวนโครโมโซม 2n=28-44 ได้แก่ *P. acmodontum*, *P. appletonianum*, *P. argus*, *P. bougainvilleanum*, *P. bullenianum*, *P. hookerae*, *P. mastersianum*, *P. papuanum*, *P. violascens*, *P. wentworthianum*, *P. tonsum*,

P. barbatum, *P. callosum*, *P. hennisianum*, *P. lawrenceanum*, *P. dayanum*, *P. ciliolare*, *P. superbiens*, *P. javanicum*, *P. urbanianum*, *P. purpuratum*, *P. sukhakulii*, *P. venustum* และ *P. wardii*

ระพี (2535) กล่าวว่า กล้วยไม้รองเท้านารีที่พบในธรรมชาติ และพบในบ้าน ซึ่งมีการปลูกเลี้ยง อาจจำแนกได้เป็นสี่กลุ่ม

กลุ่มแรก ได้แก่ กล้วยไม้รองเท้านารีที่มีรูปลักษณะดอกหากมองจากด้านหน้า จะมีลักษณะกลม กลีบกว้าง และใบมีลายสวยงาม กล้วยไม้รองเท้านารีในกลุ่มนี้พบขึ้นตามธรรมชาติอยู่ในแถบซึ่งเป็นภูเขาหินปูน เช่น รองเท้านารีฝาหอย (*P. bellatulum*) รองเท้านารีเหลืองปราจีน (*P. concolor*) รองเท้านารีเหลืองตรัง (*P. godefroyae*) รองเท้านารีขาวสตูล (*P. niveum*) รองเท้านารีช่องอ่างทอง (*P. niveum* 'Ang Thong') เป็นต้น

กลุ่มที่สอง ได้แก่ รองเท้านารีชนิดที่ดอกมีกลีบในแคบ และบิดเป็นเกลียว เช่น รองเท้านารีเมืองกาญจน์ (*P. parishii*) รองเท้านารีฟิลิปปินเนนเซ่ (*P. philippinense*) และรองเท้านารีรอธไชลเดียนั่ม (*P. rothschildianum*) ซึ่งทั้งสามชนิดใบไม่มีลาย

กลุ่มที่สาม ใบไม่มีลายเช่นเดียวกับกลุ่มที่สอง แต่มีกลีบดอกหนา ผิวดอกเป็นมันคล้ายเทียนขี้ผึ้ง ดอกมีสีเขียวอมเหลือง หรือเหลือบสีน้ำตาลปนเหลือง เช่น รองเท้านารีอินทนนท์ (*P. villosum*) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (*P. exul*)

กลุ่มที่สี่ ได้แก่ รองเท้านารีที่ใบมีลาย ผิวกลีบดอกมีไฝสีดำ หรือสีน้ำตาล มีขนที่ไฝ เช่น รองเท้านารีคางกบ (*P. callosum*) รองเท้านารีคางกบภาคใต้ (*P. barbatum*) และรองเท้านารีสุขะกูล (*P. sukhakulii*) เป็นต้น

อิเล็กโทรโฟรีซีสในการศึกษารูปแบบของไอโซไซม์

อิเล็กโทรโฟรีซีสเป็นคำที่ใช้อธิบายการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีประจุในสนามไฟฟ้า พอลิเมอร์ทางชีวภาพ (biological polymer) ส่วนใหญ่มีประจุจึงสามารถเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าได้ อาศัยคุณสมบัติดังกล่าวนี้ เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีสจึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาคุณสมบัติต่างๆของแมคโครโมเลกุล เช่น มวลโมเลกุลของโปรตีน ความแตกต่างของโมเลกุลในแง่ประจุสุทธิ รวมทั้งการแยกโมเลกุลที่ต่างกันด้วย (อาภัสสรา, 2537)

อิเล็กโทรโฟรีซีสแบบ Polyacrylamide gel (Polyacrylamide Gel Electrophoresis ; PAGE) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในงานวิเคราะห์โปรตีนและสารละลายโปรตีนผสม ไอออนที่มีประจุหรือหมู่ที่มีประจุเมื่ออยู่ในสนามไฟฟ้าจะเคลื่อนที่ได้เช่นเดียวกับโปรตีนที่เป็นแมคโครโมเลกุลที่มีประจุ

ที่ pH ต่างๆ การเคลื่อนที่ได้ในสนามไฟฟ้าและอัตราการเคลื่อนที่จะขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประจุของโปรตีน ความหนาแน่นของประจุหมายถึงอัตราส่วนของประจุต่อมวล ถ้าอัตราส่วนนี้สูงโมเลกุลจะเคลื่อนที่ได้เร็ว เมื่อให้สนามไฟฟ้ากับสารละลายโปรตีนผสม โปรตีนแต่ละชนิดจะเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วที่ต่างกัน ทำให้แยกออกจากกันได้ PAGE เป็นเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีสที่มีตัวกลางค้ำจุนเป็น polyacrylamide gel ซึ่งเฉื่อยต่อสารเคมีในระหว่างเกิดกระบวนการแยก จึงสามารถลดการแพร่และป้องกันการเกิดการพา ทำให้การแยกได้แถบที่คมชัด รวมทั้งเป็นตัวกลางที่มีรูพรุน ซึ่งทำหน้าที่เป็นตะแกรงร่อนโมเลกุลได้ เมื่อปรับขนาดของโมเลกุลให้เหมาะสม โดยการเตรียมเจลที่ความเข้มข้นต่างๆ นอกจาก polyacrylamide gel เป็นสารที่เฉื่อยต่อสารเคมีแล้วยังมีความเสถียรที่ช่วง pH อุณหภูมิ ค่า ionic strength ที่กว้าง และยังโปร่งใส ด้วยเหตุนี้ polyacrylamide gel จึงเป็นตัวกลางค้ำจุนที่นิยมใช้ในการแยกโปรตีนโดยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีส (อาภัสสรา, 2537; Shields *et al.*, 1983)

การศึกษาไอโซไซม์เพื่อการจำแนกพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีสแบบ non denaturating polyacrylamide gel electrophoresis อาศัยหลักการที่สำคัญคือ ไอโซไซม์เป็นสายโพลีเปปไทด์ (polypeptide) ซึ่งประกอบด้วยลำดับของกรดอะมิโน (amino acid) เรียงกันอยู่ ลำดับของกรดอะมิโนแปลมาจากรหัสพันธุกรรม (gene) บนสายนิวคลีโอไทด์สายยาว ไอโซไซม์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนต่างกันจะมีประจุ ขนาด และรูปร่างของโมเลกุลแตกต่างกันด้วย เมื่อนำมาแยกบนตัวกลางที่เหมาะสมด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีส โมเลกุลของเอนไซม์จะเคลื่อนที่ในอัตราที่ต่างกัน หลังจากทำการย้อมสีด้วยปฏิกิริยาจำเพาะสำหรับไอโซไซม์แต่ละชนิด จะเห็นแถบสีของเอนไซม์รูปแบบต่างๆ (isozyme banding patterns) (อาภัสสรา, 2537; Bailey, 1983) หรือเรียกว่า zymogram (Vallejos, 1983) การเกิดรูปแบบต่างๆนี้มีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ เนื้อเยื่อที่นำมาใช้ และระบบเอนไซม์ที่ใช้ทดสอบ (Wendel and Weeden, 1989) ช่วงการเจริญเติบโตและสภาพแวดล้อม (Moore and Collins, 1983) โดยการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกันของแถบสีของเอนไซม์เป็นผลโดยตรงจากลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างกัน (Crawford, 1983)

การวิเคราะห์ไอโซไซม์เป็นการวิเคราะห์โปรตีนรูปแบบหนึ่งโดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีส ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่แพง ทั้งยังสามารถทำกับพืชได้จำนวนมากอย่างรวดเร็ว โดยการใช้ชิ้นส่วนพืชเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ทำให้สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดตลอดจนหาความสัมพันธ์ใกล้ชิดระหว่างชนิด และยังสามารถใช้ยืนยันการเป็นลูกผสมได้ (Moore and Collins, 1983)

กัญจนา และ พิมพ์ใจ (2540) ได้รายงานเกี่ยวกับการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ 5 ชนิด ได้แก่ EST, SKD, ME, MDH และ GLD จากเนื้อเยื่อส่วนของ หัว รากสะสมอาหาร และดอก ของปทุม

มา 2 พันธุ์ คือ พันธุ์กลีบริ้วประดับกว้าง และพันธุ์กลีบริ้วประดับแคบ พบว่าเนื้อเยื่อของยอดให้รูปแบบไอโซไซม์ที่ชัดและจำนวนแถบสี มากกว่าส่วนอื่นจากเอนไซม์เดียวกัน ในปทุมมาพันธุ์กลีบริ้วประดับกว้าง และพบว่าเอนไซม์ EST เพียงชนิดเดียวเท่านั้น ที่แสดงความแตกต่างของแถบสีที่ปรากฏในส่วนต่างๆของปทุมมาได้ ส่วนไอโซไซม์ชนิดอื่น ให้แถบสีที่เหมือนกัน แตกต่างกันเฉพาะความเข้มของแถบสี โดยพบว่าเนื้อเยื่อของยอดให้แถบสีคมชัดที่สุด

ศิริลักษณ์ และ นิยะดา (2540) ได้รายงานการศึกษาการจำแนกสายพันธุ์เข็ม 12 ชนิด โดยใช้ตัวอย่างจากส่วนของ ดอก ใบอ่อน และใบแก่ ใช้เอนไซม์ 4 ชนิด คือ EST, peroxidase (POX), ACP และ ADH ใช้น้ำยาสกัด 2 ชนิด คือ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และ ทริสบัฟเฟอร์ พบว่าระบบของ POX ให้รูปแบบที่ชัดเจน และแยกความแตกต่างของเข็มสายพันธุ์ต่างๆได้ โดยมีจำนวนแถบสี 2-7 แถบ มีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (R_f) อยู่ระหว่าง 0.61-0.8 จัดอยู่ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว อาจเนื่องมาจากมีน้ำหนักโมเลกุลน้อย หรือมีประจุสุทธิเป็นลบ ส่วนของดอกบานให้แถบสีที่คมชัดมากกว่าส่วนของใบอ่อนและใบแก่ อาจเป็นเพราะในส่วนของดอกมีปริมาณและกิจกรรมของ POX ที่มากกว่าส่วนอื่น และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.5) ให้แถบสีที่คมชัดและครบถ้วนในเข็มทุกสายพันธุ์ ส่วนทริสบัฟเฟอร์มีสภาพ pH ที่เป็นเบสค่อนข้างสูง จึงไม่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์จากเข็ม

ประทุมพร (2542) ได้ศึกษาแบบแผนไอโซไซม์ในกล้วยไม้สกุลหวายช้างน้าว ที่รวบรวมมาจาก 5 แหล่ง เมื่อวิเคราะห์เอนไซม์ 9 ชนิด คือ esterase (EST), leucine aminopeptidase (LAP), shikimate dehydrogenase (SKD), malate dehydrogenase (MDH), glutamate dehydrogenase (GLD), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), malic enzyme (ME), superoxide dismutase (SOD) และ NAD-glucose dehydrogenase (GDH) โดยวิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีส พบว่าเอนไซม์แต่ละชนิดแสดงแถบสีหลายรูปแบบ ค่าเฉลี่ยของความถี่ของรูปแบบเอนไซม์ และค่าสัมประสิทธ์ของความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม สามารถใช้อธิบายระดับความสัมพันธ์ระหว่างประชากรได้ ทำให้สามารถนำไปใช้ในการบ่งชี้และประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

รัติกาล (2543) รายงานถึงการแยกกลุ่มเอื้องแซะ (*Dendrobium scabrilingue* Lindl.) โดยการวิเคราะห์รูปแบบแถบสีไอโซไซม์ โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนใบของเอื้องแซะจาก 4 แหล่งได้แก่ อ. แม่สะเรียง และ อ. ปางมะผ้า จ. แม่ฮ่องสอน อ.เชียงดาว จ. เชียงใหม่ และ ดอยขุนตาล ในเขต จ. ลำปางร่วมกับเอื้องเงินแดง และเอื้องแซะดอยปุย ด้วยระบบเอนไซม์ 6 ชนิด คือ EST, GOT, MDH, SKD, Glucose phosphate isomerase (GPI) และ LAP พบว่า EST, GOT, MDH และ SKD แสดงแถบสีหลายรูปแบบ สามารถนำมาแยกความแตกต่างของประชากรเอื้องแซะออกจากเอื้องเงินแดง และเอื้องแซะดอยปุยได้อย่างเด่นชัด และสามารถแยกกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะออกเป็น

4 กลุ่มตามแหล่งที่มา แต่ไม่สามารถแยกบางตัวอย่างของเอื้องแซะภายในกลุ่มตัวอย่างเดียวกันออกจากกันได้ สำหรับ GPI และ LAP ไม่แสดงแถบสีในบางตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อ. เชียงดาวและดอยขุนตาล และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบไอโซไซม์ และ Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) สามารถพิสูจน์ได้ว่ากลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อ. แม่สะเรียง น่าจะมีแหล่งกำเนิดเดียวกับกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อ. ปางมะผ้า และกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อ. เชียงดาว น่าจะมีแหล่งกำเนิดเดียวกับกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะจากดอยขุนตาล

สมบูรณ์ (2543) ได้ตรวจสอบความแตกต่างของพันธุ์กวาวเครือ 5 ชนิด (species) ได้แก่ *Pueraria stricta* Kurz., *Pue. wallichii* D.C., *Pue. mirifica* Shaw & Suvat., *Pue. allopecuroides* Craib. และ *Pue. phaseoloides* (Roxb.) Benth โดยเทคนิคไอโซไซม์ และ RAPD โดยทดลองกับเอนไซม์ AAT, EST, LAP, MDH และ POX และวิเคราะห์โดยวิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีสพบว่า ไอโซไซม์ที่สามารถบ่งบอกความแตกต่างของกวาวเครือได้ดีที่สุดคือ EST และ POX รองลงมาได้แก่ AAT หรือ GOT และ MDH สำหรับรูปแบบของไอโซไซม์ LAP ใช้บ่งบอกความแตกต่างของกวาวเครือได้น้อยที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า กิจกรรมของไอโซไซม์ที่เตรียมจากตัวอย่างพืชสดแสดงกิจกรรมกับซับสเตรทได้ดีกว่า ไอโซไซม์ที่เตรียมจากตัวอย่างที่เก็บไว้นาน (นานกว่า 6 เดือนที่ –20 องศาเซลเซียส) สำหรับเทคนิค RAPD การใช้ 30 primers พบว่ามี 4 primers ได้แก่ OPK 14, OPW 14, OPA 15 และ OPAH 17 สามารถให้ DNA polymorphism และ ใช้ในการบ่งบอกความแตกต่างของกวาวเครือทั้ง 5 ชนิดได้ นอกจากนั้นแบบแผนของ dendrogram ที่ได้จากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไอโซไซม์สอดคล้องกับ dendrogram ที่ได้จากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค RAPD

ปฐมา และ ธวัชชัย (2544) ใช้มะม่วงแก้วสายต้นคัดจำนวน 52 สายต้น จาก 8 จังหวัดภาคเหนือตอนบน เพื่อเปรียบเทียบลักษณะทางชีวเคมีสำหรับการจำแนกกลุ่ม พบว่าการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ โดยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีส จากใบแก่อายุ 7 เดือน ด้วยสารสกัด Tris-buffer 0.1 M, pH 8.2 ใช้ตัวกลางโพลีอคริลาไมด์เจล ความเข้มข้น 22% เหมาะสมสำหรับไอโซไซม์ acid phosphatase และ esterase ขณะที่ 7.5% เหมาะสำหรับไอโซไซม์ peroxidase สามารถจำแนกสายต้นมะม่วงแก้วออกได้เป็น 10, 4 และ 15 กลุ่มตามลำดับ เมื่อนำไอโซไซม์ทั้ง 3 ชนิด คือ ACP, EST และ POX มาวิเคราะห์ ทำให้สามารถจำแนกมะม่วงแก้วทั้ง 52 สายต้นที่นำมาทดสอบ ออกได้เป็น 20 สายต้น และ 9 กลุ่ม

วิชญา (2544) ได้ศึกษารูปแบบไอโซไซม์เพื่อจำแนกความแตกต่างของพืช 10 ชนิด ใน 5 สกุล คือ *Eurycles*, *Eucrosia*, *Haemanthus*, *Hippeastrum* และ *Zephyranthes* โดยใช้ตัวอย่างจาก

ส่วนของใบอ่อนกับเอนไซม์ 6 ชนิด คือ ADH, DIA, EST, GOT, LAP และ MDH พบว่า รูปแบบแถบสีไอโซไซม์ของเอนไซม์ทั้ง 6 ชนิด แสดงความแตกต่างของพืชทั้ง 10 ชนิดได้

Kobayashi *et al.* (1987) ได้ศึกษาการจำแนกพันธุ์หน้าวัว (*Anthurium andraeanum*) โดยวิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีสในระบบเอนไซม์ต่างๆกัน โดยใช้วิธีการสกัดเอนไซม์ 3 วิธี พบว่า การบดใบด้วยไนโตรเจนเหลวแล้วนำมาบดกับบัฟเฟอร์ ประกอบด้วย phenoloxidase inhibitor, reducing agents และ polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) เป็นวิธีที่ดีที่สุด ส่วนการจำแนกหน้าวัว 7 สายพันธุ์ โดยใช้เอนไซม์ 7 ระบบ พบว่ามี 4 ระบบเอนไซม์ที่ให้แถบสี คือ GOT, MDH, POX และ PGI ทั้ง 7 สายพันธุ์สามารถแยกออกจากกันได้โดยใช้ข้อมูลของระบบเอนไซม์ POX, MDH และ PGI ร่วมกัน

Durham *et al.* (1987) รายงานว่ารูปแบบไอโซไซม์มีประโยชน์ในการใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมในต้นท้อ [*Prunus persica* L. (Batsch)] ด้วยการใช้สารสกัดจากใบของต้นที่ยังไม่โตเต็มที่กับต้นที่โตเต็มที่ทำ starch gel electrophoresis กับเอนไซม์ 38 ระบบ และ buffer 5 ระบบ พบว่า มี 12 ระบบเอนไซม์ที่ให้แถบสีที่คมชัด โดย 9 ระบบเอนไซม์แสดงแถบสีรูปแบบเดียว ในทุกจีโนไทป์ที่ตรวจสอบ และมี 3 ระบบเอนไซม์ คือ DIA, MDH และ POX ที่แสดงแถบสีหลายรูปแบบ จากการวิเคราะห์ทางพันธุกรรมของรูปแบบแถบสีหลายรูปแบบแสดงให้เห็นว่า มี 1 loci ที่ถูกถ่ายทอดอย่างอิสระ คือ DIA-1, MDH-1 และ POX-1 ซึ่ง loci ที่ถูกถ่ายทอดนี้เป็นไปตามกฎของเมนเดล และมีประโยชน์ในการใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมในต้นท้อ

Soltis *et al.* (1987) ได้ตรวจสอบโครงสร้างทางพันธุกรรมของ *Tillandsia ionantha* และ *T. recurvata* ด้วยวิธี starch gel electrophoresis โดยใช้ใบอ่อนจากต้นที่โตเต็มที่ เพราะให้แถบสีที่คมชัด โดยทดสอบกับ 10 ระบบเอนไซม์ คือ ADH, fluorescent esterase (FE), GDH, glyceraldehyde-3-phosphote dehydrogenase (G3PDH), IDH, MDH, PGI, PGM, 6PGD, และ triose-phosphate isomerase (TPI) พบว่า *T. ionantha* มี 16 loci และ *T. recurvata* มี 19 loci ข้อมูลที่ได้จากการทำอิเล็กโทรโฟรีซีสเมื่อนำมาวิเคราะห์โดยใช้ BIOSYS-1 program จากการวิเคราะห์ชี้ให้เห็นว่า *T. ionantha* และ *T. recurvata* มีความแตกต่างกันในระบบการผสมพันธุ์ ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับการคาดเดาที่อาศัยความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานของดอก นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ยังชี้ให้เห็นว่า *T. ionantha* เป็นพืชผสมข้าม ในขณะที่ *T. recurvata* เป็นพืชผสมตัวเอง

Byrne and Littleton (1988) รายงานการศึกษาไอโซไซม์ในต้นพลัมญี่ปุ่น 29 สายต้น โดยทำกับ 8 ระบบเอนไซม์ พบว่า GLD, LAP, MDH, PGI, PGM และ POX สามารถแสดงความหลากหลายของไอโซไซม์ ส่วน 6PGD และ TPI ไม่แสดงความหลากหลาย ซึ่งการใช้ลักษณะทางไอโซ

ไซม์สามารถจำแนกสายต้นได้ 38 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือถูกแบ่งเป็นกลุ่มๆละ 2 – 3 สายต้น ซึ่งสามารถแยกออกจากกันได้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานการเจริญเติบโตเข้าช่วย

Parfitt and Arulsekar (1989) จากการศึกษาโดยวิธี starch gel electrophoresis โดยสกัดไอโซไซม์จากใบอ่อนของต้นองุ่น 145 พันธุ์ (*Vitis vinifera* L. และ *Vitis* spp.) โดยวิเคราะห์ไอโซไซม์ 4 ระบบ คือ GPI, PGM, LAP และ AAT พบว่า สามารถแยกสายพันธุ์องุ่นได้ 52 กลุ่ม และ 24 พันธุ์ โดยใช้ไอโซไซม์ GPI และ PGM

Park *et al.* (1990) ได้วิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ acid phosphatase (ACP), EST และ AAT ในกลุ่ม *Cym. goeringii* ของประเทศเกาหลีทั้งหมด 12 แหล่ง รวม 286 ตัวอย่าง โดยใช้ starch gel electrophoresis ผลปรากฏว่าไอโซไซม์ทั้ง 3 ชนิด ให้แถบปฏิกิริยาที่เป็น polymorphic และความถี่ของการเกิดแถบไอโซไซม์ระหว่างประชากรมีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงว่าประชากรของ *Cymbidium goeringii* มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมเกิดขึ้นทั้งภายในและระหว่างประชากร ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากการผสมข้ามและปัจจัยทางนิเวศวิทยา

Nehra *et al.* (1991) ใช้ไอโซไซม์ LAP, PGM, GPI, EST, และ 6PGD ร่วมกัน สามารถแยกสตรอเบอรี่ 8 สายพันธุ์ ออกจากกันได้ โดยสามารถใช้ได้ทั้งชิ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและจากการปลูกเลี้ยงในสภาพโรงเรือน

Bhat *et al.* (1992) รายงานว่าไอโซไซม์ EST, ACP และ catalase (CAT) สามารถใช้วิเคราะห์แยกสายพันธุ์กล้วยของอินเดียได้ 29 สายพันธุ์จาก 44 สายพันธุ์

Protopapadakis and Yannitsaros (1994) ได้ศึกษาเอนไซม์ 2 ระบบ คือ EST และ MDH ในทิวลิป 9 ประชากร ที่รวบรวมจากส่วนต่างๆของกรีก และจากแหล่งธรรมชาติใน Crete โดยใช้สารสกัดจากละอองเกสร ทำโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีส พบว่า การวิเคราะห์รูปแบบแถบสีของ EST แสดงให้เห็นความแตกต่างของประชากรอย่างชัดเจน ส่วนแถบสีของ MDH มีสีจาง แต่เมื่อนำไปใช้ร่วมกับเอนไซม์อื่นๆ สามารถช่วยแยกความแตกต่างของประชากรได้

Protopapadakis (1995) ได้แยกประชากรของทิวลิป 5 ชนิด โดยการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ของ GOT โดยใช้สารสกัดจากใบด้วยเทคนิคโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีส พบว่าสามารถแยกทิวลิปชนิดต่างๆออกจากกันได้ และเมื่อวิเคราะห์ไอโซไซม์ของ *Tulipa saxatilis* Sieber ex Sprengel พบว่า ทิวลิปชนิดนี้มีความแตกต่างของจีโนไทป์ในประชากรที่ต่างกัน

Kim and Byrne (1996) รายงานว่า การยืนยันการเป็นลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามชนิดของกุหลาบ โดยใช้เอนไซม์ 3 ชนิด คือ ACP, MDH และ PGI กับสารสกัดจากชิ้นส่วนของใบ พบว่า การยืนยันความเป็นลูกผสมมีข้อจำกัดในกรณีที่ลูกผสมนั้นมาจากพ่อหรือแม่ที่มีความซับซ้อนทางสายพันธุ์ หรือพ่อแม่ที่ไม่สามารถตรวจสอบที่มาของพันธุกรรมได้

Smitamana and Kuntapanom (1996) ได้ศึกษากล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์พื้นเมืองของประเทศไทย คือ *Dendrobium scabrilingue, D. bellatulum, D. christyanum, D. crepidatum, D. lituiflorum, D. pulchellum, D. moschatum* และ *D. infundibulum* โดยการสกัดโปรตีนจากปลายยอด และวิเคราะห์รูปแบบพื้นฐานของไอโซไซม์บางชนิด โดยใช้วิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีสพบว่าไอโซไซม์ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ EST, GOT, SKD, MDH และ LAP สามารถบ่งบอกความแตกต่างระหว่างชนิดของกล้วยไม้ได้

Young-ju and David (1996) ได้ทดสอบต้นกำเนิดของกุหลาบลูกผสม 23 สายพันธุ์ ด้วย 3 ไอโซไซม์ คือ ACP, MDH และ PGI พบว่าทั้ง 3 ไอโซไซม์สามารถใช้ตรวจสอบลูกผสมที่เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ได้ โดยวิธีการนี้มีประสิทธิภาพในกรณีรู้พ่อแม่พันธุ์ และพ่อแม่พันธุ์มีรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน ซึ่งการพิสูจน์หาพ่อแม่พันธุ์ของลูกผสมหรือหาพ่อแม่พันธุ์ของสายพันธุ์ทางการค้านี้การใช้ไอโซไซม์มีประโยชน์มาก แต่ถูกจำกัดด้วยจำนวนรุ่นที่ได้รับการผสมมาตั้งแต่เริ่มแรก

Grossi *et al.* (1997) ได้ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ในกุหลาบป่าพันธุ์ต่างๆ เพื่อตรวจสอบอัตราการเกิด และความคงที่ของรูปแบบไอโซไซม์ โดยวิเคราะห์จากระบบเอนไซม์ 3 ระบบ คือ EST, LAP และ SOD พบว่าให้จำนวนแถบสีเป็น 9, 7 และ 9 แถบตามลำดับ และรูปแบบไอโซไซม์ถูกจำกัดด้วยสภาพแวดล้อม เมื่อคำนวณการกระจายของแถบไอโซไซม์ด้วย Jaccard distance สามารถนำมาพิสูจน์ความแตกต่างในกลุ่มพันธุ์ของกุหลาบป่าที่เก็บรวบรวมไว้

Obara-Okeyo *et al.* (1997) ได้วิเคราะห์ความแปรปรวนของไอโซไซม์ในระบบเอนไซม์ 8 ชนิด โดยใช้ starch gel electrophoresis ในสกุล และลูกผสม *Cymbidium* 70 พันธุ์ พบว่าระบบเอนไซม์ทั้ง 8 ชนิด ได้แก่ AAT, LAP, MDH, alcohol dehydrogenase (ADH), phosphoglucomutase (PGM), GPI, triosephosphate isomerase (TPI) และ SKD ให้ลักษณะของแถบที่เป็น polymorphic และสามารถแสดงความแตกต่างระหว่าง *Cymbidium* 68 พันธุ์ได้ ยกเว้นระหว่างพันธุ์ Golden Star 'Kumamoto' กับ Golden Star 'Sunrise' สำหรับอัตราการกระจายของยีนเมื่อมีการผสมข้าม พบว่า LAP-1 ถูกถ่ายทอดไปได้ง่าย และถูกควบคุมโดยยีนอย่างน้อย 2 อัลลีล

Obara-Okeyo and Kako (1997) ได้ศึกษาไอโซไซม์ 6 ระบบเอนไซม์กับ *Cymbidium* ลูกผสม 20 พันธุ์โดยวิธี starch gel electrophoresis โดยเปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์ที่ได้จาก 2 แหล่ง คือ ต้นที่มาจากการเลี้ยงในหลอดแก้ว (*in vitro*) และ ต้นจากสภาพธรรมชาติ (*in vivo*) พบว่ารูปแบบไอโซไซม์ที่ได้จาก PLBs ที่เลี้ยงในสภาพหลอดแก้วใช้อธิบายลักษณะของพันธุ์ได้โดยเอนไซม์ aspartase aminotransferase (AAT), PGI และ MDH สามารถแยกได้ 16 พันธุ์ และอีก 2 คู่ซึ่งสามารถแยกออกจากกันได้โดยใช้เอนไซม์ PGM และจากการศึกษาไอโซไซม์นี้ไม่พบความผัน

แปรของ mericlone ที่เลี้ยงในสภาพหลอดแก้ว จากการควบคุมการผสมข้ามแสดงให้เห็นว่าการถ่ายทอด AAT-1 ถูกควบคุมโดย 2 อัลลีล แสดงให้เห็นว่า การใช้เอนไซม์สามารถตรวจจับความผันแปรทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์ *Cymbidium* ได้ และมีศักยภาพในการจำแนกเพิ่มขึ้นเมื่อใช้จำนวนไอโซไซม์มากขึ้น

Obara-Okeyo *et al.* (1998) ได้ศึกษาถึงความแปรปรวน และประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสกุล *Cymbidium* โดยใช้เอนไซม์ 8 ระบบ พบว่าแต่ละชนิดสามารถแยกออกจากกันได้โดยง่าย โดยเอนไซม์ 2 ระบบ คือ MDH และ phosphogluco isomerase (PGI) และการใช้ระบบเอนไซม์อื่นร่วมกันก็สามารถแยกได้เช่นกัน นอกจากนั้นยังพบว่าข้อมูลที่ได้ยังสนับสนุนการจัดจำแนกที่มีอยู่ในปัจจุบัน โดยพบว่าพวกที่เป็นกล้วยไม้ดิน เช่น *Cym. goeringii* (Rchb. f.), *Cym. ensifolium* (L.) Swartz และ *Cym. sinense* (Jackson) Wild. ซึ่งจัดอยู่ในสกุลย่อย *Jensoa* (Rafin.) Seth. & Cribb. มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมาก

Case *et al.* (1998) ได้ศึกษาเกี่ยวกับ *Cypripedium kentuckiense* ซึ่งเป็นกล้วยไม้หายากที่พบมากในรัฐอาร์แคนซอ และรัฐอื่นๆอีก 8 รัฐ ในอเมริกาว่าควรแยกเป็นชนิดต่างหาก หรือรวมอยู่ใน *Cyp. parviflorum* var. *pubescens* โดยการวิเคราะห์ 12 ไอโซเอนไซม์ พบว่า *Cyp. kentuckiense* ควรแยกเป็นชนิดต่างหากและเป็นไปได้ว่ามีต้นกำเนิดมาจาก *Cyp. parviflorum*

Apavatjrut *et al.* (1999) ได้ศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์ 21 ระบบ ใน *Curcuma* L.บางชนิด มี 8 ไอโซไซม์ที่แสดงแถบสีหลายรูปแบบ ซึ่งช่วยสนับสนุนการจัดจำแนกชนิดของ *Curcuma* L. และยังช่วยแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ในกลุ่ม early-flowering ได้

Hyun *et al.* (1999) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ *Calanthe discolor, Cal. sieboldii* และ *Cal. bicolor* โดยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ และ RAPD พบว่า *Cal. bicolor* เป็นลูกผสมตามธรรมชาติของ *Cal. discolor* และ *Cal. sieboldii*

Sharma and Jone (1999) ได้ทดสอบต้นกล้วยไม้ที่สงสัยว่าเป็นลูกผสมข้ามชนิดตามธรรมชาติระหว่าง *Pterostylis alveata* และ *Pter. ophioglossa* จาก Fingal Point, New South Wales, Australia ซึ่งมีลักษณะสัณฐานวิทยากึ่งๆ ระหว่างต้นพ่อแม่ โดยใช้สารสกัดจากใบ ทดสอบด้วย 8 ระบบเอนไซม์ คือ IDH, PGM, diaphorase (DIA), 6-phosphogluconate dehydrogenase (6GPD), GPI, uridine diphosphogluconic pyrophosphatase (UDP), ME และ LAP พบว่ามี 4 ระบบเอนไซม์ คือ GPI, UDP, ME และ LAP ที่แสดงว่าให้เห็นว่าพืชที่นำมาทดสอบเป็นลูกผสม โดยปรากฏ อัลลีลที่มาจากต้นพ่อแม่ นอกจากนี้ยังแยกจีโนไทป์ของลูกผสมออกจากจีโนไทป์ของต้นพ่อแม่ได้

Dansi *et al.* (2000) ได้รายงานการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ เพื่อจำแนกสายพันธุ์ของ Guinea yam 462 สายพันธุ์ที่รวบรวมจากหลายแหล่งใน Benin โดยใช้เอนไซม์ 7 ชนิด คือ AAT, EST, G6PD, IDH, PGM, PGI และ SKD พบว่าเอนไซม์ทั้ง 7 ชนิด แสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกันถึง 62 รูปแบบ และแสดงความแตกต่างได้ 227 สายพันธุ์ เมื่อนำมาวิเคราะห์โดย Cluster analysis สามารถจำแนก Guinea yam ออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ *Dioscorea cayenensis* และ *Dio. rotundata*

Hannan and Orick (2000) ได้รายงานการจำแนก *Iris* 2 ชนิด คือ *Iris cristata* ซึ่งในธรรมชาติเจริญอยู่ได้ทั่วไปในแถบตะวันออกเฉียงเหนือของอเมริกา และ *I. lacusyris* ที่เจริญอยู่เฉพาะแถบชายฝั่งทะเลสาบเท่านั้น โดยการศึกษาความแตกต่างของรูปแบบไอโซไซม์ พบว่า *I. cristata* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่า *I. lacusyris* โดย *I. cristata* ให้จำนวนแถบสี 15 แถบมีความแตกต่างของตำแหน่งแถบสี 15 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *I. lacusyris* ให้จำนวนแถบสี 18 แถบสี แต่ไม่มีความแตกต่างของตำแหน่งแถบสีเลย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University