# บทที่ 5
## วิจารณ์ผลการทดลอง

พืชสกุล *Globba* มีมากกว่า 100 ชนิด ถือเป็นสกุลที่มีจำนวนประชากรใหญ่ที่สุดในพืชวงศ์ Zingiberaceaeในไทยพบจำนวนชนิดของพืชสกุลนี้มากกว่าประเทศอื่น และยังพบความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา ลักษณะเด่นชัดของพืชสกุลนี้เป็นพืชไม่มีเนื้อไม้ พบในป่าดิบชื้นที่ความสูงเหนือระดับน้ำทะเลต่ำถึงปานกลาง ดอกมีความอ่อนช้อย เมื่อนำมาทำตัวอย่างแห้งเพื่อใช้จำแนกชนิดดอกมักจะหายไป ทำให้ยากต่อการจัดกลุ่ม (Newman, 2002) จึงทำให้ยังมีข้อมูลน้อยในการจัดระบบของพืชในสกุลนี้ ความสัมพันธ์และการจัดกลุ่มภายในพืชสกุลนี้สามารถทำได้โดยอาศัยจำนวนของรยางค์ที่พบบริเวณข้างของอับละอองเรณู ซึ่งพบได้ 0, 2 หรือ 4 อัน เพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงวิวัฒนาการและความสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องกันของพืชสกุลนี้ การจัดระบบจึงต้องอาศัยทั้งลักษณะทางสัณฐานและวิวัฒนาการทางชีวโมเลกุล (William *et al.*, 2002 )

การศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาทั้งด้านสัณฐานวิทยา และความแตกต่างระดับโมเลกุลของพืชแต่ละชนิด จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหงส์เหินจำนวน 12 ชนิด สามารถจำแนกลักษณะที่ต่างกันอย่างเห็นได้ชัด พอสรุปได้ว่า การเจริญของเหง้ามี 2 แบบ คือ แบบแรกมีลักษณะเป็นข้อปล้องหดสั้นซ้อนกันถี่ แบบที่สองมีลักษณะข้อปล้องไม่หดสั้นเท่าแบบแรก ใบมีรูปร่างต่างกัน 4 แบบ ได้แก่ รูปร่างแบบหอก (lanceolate) รูปร่างแบบรี (elliptic) รูปขอบขนานแกมรูปไข่ (oblong-elliptic) และรูปขอบขนานแกมหอก (oblong-lanceolate) ส่วนปลายใบมีรูปร่างต่างกัน 3 แบบ ได้แก่ ลักษณะปลายใบแหลมและยื่นยาว (acuminate) ปลายใบแหลม (acute) และปลายใบมนและยื่นเป็นติ่งสั้น (mucronate) ส่วนรูปร่างลักษณะของฐานใบมี 3 แบบ ได้แก่ ฐานใบมน (obtuse) ฐานใบคล้ายรูปลิ่ม (cuneate) และฐานใบตัด (truncate) นอกจากนี้พบว่าใบของหงส์เหินบางชนิดสามารถมองเห็นขนบนใบ และใต้ใบได้ด้วยตาเปล่า บางชนิดไม่พบขนบนใบทั้งสองด้าน การจัดเรียงตัวของใบพบได้ 2 ลักษณะคือ แบบสลับซ้ายขวาซึ่งพบได้ในหลายชนิด และแบบบันไดเวียนที่พบได้เพียง 2 ชนิดคือ หงส์เหินช่อทับทิม และหงส์เหินกาบหยก ช่อดอกของหงส์เหิน พบได้ 2 แบบคือ racemose และ cymose ช่อดอกอาจพบได้ทั้งแบบช่อตั้ง และช่อโค้ง กลีบประดับมีหลายสี ได้แก่ สีขาว ชมพู และเขียว มีการเรียงตัว 2 แบบ คือ เรียงไปตามความยาวแกนกลางช่อ และเรียงซ้อนกันอัดแน่นเป็นกระจุกบนก้านช่อดอกย่อยที่หดสั้น ในส่วนของดอกพบว่าหงส์เหินดอกจั๊กก่าหงส์เหินช่ออำพัน และหงส์เหินกาบหยกมีจุดแต้มบนแผ่นปากซึ่งมีสีแต้มที่ต่างกัน ในส่วนรยางค์ที่อยู่ด้านข้างของอับละอองเรณู มีจำนวน 2 และ 4 อัน โดยพบหงส์เหินผีเสื้อมีลักษณะรยางค์ที่ต่างจากชนิดอื่น คือบริเวณปลายรยางค์แต่ละแผ่นแยกออกเป็นสองแฉกจนถึงกลางแผ่นเท่านั้น อย่างไร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ก็ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาของบางชนิดใกล้เคียงกันมากในหลายลักษณะ และการจำแนกทางอนุกรมวิธานยังสับสน การใช้ความแตกต่างระดับโมเลกุลเช่นไอโซไซม์มาช่วยสนับสนุนการจำแนกดังกล่าวจึงเป็นสิ่งจำเป็น

การศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ตัวอย่าง เพื่อให้แถบสีจำนวนมาก แถบสีที่ได้คมชัด และได้รูปแบบไอโซไซม์ที่ชัดเจนในแต่ละเอนไซม์ จึงมีความสำคัญมาก เพื่อจะได้นำไปหารูปแบบไอโซไซม์จากเอนไซม์ชนิดต่างๆ ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า การสกัดเอนไซม์ด้วยกรรมวิธีของ Apavatjrut *et al.* (1999) ซึ่งในน้ำยาสกัดประกอบด้วย 0.1 M Tris - HCl pH 8, 1 mM EDTA, 0.5 % w/v PVP 10, 2mM DTT, 10 mM β-mercaptoethanol ให้แถบสีที่คมชัด มีจำนวนแถบสีมากกว่า และให้รูปแบบไอโซไซม์ที่ชัดเจนกว่ากรรมวิธีของกำปั่น (2541) ซึ่งน้ำยาสกัดคือ 0.1 M Tris- buffer pH 8.2 ผลที่ได้อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบในน้ำยาสกัดคือ EDTA ซึ่งเป็น chelating agent ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวกับ metalloprotein ส่วน PVP เป็น phenol-complexing agent ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ phenoloxidase, DTT และ β-mercaptoethanol เป็น reducing agent ป้องกันโปรตีนไม่ให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (antioxidation) สารเหล่านี้เป็นส่วนทำให้เอนไซม์ยังมีกิจกรรมของเอนไซม์ และเอนไซม์ไม่เกิดการสูญเสียหรือเสียสภาพทางธรรมชาติ (Michaud and Asselin, 1995)

เมื่อพิจารณาถึง PVP ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญตัวหนึ่งในน้ำยาสกัด พบว่า การใช้ PVP 360 เข้มข้น 0.5 % และ PVP 360 เข้มข้น 1 % ให้แถบสีจำนวนมาก แถบสีที่ได้คมชัด และได้รูปแบบไอโซไซม์ที่ชัดเจนจากทั้งเอนไซม์ 4 ระบบ ได้แก่ GOT, LAP, POX และ SOD ที่ได้ทดสอบ มากกว่า PVP 10 เข้มข้น 0.5 % ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลของ PVP ต่างกัน ในการทดลองหลังจากนี้จึงเลือกใช้ PVP 360 เข้มข้น 0.5 % เนื่องจากใช้สารในปริมาณที่น้อยกว่า PVP 360 ที่ เข้มข้น 1 % ซึ่งให้ผลเหมือนกัน

เมื่อได้ส่วนประกอบที่เหมาะสมของน้ำยาสกัดแล้ว การศึกษา pH ที่เหมาะสมในน้ำยาสกัดมีความสำคัญ เนื่องจากในพืชแต่ละชนิดมีระดับ pH ที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์แตกต่างกัน ในการทดสอบระดับ pH พบว่า ในน้ำยาสกัดที่ pH 8 มีความเหมาะสมสามารถแสดงแถบสีที่คมชัดและให้รูปแบบไอโซไซม์ที่ชัดเจน และรูปแบบที่ได้ไม่แตกต่างกันจากเอนไซม์ทั้ง 4 ระบบ นั่นคือพืชชนิดนี้มีกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหมาะสมในสภาพด่างอ่อน ซึ่งยังเหมาะสมกับพืชอีกหลายชนิดได้แก่ กุหลาบ (Grossi *et al.*, 1997) พืชสกุลขมิ้น (Apavatjrut *et al.*,1999) พืชสกุลสนสามใบ (Gonzalez-Andres *et al.*, 1999) พืชสกุล *Trifolium* (Lange and Schifino-wittmann, 2000) และวอลนัท (Vyas *et al.*, 2002) ภาณี และ เพื่อนแก้ว (2530) สกัดเอนไซม์จากต้นกล้าข้าว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โพดหวานโดยใช้น้ำยาสกัด 0.1 M phosphate buffer ที่ระดับ pH ต่างกันคือ 7.5 และ 8.2 พบว่าเอนไซม์ POX ที่ระดับ pH แตกต่างกันไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนแถบ หรือความคมชัดของแถบสี แต่มีแนวโน้มว่า pH ที่เพิ่มขึ้นอาจมีผลทำให้เอนไซม์บางตัวถูกทำลาย

ในตัวกลางค้ำจุนที่เป็นเจล การเคลื่อนที่ของอนุภาคถูกขัดขวางโดยโครงสร้างของเจล การขัดขวางการเคลื่อนที่มีมากน้อยขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาคและขนาดของรูพรุนของตาข่ายร่างแหเจล ซึ่งขนาดของรูพรุนของเจลสามารถเปลี่ยนแปลงได้โดยการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของอคริลาไมด์ นั่นคือรูพรุนของเจลมีขนาดเล็กลงเมื่อความเข้มข้นของอคริลาไมด์เพิ่มขึ้น (อาภัสสรา, 2537) การแยกเอนไซม์ POX จากต้นกล้าข้าวโพดหวาน โดยใช้โพลีอคริลาไมด์เจล แบบแท่งในแนวตั้ง ความเข้มข้น 2 ระดับคือ 4 และ 7 % พบว่า โพลีอคริลาไมด์เจล เข้มข้นต่างกันทำให้โมเลกุลของเอนไซม์เคลื่อนที่ได้ยากง่ายต่างกัน คือ ที่ 7 % ให้แถบสีที่คมชัดกว่า ส่วนที่ 4 % ความคมชัดของแถบสีลดลง และแถบสีที่ได้มีจำนวนต่างกัน (ภาณี และ เพื่อนแก้ว, 2530) ในการทดลองครั้งนี้ พบว่า ความเข้มข้นของ separating gel ที่ระดับ 12.5 % ขนาดของรูพรุนเล็กที่สุด ให้แถบสีที่ได้คมชัด และได้รูปแบบไอโซไซม์ที่ชัดเจนมีผลต่อค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของไอโซไซม์จากเอนไซม์ 4 ระบบ คือความเข้มข้นของ separating gel มากค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ที่ได้จะลดลง นอกจากนั้นยังพบว่ามีพืชหลายชนิดที่ต้องใช้ separating gel ความเข้มข้นสูงในการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ เช่น Aradhya *et al.* (1995) ศึกษาความแปรปรวนของรูปแบบไอโซไซม์ในลิ้นจี่ โดยใช้ความเข้มข้นของเจลแป้ง 12 % เช่นเดียวกับ Sharma *et al.* (2001) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและวิวัฒนาการของพืชวงศ์ *Orchidaceae* series Grandiflorae ใช้ความเข้มข้นของเจลแป้ง 12 % กับเอนไซม์ 12 ระบบ และ Reis and Frederico (2001) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ cowpea ก็ใช้ separating gel เข้มข้น 12.5 %

นอกจากปัจจัยข้างต้นแล้ว การเลือกชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์เป็นส่วนที่มีความสำคัญมาก ส่วนใหญ่แล้วมักนิยมใช้ชิ้นส่วนพืชที่เป็นส่วนของการเจริญทางกิ่งใบ (vegetative tissue) เช่น ก้านใบ ลำต้น ปลายราก ต้นอ่อน ส่วนเหนือใบเลี้ยง ใบเลี้ยง ส่วนใต้ใบเลี้ยง ราก และใบ และส่วนของพืชที่ยังไม่มีการเจริญเติบโตเต็มที่มักมีกิจกรรมของเอนไซม์อยู่มาก จึงใช้ชิ้นส่วนในระยะนี้มาสกัดเอนไซม์ (Douglas and Pamela, 1989) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในหงส์เหินที่ใบอ่อนให้แถบสีที่มีความคมชัด และรูปแบบไอโซไซม์ที่ได้มีความชัดเจนดีกว่าการใช้เนื้อเยื่อจากหัวในระยะพักตัว รากในระยะพักตัว หัวในระยะเจริญ รากในระยะเจริญ และใบแก่จากเอนไซม์ทั้ง 4 ระบบ ส่วนของรากไม่ว่าจะอยู่ในระยะใด พบว่าเอนไซม์ GOT ไม่แสดงแถบสีเลย แสดงว่าในรากของหงส์เหินช่อทับทิมที่ศึกษาไม่มีกิจกรรมของเอนไซม์ GOT เอนไซม์อีก 3 ระบบ แสดงแถบสีแต่ให้รูปแบบที่ไม่ชัดเจน และแถบสีที่ได้ไม่มีความคมชัด ส่วนของหัวไม่ว่าจะอยู่ใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระยะใดสามารถแสดงรูปแบบเอนไซม์ทั้ง 4 ระบบแต่แถบที่ได้ไม่เข้มและไม่คมชัด แสดงว่าในพืชชนิดนี้มีกิจกรรมของเอนไซม์ที่ทดสอบน้อย ต่างจากชิ้นส่วนใบไม่ว่าเป็นใบแก่หรือใบอ่อนที่สามารถแสดงแถบสีจากเอนไซม์ทั้ง 4 ระบบซึ่งสอดคล้องกับ Larisa *et al.* (2000) ที่ใช้ส่วนใบและส่วนท่อลำเลียงของพืชสกุล *Chaenomeles* เพื่อวิเคราะห์เอนไซม์ และพบว่าเอนไซม์บางระบบได้แก่ ACP, EST, MDH และ PER แสดงแถบสีที่มีความคมชัดในเนื้อเยื่อทั้ง 2 ชนิด ส่วนเอนไซม์ GOT แสดงแถบสีในชิ้นส่วนเนื้อเยื่อลำเลียงแต่ไม่แสดงแถบสีในใบ และเอนไซม์ PGM แสดงแถบสีในชิ้นส่วนใบแต่ไม่แสดงแถบสีในชิ้นส่วนเนื้อเยื่อลำเลียง

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเนื้อเยื่อที่อยู่ในระยะพักตัวกับในระยะเจริญ พบว่า เนื้อเยื่อในระยะเจริญให้ผลดีกว่า เนื่องจากพืชในระยะพักตัวมีการแสดงออกของกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำ หรือไม่มีการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์เลย ซึ่งขึ้นอยู่กับยีนที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ พืชมีการควบคุมการแสดงออกของยีนทั้งในด้านเวลาหรือระยะการเจริญเติบโต และบริเวณหรืออวัยวะที่มีการสร้างโปรตีน ยีนชนิดเดียวกันอาจมีการแสดงออกต่างกันในชิ้นส่วนเนื้อเยื่อต่างกัน หรือในการพัฒนาอวัยวะหนึ่งๆอาจต้องกระตุ้นหรือยับยั้งการทำงานของยีนต่างชุดกันในแต่ละระยะการพัฒนา (ณัฐา และ คณะ, 2545) นอกจากนี้ยังพบพืชหลายชนิดที่ใช้ชิ้นส่วนใบอ่อนในการสกัดเอนไซม์ ได้แก่ ต้นพลับ (Byrne and Littleton, 1988), กุหลาบ (Grossi *et al.*, 1997), พืชกลุ่มกระเจียว (Apavatjrut *et al.*, 1999 และ Vanijajiva *et al.*, 2003), มะม่วง (Jintanawongse *et al.*, 2000), ต้นท้อ (Agarwal *et al.*, 2001) และ ถั่วฝักยาว (Reis and Frederico, 2001)

การแสดงแถบสีบนเจลมีความเข้มของแถบสีไม่เท่ากัน นอกจากเป็นการแสดงออกของยีนหรืออัลลีลที่แตกต่างกันส่งผลให้เอนไซม์มีกิจกรรมแตกต่างกันแล้ว ปริมาณเอนไซม์ที่สกัดได้ยังมีผลโดยตรง ดังนั้นชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อใบอ่อนน้ำหนัก 0.5 กรัม จึงให้ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมที่สุด โดยแสดงรูปแบบมีความคมชัดและให้สีของแถบเข้ม การใช้น้ำหนักของใบอ่อนน้อยลงทำให้แถบที่ได้ไม่เข้ม แถบบางแถบที่ได้จางลงอาจทำให้รูปแบบแถบสีที่ได้เปลี่ยนไป เป็นผลจากกิจกรรมของเอนไซม์ที่ทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นในสีย้อมน้อยลง ส่วนการเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อใบอ่อนทำให้แถบสีที่ได้มีความเข้มมากขึ้นจนทำให้เกิดเป็นรอยปื้น ซึ่งเกิดจากการมีกิจกรรมของเอนไซม์มากเกินไปหรืออาจเกิดจากการมีปริมาณของสารฟีนอลในเนื้อเยื่อมากเกินไป

จากการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์โดยวิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซีส พบว่าเอนไซม์ 9 ระบบได้แก่ ACP, DIA, EST, GOT, LAP, MDH, POX, SKD และ SOD แสดงลักษณะ polymorphism ส่วนเอนไซม์อีก 11 ระบบไม่แสดงแถบสี โดยเอนไซม์ 6 ระบบ ได้แก่ ACP, DIA, EST, GOT, POX และ SOD สามารถแสดงรูปแบบไอโซไซม์แตกต่างกันมาก ซึ่งเหมาะต่อการนำไปใช้ในการจำแนกความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ชัดเจน ส่วนเอนไซม์ 3 ระบบ ได้แก่ LAP, MDH

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

และ SKD แสดงความแตกต่างของรูปแบบไอโซไซม์เพียงเล็กน้อย ไม่เหมาะกับการนำไปใช้ในการจำแนกความแตกต่างระหว่างกลุ่ม เนื่องจากไม่สามารถแยกกลุ่มตัวอย่างพืชที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างออกจากกัน ทำให้แยกกลุ่มได้จำนวนน้อยกว่าเมื่อใช้เอนไซม์ 6 ระบบข้างต้น ส่วนเอนไซม์ SOD สามารถจำแนกชนิดของหงส์เหินทั้ง 12 ชนิด โดยแต่ละชนิดมีรูปแบบที่เป็นเอกลักษณ์ เมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสามารถจัดกลุ่มได้ 12 กลุ่ม โดยจำแนกหงส์เหินดอกจั๊กก่าออกจากชนิดอื่นอย่างเด่นชัด ถึงแม้ว่าเอนไซม์ SOD สามารถจำแนกชนิดของหงส์เหินออกจากกันได้ทั้งหมดแต่ยังไม่สอดคล้องกับความใกล้ชิดทางสัณฐาน เช่น หงส์เหินช่อทับทิมกับหงส์เหินช่อทับทิมเผือกที่มีลักษณะทางสัณฐานใกล้เคียงกันมาก แต่เมื่อนำไปหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่ามีความสัมพันธ์ค่อนข้างห่างเมื่อวิเคราะห์จากเอนไซม์นี้

การวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์เพื่อการจำแนกกลุ่มพืช พบว่าการใช้ระบบเอนไซม์เพียงระบบเดียวไม่สามารถจำแนกพืชออกจากกันได้ทั้งหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อต้องการยืนยันชนิดเพื่อสนับสนุนการจำแนกทางอนุกรมวิธาน และการหารูปแบบแถบสีที่เป็นเอกลักษณ์ เพื่อนำไปใช้ยืนยันการเป็นลูกผสมของชนิดต่างๆที่เป็นพันธุ์ป่า ดังนั้นการจำแนกกลุ่มพืชด้วยไอโซไซม์ควรใช้เอนไซม์หลายระบบวิเคราะห์ร่วมกัน ดังที่ Agarwal *et al.* (2000) ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของท้อ 12 สายพันธุ์โดยการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ พบว่า เอนไซม์ MDH แสดงแถบสี 3 แถบ และให้รูปแบบไอโซไซม์ไม่แตกต่างกันทั้ง 12 สายพันธุ์ เอนไซม์นี้จึงไม่เหมาะกับการนำมาจำแนกสายพันธุ์ท้อ นอกจากนั้น Vyas *et al.* (2002) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์จากใบของวอลนัท พบว่าเอนไซม์ EST และ MDH สามารถใช้ในการจำแนกกลุ่มโดยอาศัยความแตกต่างทางพันธุกรรมของวอลนัท เนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่ให้รูปแบบจำนวนมาก ในขณะที่ Grossi *et al.* (1997) จำแนกชนิดของกุหลาบทั้งหมด 21 สายพันธุ์ พบว่า เอนไซม์ LAP สามารถจำแนกได้ 12 สายพันธุ์ และเมื่อใช้เอนไซม์ 3 ระบบร่วมกัน คือ LAP EST และ SOD สามารถจำแนกได้ทั้งหมด 19 สายพันธุ์ ซึ่งจำแนกสายพันธุ์ได้ละเอียดกว่า นอกจากนั้น Vanijajiva *et al.* (2002) จำแนกชนิดพืชในวงศ์ Zingiberaceae จำนวน 3 สกุล ได้แก่ *Boesenbergia, Kaempferia* และ *Scaphochlamys* โดยใช้เอนไซม์ 4 ระบบคือ POX, SOD, GDH และ MDH พบว่า เอนไซม์ GDH และ MDH แสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่ต่างกันเพียงเล็กน้อย ไม่สามารถใช้ในการจำแนกชนิดของพืชทั้ง 3 สกุลออกจากกันได้ทั้งหมด แต่เมื่อใช้เอนไซม์ POX และ SOD สามารถจำแนกชนิด ออกจากกันได้เนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่แสดงลักษณะความผันแปรทางพันธุกรรมสูง และให้รูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเอนไซม์ทั้ง 4 ระบบร่วมกัน สามารถนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่ม โดยพืชสกุล *Boesenbergia* มีความใกล้ชิดกับพืชสกุล *Scaphochlamys* มากกว่าพืชสกุล *Kaempferia*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การศึกษาครั้งนี้เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วย UPGMA cluster โดยการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ทั้ง 9 ระบบร่วมกันสามารถแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Globba* จำนวน 60 ตัวอย่าง พบว่า สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ดังนี้

**กลุ่ม 1** ได้แก่ หงส์เหินกาบหยก หงส์เหินละอองดาว หงส์เหินผีเสื้อ หงส์เหิน หงส์เหินใบข้าวโพด หงส์เหินรวงข้าว หงส์เหินใบไผ่ หงส์เหินช่อทับทิม และ หงส์เหินช่อทับทิมเผือก

**กลุ่ม 2** คือ หงส์เหินดอกจั๊กก่า

**กลุ่ม 3** ได้แก่ หงส์เหินช่ออำพัน และ หงส์เหินช่อชมพู

**กลุ่ม 1** มีจำนวนประชากรมากที่สุดสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 2 กลุ่มย่อย คือ

กลุ่มย่อย 1.1 ได้แก่ หงส์เหินกาบหยก หงส์เหินละอองดาว หงส์เหินผีเสื้อ หงส์เหิน หงส์เหินใบข้าวโพด หงส์เหินรวงข้าว และหงส์เหินใบไผ่ โดยทั้งหมดมีลักษณะช่อดอกเป็นแบบช่อยาวโค้ง และมีการเรียงตัวของกลีบประดับตามความยาวแกนช่อ

กลุ่มย่อย 1.2 ได้แก่ หงส์เหินช่อทับทิม และหงส์เหินช่อทับทิมเผือก มีลักษณะช่อดอกแบบช่อสั้น กลีบประดับอัดแน่นรวมกันเป็นกระจุก

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างในกลุ่มย่อย 1.1 พบว่าที่ระดับความแตกต่าง 22 % หงส์เหินกาบหยก สามารถจำแนกออกจากกลุ่มอื่นได้ชนิดเดียว โดยหงส์เหินชนิดนี้มีลักษณะเด่นคือ รูปร่างใบรี ใบมีการเรียงสลับแบบบันไดเวียน มีขนบนใบทั้งสองด้าน มีการเกิด bulbil ลักษณะยาวรีในช่อดอก กลีบประดับสีเขียวไม่แผ่แต่งอุ้มหุ้ม bulbil ไว้ พบว่าต้น 2, 3, 4 และ 5 มีความสัมพันธ์กันมากกว่าต้น 1 เป็นผลมาจากต้น 2, 3, 4 และ 5 มีพันธุกรรมภายในแต่ละต้นมีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อย

ที่ระดับความแตกต่าง 21% หงส์เหินละอองดาว และหงส์เหินผีเสื้อ ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน โดยมีลักษณะที่เหมือนกันคือ ช่อดอกเป็นแบบช่อตั้ง กลีบประดับมีขนาดเล็กและร่วงหลุดออกจากช่อดอกได้ง่ายจึงไม่ปรากฏกลีบประดับในช่อดอก กลีบประดับย่อยลดรูปกลายเป็นใบเกล็ดอยู่บนก้านดอกย่อย ผลมีรูปทรงกระบอกผิวเรียบมีสันตามแนวยาว และที่ระดับความแตกต่าง 17 % หงส์เหินทั้งสองชนิดแยกออกจากกัน โดยมีลักษณะที่แตกต่างกันคือ หงส์เหินผีเสื้อมีดอกสีเหลือง มีรยางค์ข้างอับละอองเรณู 2 อัน โดยบริเวณปลายแต่ละแผ่นมีการแยกออกเป็น 2 แฉกจนถึงกลางแผ่น และแผ่น staminode เป็นรูปไข่กลับขนาดใหญ่ พบว่าต้น 4 และ 5 มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากที่สุด ส่วนหงส์เหินละอองดาวมีดอกสีขาว ช่อดอกที่พบมีทั้งแบบช่อสั้นและแบบช่อยาว มีรยางค์ข้างอับละอองเรณู 2 อัน แผ่นปากมีจุดแต้มสีเหลืองอยู่บริเวณปลายแฉกทั้งสองแฉก และแผ่น staminode เป็นรูปขอบขนานขนาดเล็ก พบว่าต้น 3, 4 และ 5 มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันเนื่อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากช่อดอกเป็นกลุ่มช่อสั้น ส่วนต้น 1 และ 2 มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันเนื่องจากช่อดอกเป็นกลุ่มช่อยาว

ที่ระดับความแตกต่าง 19% หงส์เหินสามารถจำแนกได้เป็นชนิดเดียว โดยมีลักษณะเด่นคือ ลำต้นสูง ทรงพุ่มขนาดใหญ่ ช่อดอกและกลีบประดับมีขนาดใหญ่ พบหลายสีได้แก่ สีขาว ขาวฉาบชมพู และสีชมพูซีด มีระยะการเกิดก้านดอกย่อยที่ห่าง พบว่าต้น 1 มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับต้น 2 โดยทั้ง 2 ต้นมีช่อดอกแบบโค้งยาว กลีบประดับมีขนาดใหญ่สีขาว ต้น 4 มีความใกล้ชิดกับต้น 5 โดยทั้ง 2 ต้นมีช่อดอกแบบโค้งยาว กลีบประดับมีขนาดใหญ่สีขาวฉาบและแต้มชมพู ส่วนต้น 3 มีช่อดอกแบบโค้งยาว กลีบประดับมีขนาดใหญ่สีชมพูซีด ทำให้ต้น 3 มีความสัมพันธ์ห่างจากต้นอื่น ที่ระดับความแตกต่างนี้สามารถจัดกลุ่มหงส์เหินใบข้าวโพด หงส์เหินรวงข้าว และหงส์เหินใบไผ่ ให้อยู่ในกลุ่มเดียวกันโดยมีลักษณะที่เหมือนกันคือ มีความสูงของต้นไม่มากนัก รูปร่างใบมีลักษณะเรียวยาว มีขนบนใบทั้งสองด้าน มีขนหูใบ ช่อดอกมีลักษณะโค้งขนาดเล็ก และแผ่น staminode เป็นรูปรีมีขนาดเล็ก ที่ระดับความแตกต่าง 13% หงส์เหินทั้ง 3 ชนิด สามารถจำแนกออกจากกันโดยมีลักษณะที่แตกต่างกันคือ หงส์เหินใบข้าวโพด มีใบรูปขอบขนานแกมหอก ปลายใบแหลมและยื่นยาว กลีบประดับสีเขียว รูปขอบขนานแกมรูปรี ปลายใบแหลม ฐานใบตัดเป็นเส้นตรง แผ่น staminode มีการแผ่ออกจากตัวดอกเล็กน้อย พบว่าต้น 1 มีความใกล้ชิดกับต้น 2 ส่วนหงส์เหินรวงข้าวและหงส์เหินใบไผ่มีลักษณะคล้ายกันคือ ใบขอบขนานแกมรูปรี ปลายใบแหลม กลีบประดับสีม่วงแดงรูปรี ฐานกลีบกลมมน แผ่น staminode มีการแผ่เกือบทำมุมฉากกับตัวดอก ลักษณะที่ต่างกันคือ หงส์เหินรวงข้าวมีปลายกลีบประดับรูปมน และยื่นเป็นติ่งสั้นๆ ขอบแผ่น staminode มีรอยหยัก พบว่าทุกต้นมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน อาจเป็นเพราะทั้ง 5 ต้นมีต้นกำเนิดมาจากสายต้นเดียวกัน ทำให้ลักษณะทางพันธุกรรมในแต่ละต้นเหมือนกัน ส่วนหงส์เหินใบไผ่มีปลายกลีบประดับรูปแหลม ขอบ staminode เรียบ พบว่า ต้น 2 มีความใกล้ชิดกับต้น 3 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์พบว่าหงส์เหินรวงข้าวและหงส์เหินใบไผ่มีความใกล้ชิดกันมาก

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างในกลุ่มย่อย 1.2 พบว่าที่ระดับความแตกต่าง 14 % หงส์เหินช่อทับทิม และหงส์เหินช่อทับทิมเผือกถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน โดยมีลักษณะที่เหมือนกันคือ ก้านช่อดอกและก้านดอกย่อยหดสั้น ทำให้กลีบประดับอัดแน่นเป็นกระจุกอยู่บริเวณปลายช่อดอก มีการเกิด bulbil รูปร่างยาวรีในช่อดอก ที่ระดับความแตกต่าง 13% สามารถจำแนกทั้ง 2 ชนิดออกจากกัน โดยมีลักษณะที่แตกต่างกันคือ หงส์เหินช่อทับทิมมีการเรียงตัวของใบแบบสลับคล้ายบันไดเวียนไม่มีขนบนใบทั้งสองด้าน กลีบประดับสีม่วงแดง พบว่าทุกต้นมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน อาจเป็นเพราะทั้ง 5 ต้นมีต้นกำเนิดมาจากสายต้นเดียวกัน เนื่องจากมีการขยายพันธุ์โดย bulbil ทำให้ลักษณะทางพันธุกรรมในแต่ละต้นเหมือนกัน ส่วนหงส์เหินช่อทับทิมเผือกมีการเรียงตัวของใบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบสลับซ้ายขวา มีขนบนใบทั้งสองด้าน กลีบประดับสีขาวอมเขียว พบว่าต้น 2, 4 และ 5 มีความใกล้ชิดกัน

พบว่าหงส์เหินในกลุ่ม 1 สามารถจำแนกหงส์เหินที่มีลักษณะแตกต่างทางสัณฐานวิทยาได้ 9 กลุ่ม (ชนิด)

**กลุ่ม 2** คือ หงส์เหินดอกจั๊กก่า ซึ่งแยกออกจากกลุ่มอื่นได้อย่างชัดเจน มีลักษณะเด่นคือ ใบมีขนาดใหญ่เป็นแผ่นบางเห็นเส้นใบชัดเจน ไม่มีขนบนใบทั้งสองด้าน กลีบประดับมีสีขาวเขียว ระยะการเกิดถี่ และกลีบเหลื่อมซ้อนกัน มีจุดแต้มสีส้มบริเวณกลางแผ่นปาก พบว่าต้น 2, 3, 4 และ 5 มีความใกล้ชิดกัน เนื่องจากเป็นกลุ่มที่มีความยาวช่อดอกค่อนข้างสั้น และการเรียงตัวของกลีบประดับมีความเหลื่อมกันน้อย ส่วนต้น 1 มีความสัมพันธ์ห่างจากต้นอื่น เนื่องจากมีช่อดอกยาวกว่า การเรียงตัวของกลีบประดับซ้อนกันถี่

**กลุ่ม 3** ได้แก่หงส์เหินช่ออำพันและหงส์เหินช่อชมพู ที่ระดับความแตกต่าง 20% หงส์เหินทั้งสองชนิดถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน โดยมีลักษณะที่เหมือนกันคือ กลีบประดับเป็นรูปไข่ ช่วงตัวช่อดอกสั้น มี bulbil รูปร่างกลมในช่อดอก ที่ระดับความแตกต่าง 19% สามารถจำแนกทั้ง 2 ชนิดออกจากกัน โดยมีลักษณะที่แตกต่างกันคือ หงส์เหินช่ออำพันไม่มีขนบนใบทั้งสองด้าน กลีบประดับสีเขียวอมส้ม bulbil มีรูปร่างกลมขนาดใหญ่ บริเวณกลางแผ่นปากมีจุดแต้มสีม่วงแดง กลีบประดับย่อยเรียงสลับและมีการทิ้งช่วงห่างบนก้านดอกย่อยตลอดทั้งก้าน พบว่าต้น 3 มีความใกล้ชิดกับต้น 4 ส่วนต้น 1 มีความใกล้ชิดกันต้น 2 ทั้ง 2 กลุ่มอาจมีจุดกำเนิดจากสายต้นที่ต่างกัน ส่วนหงส์เหินช่อชมพู มีขนด้านล่างใบ บนใบไม่มีขน กลีบประดับสีเขียวเหลืองฉาบม่วงอ่อน bulbil มีรูปร่างกลมขนาดเล็กกว่า กลีบประดับย่อยหุ้มโคนดอกย่อยเป็นกระจุก พบว่าต้น 3 มีความสัมพันธ์ห่างจากต้นอื่น เนื่องจากมีการเรียงตัวของกลีบประดับซ้อนถี่กว่าต้นอื่น มีแต้มสีม่วงอ่อนบริเวณปลายกลีบประดับไม่กระจายทั่วทั้งกลีบ ช่อดอกมีขนาดสั้นกว่าและมีการบานของช่อดอกช้ากว่าต้นอื่น

พบว่าหงส์เหินในกลุ่ม 3 สามารถจำแนกหงส์เหินที่มีลักษณะแตกต่างทางสัณฐานวิทยาได้ 2 กลุ่ม (ชนิด)

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหงส์เหินช่ออำพันและหงส์เหินกาบหยกพบว่า มีลักษณะคล้ายกัน คือ มี bulbil บนช่อ บริเวณกลางแผ่นปากมีจุดแต้ม มีรยางค์ 4 อัน และสีกลีบประดับคล้ายกัน แต่มีลักษณะที่แตกต่างกัน คือ หงส์เหินช่ออำพันมีการเรียงตัวของใบแบบสลับซ้ายขวา ใบรูปรีไม่มีขนบนใบทั้งสองด้าน กลีบประดับรูปไข่สีเขียวอมเหลือง กลีบประดับย่อยเรียงสลับมีการทิ้งช่วงห่างบนก้านดอกย่อยตลอดทั้งก้าน ส่วนหงส์เหินกาบหยกมีการเรียงตัวของใบเมื่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มองด้วยตาเปล่าแบบสลับซ้ายขวา ใบรูปรี มีขนบนใบทั้งสองด้าน กลีบประดับรูปรีมีสีเขียว กลีบประดับย่อยเรียงสลับหุ้มโคนดอกย่อยเป็นกระจุก

จากการจัดกลุ่มชนิดพืชสกุล *Globba* พบว่า หงส์เหินที่นำมาศึกษามีความแปรปรวนภายในชนิดและระหว่างชนิดมาก มีความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยา แต่เมื่อใช้ไอโซไซม์เป็นเครื่องหมายในการจำแนกชนิด และแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหงส์เหินพบว่า การวิเคราะห์ไอโซไซม์ทั้ง 9 ชนิดร่วมกันสามารถจำแนกชนิดของหงส์เหินที่ทำการศึกษาได้ทั้งหมด และจำแนกกลุ่มได้ชัดเจนสอดคล้องกับการจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา การศึกษาครั้งนี้ยังสามารถได้รูปแบบไอโซไซม์ที่เป็นเอกลักษณ์ของแต่ละชนิด และบางกรณีสามารถจำแนกสายต้น เพื่อนำไปใช้ประโยชน์สนับสนุนงานด้านอนุกรมวิธาน และงานปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved