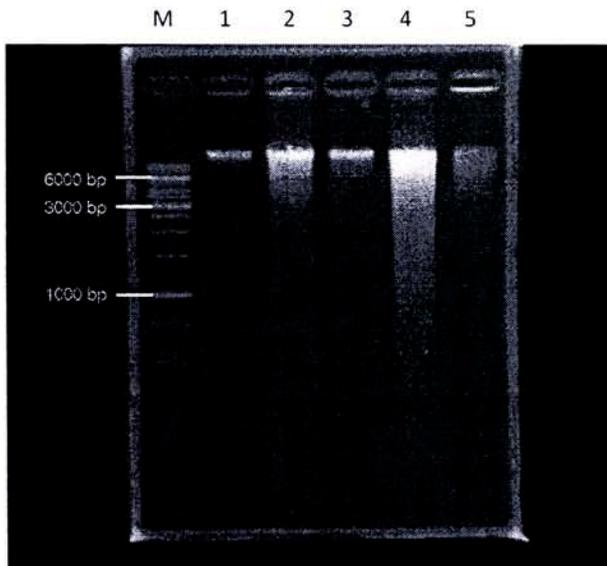


## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### การสกัดดีเอ็นเอและการตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ

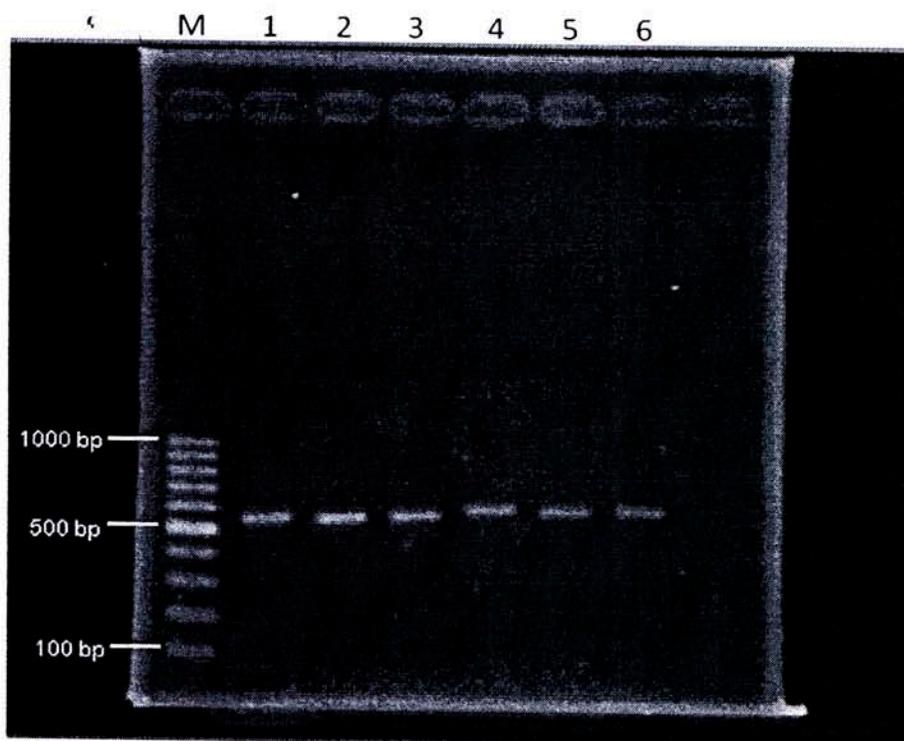
การสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของพืชสกุลบัวสายโดยวิธีดัดแปลงจาก Agrawal, et al. (1992) และ Doyle and Doyle (1987) พบว่าสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้ส่วนใหญ่มีลักษณะใสไม่มีสี มีเพียงบางตัวอย่างที่มีสีเหลืองอ่อน และเมื่อนำมาตรวจสอบคุณภาพด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารละลายดีเอ็นเอที่ใสไม่มีสี (ภาพ 2 ช่องที่ 1, 3 และ 5) นั้นจะมีปริมาณดีเอ็นเอประมาณ 90 นาโนกรัมต่อไมโครลิตรเมื่อเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder (Fermentas)) ขณะที่สารละลายดีเอ็นเอที่มีสีเหลืองอ่อน (ภาพ 1 ช่องที่ 2 และ 4) นั้นจะมีความเข้มข้นของดีเอ็นเอประมาณ 170 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เมื่อได้ทำการเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน แต่พบว่ามีรอยสเมียร์ (smear) เกิดขึ้นด้วย บ่งบอกว่าดีเอ็นเอมีการแตกหัก และยังพบว่าการสกัดดีเอ็นเอโดยวิธีดัดแปลงจาก Agrawal, et al. (1992) นั้นสารละลายดีเอ็นเอที่ได้จะมีปริมาณและคุณภาพที่ดีกว่าการสกัดโดยวิธีดัดแปลงจาก Doyle and Doyle (1987)



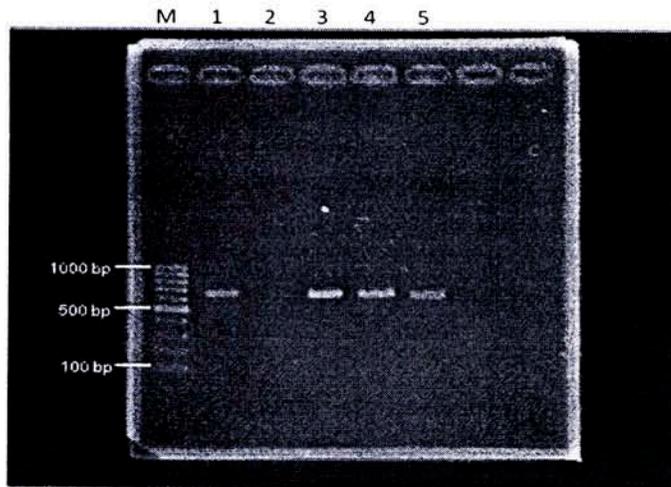
ภาพ 2 แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากการสกัดด้วยวิธีดัดแปลงจาก Agrawal (M = GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder; Lane 1,3 = *N. capensis*; Lane 2,4 = *Nymphaea* sp. (ขาวอชุธยา); และ Lane 5 = *N. colorata*)

### การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและหาลำดับนิวคลีโอไทด์

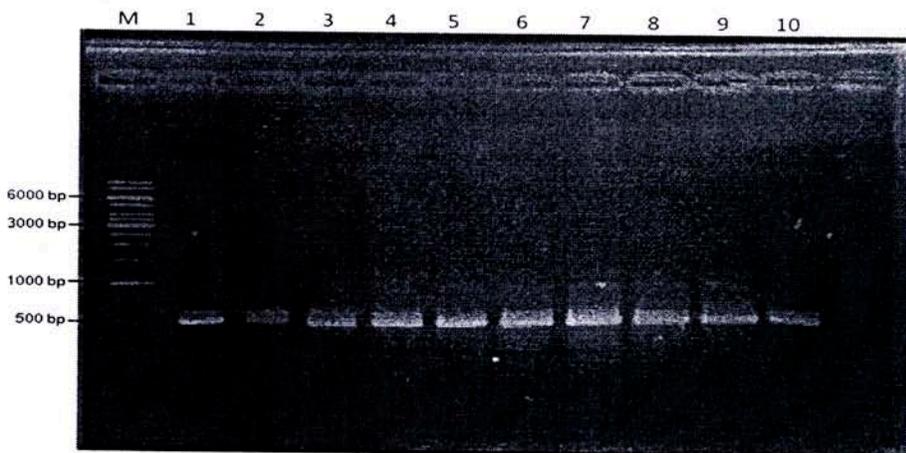
สารละลายดีเอ็นเอที่สกัดด้วยวิธีดัดแปลงจาก Agrawal, et al. (1992) และ Doyle and Doyle (1987) ส่วนใหญ่สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้เนื่องจากมีความบริสุทธิ์ที่เหมาะสม ยกเว้นบางตัวอย่าง เช่น *Nymphaea* sp. (ชาวสวนหลวง) ที่จะต้องนำสารละลายดีเอ็นเอมาเจือจางความเข้มข้นที่ 10 เท่าและ 100 เท่าก่อนการนำไปเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ เนื่องจากมีการปนเปื้อนของสารประกอบฟีนอล จากผลของการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส พบว่า ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้จากบริเวณระหว่างยีน *trnT-L* บริเวณอินทรอนของยีน *trnL* และบริเวณระหว่างยีน *trnL-F* มีขนาดประมาณ 550, 650 และ 500 คู่เบส (ภาพ 3, 4 และภาพ 5) ตามลำดับ



ภาพ 3 ผลการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณระหว่างยีน *trnT-L* (M = GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder; Lane 1 = *Nymphaea* 'Chalongkwan'; Lane 2 = *N. lotus*; Lane 3 = *Nymphaea* sp. ชาวชมพู่เล็ก (ฐานใบปิด); Lane 4 = *N. capensis*; Lane 5 = *N. gigantea* (ดอกสีขาว); และ Lane 6 = *N. gigantea* (ดอกสีม่วง))



ภาพ 4 ผลการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณอินทรอนของยีน *trnL* (M = GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder; Lane 1 = *Victoria amazonica*; Lane 2 = *Nymphaea* 'Royal purple'; Lane 3 = *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง); Lane 4 = *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบเปิด); และ Lane 5 = *Nymphaea* 'Sunrise')



ภาพ 5 ผลการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณระหว่างยีน *trnL-F* (M = GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder; Lane 1 = *N. neorosea*; Lane 2 = *N. carpentaria*; Lane 3 = *N. immutabilis*; Lane 4 = *N. atrans*; Lane 5 = *N. violacea*; Lane 6 = *N. alba*; Lane 7 = *N. micrantha*; Lane 8 = *N. mexicana* (ดอกขนาดใหญ่); Lane 9 = *N. cyanea*; และ Lane 10 = *N. rudgeana*)

### การวิเคราะห์หา phylogenetic tree และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์มาจัดเรียง (alignment) แล้วนำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางด้านวิวัฒนาการด้วยการวิเคราะห์ maximum parsimony ด้วยโปรแกรม PAUP\* version 4.0b10 และวิเคราะห์ bootstrap support จำนวน 1,000 ซ้ำ โดยมีการวิเคราะห์ทั้งแบบแยกข้อมูลของแต่ละบริเวณและแบบรวมข้อมูลในทุกๆ บริเวณ โดยมี outgroups คือสกุล *Cabomba* และ *Brasenia* ผลปรากฏดังตาราง 4 โดยบริเวณระหว่างยีน *trnT-L* มีจำนวนของข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetically informative site) สูงที่สุด (8.17%) ถัดมาคือบริเวณระหว่างยีน *trnL-F* (7.31%) และน้อยที่สุดคือบริเวณอินทรอนของยีน *trnL* (7.24%) และเมื่อรวมข้อมูลทั้งสามข้อมูลแล้วพบว่าข้อมูลที่สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจำนวน 149 indels (7.56%) ขณะที่อัตราส่วนของ transition/transversion ของบริเวณระหว่างยีน *trnT-L*, บริเวณอินทรอนของยีน *trnL* และถัดมาคือบริเวณระหว่างยีน *trnL-F* เท่ากับ 1.4, 0.7 และ 0.6 ตามลำดับ

ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์ maximum parsimony ของบริเวณระหว่างยีน *trnT-L-F* บริเวณอินทรอนของยีน *trnL* และการวิเคราะห์ข้อมูลร่วมกัน

	<i>trnT-L</i> spacer	<i>trnL</i> intron	<i>trnL-F</i> spacer	Combined data
ts/tv ratio	1.4	0.7	0.6	-
No. of character	624	760	588	1972
No. of constant sites	513(82.21%)	632(83.16%)	487 (82.82%)	1632(82.76%)
No. of variable sites	111(17.79%)	128(16.84%)	101(17.18%)	340(17.24%)
No. of phylogenetically informative site	51(8.17%)	55(7.24%)	43 (7.31%)	149(7.56%)
Tree length (steps)	133	176	125	471
Consistency index (CI)	0.872	0.773	0.888	0.851
Retention index (RI)	0.933	0.770	0.957	0.884

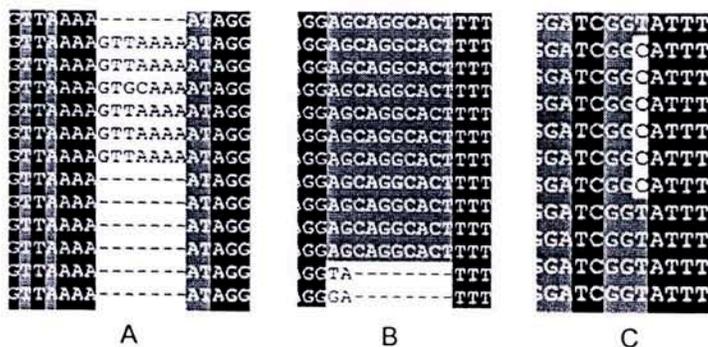


การวิเคราะห์บริเวณระหว่างยีน *trnT-L*

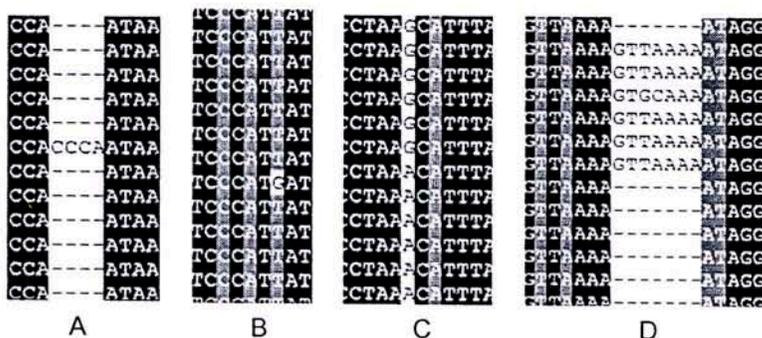
การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณระหว่างยีน *trnT-L* ด้วยวิธี maximum parsimony พบว่ามีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 495 คู่เบส (*Euryale ferox*) ถึง 519 คู่เบส (*Cabomba caroliniana* A.Gray.) โดยพืชสกุลบัวสายนั้นมีความยาวจำนวน 496 ถึง 516 คู่เบส และเมื่อนำข้อมูลทั้งหมดที่ได้มาจัดเรียงจะมีความยาวรวม 624 คู่เบส พบบริเวณที่เกิดการเพิ่มขึ้นมาของลำดับนิวคลีโอไทด์ (insertion) (ภาพ 6B) มี 24 บริเวณ ขนาดตั้งแต่ 1-16 คู่เบส โดยมี 12 บริเวณที่ใช้ออกสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (informative characters) ได้ ซึ่งข้อมูลทั้งหมดจะพบการเพิ่มของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณซ้ำ 14 บริเวณ (ภาพ 6A) ส่วนการขาดหายของลำดับนิวคลีโอไทด์จะมี (deletion) (ภาพ 6B) 9 บริเวณ ขนาดตั้งแต่ 1-10 คู่เบส มี 3 บริเวณที่บอกสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีลำดับของนิวคลีโอไทด์ที่คงที่ในทุกๆ ตัวอย่าง (constant character) 513 คู่เบส (82.21%) ผันแปรในแต่ละตัวอย่าง (variable character) 111 คู่เบส (17.79%) โดยความผันแปรนี้สามารถแบ่งเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบเฉพาะบางตัวอย่าง (singleton) (ภาพ 7A และภาพ 7B) จำนวน 60 คู่เบส (9.62%) และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถบอกสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจำนวน 51 คู่เบส (8.17%) (ภาพ 7C และภาพ 7D) ค่า GC content ประมาณ 39% อัตราส่วน transition/transversion (ภาพ 6C) เท่ากับ 1.4 (ตาราง 4)

ผลการวิเคราะห์ maximum parsimony พบว่า phylogenetic tree ที่ได้มีเพียง topology เดียวที่มีค่า tree length เท่ากับ 133 ค่า Consistency index (CI) เท่ากับ 0.872 และค่า Retention index (RI) เท่ากับ 0.933 โดยในการศึกษาคั้งนี้ใช้พืชวงศ์บัวสาย 2 ชนิดเป็น outgroup คือ *Cabomba caroliniana* และ *Brasenia schreberi* J.F.Gmel. จากความสัมพันธ์ที่ได้พบว่าพืชวงศ์บัวสายมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับพืชวงศ์บัวสาย และสามารถบอกได้ว่าพืชวงศ์บัวสายเป็น monophyletic group เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ภายในวงศ์บัวสายพบว่าพืชสกุล *Nuphar* คือ *N. lutea* (L.) Sm. เป็น basal lineage ของพืชวงศ์บัวสายทั้งหมด ขณะที่พืชสกุล *Barclaya* คือ *B. longifolia* ก็จะแยกสายวิวัฒนาการต่อมา และสกุลอื่นๆ ที่เหลือคือ *Ondinea*, *Euryale*, *Victoria* และ *Nymphaea* จะอยู่กันเป็นกลุ่มใหญ่ โดยที่สกุล *Euryale* คือ *E. ferox* และสกุล *Victoria* คือ *V. amazonica* ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน โดยแยกจากอีก 2 สกุลที่เหลืออย่างชัดเจนด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (75%) ขณะที่สกุล *Ondinea* คือ *O. purpurea* จะแทรกอยู่ในสกุลย่อย *Anecphyta* ของสกุลบัวสาย (*Nymphaea*) (ภาพ 8)

ความสัมพันธ์ภายในสกุลบัวสาย พบว่าสามารถแยกได้เพียง 4 กลุ่มย่อยของ 4 สกุลย่อย คือ *Nymphaea* (A), *Lotos* (B), *Anecphyta* (C) และ *Brachyceras* (D) เท่านั้นขณะที่สกุลย่อย



ภาพ 6 ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น; A. การเพิ่มของลำดับนิวคลีโอไทด์ตรงบริเวณซ้ำ B. การเพิ่มขึ้นและการขาดหายของลำดับนิวคลีโอไทด์ C. การแทนที่ของลำดับนิวคลีโอไทด์



ภาพ 7 ลักษณะความผันแปรในลำดับนิวคลีโอไทด์เกิดขึ้น; A. และ B. ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบเฉพาะบางตัวอย่าง C. และ D. ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บอกสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้

*Hydrocallis* (E) ไม่รวมเป็นกลุ่ม นอกจากนี้ *N. petersiana* และ *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง) ก็ไม่สามารถรวมอยู่กับกลุ่มใดได้เลยเช่นกันแต่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสกุลย่อย *Anecphyra* (C) และ *Brachyceras* (D) มากที่สุด

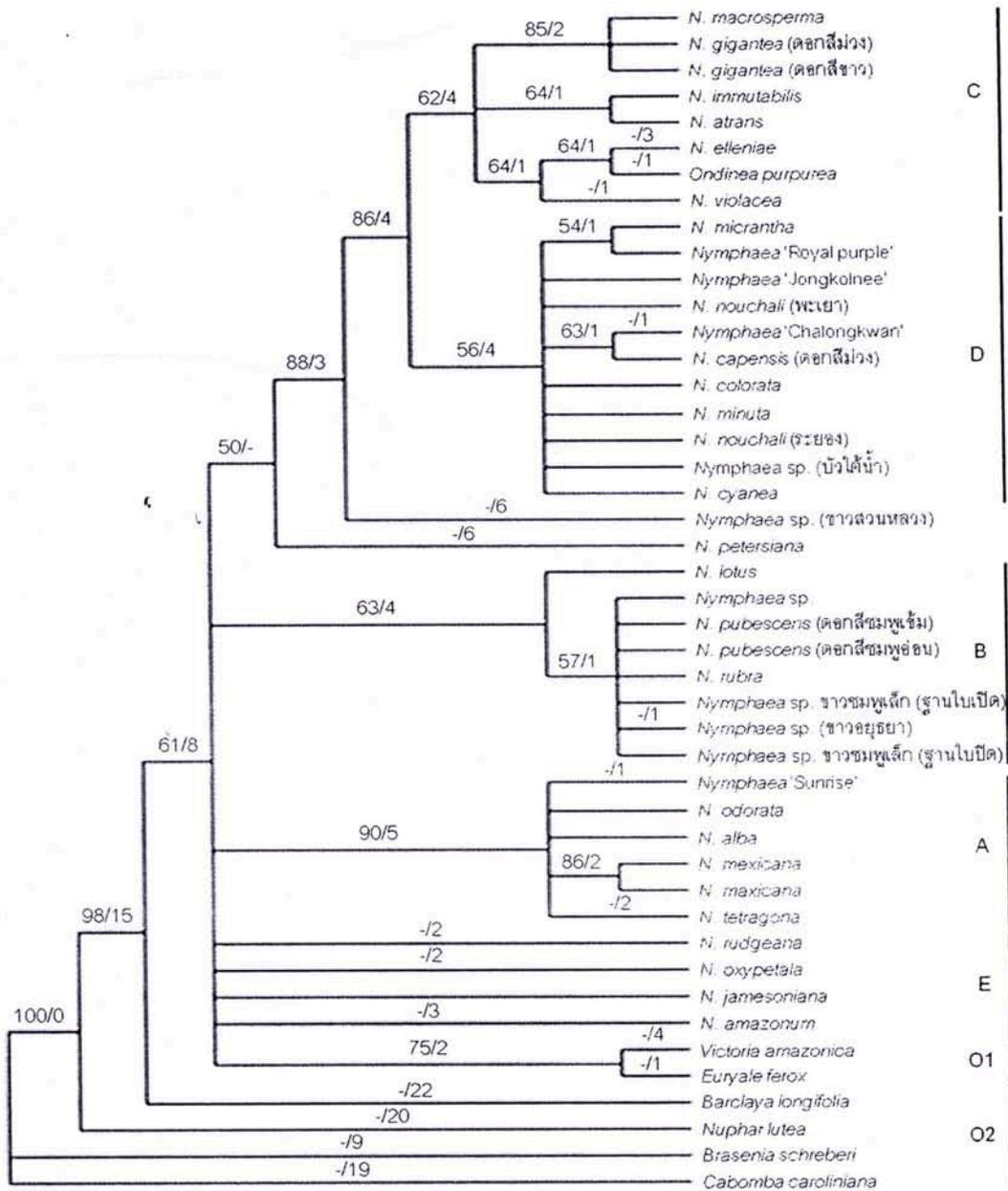
ความสัมพันธ์ภายในสกุลย่อย *Nymphaea* (A) ถูกสนับสนุนด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (90%) ประกอบด้วยสมาชิกทั้งหมด 6 ตัวอย่าง คือ *N. alba*, *N. odorata*, *N. tetragona*, *N. mexicana* 2 ตัวอย่าง (ดอกขนาดเล็กและขนาดใหญ่) และ *Nymphaea* 'Sunrise' โดยที่ *N. mexicana* ทั้ง 2 ตัวอย่างนี้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันที่สุดด้วยค่า bootstrap support ที่สูง

(86%) ถึงแม้จะมีขนาดของดอกที่แตกต่างกันก็ตาม ดังนั้นอาจสามารถระบุได้ว่าทั้ง 2 ตัวอย่างนี้เป็นชนิดเดียวกัน

ความสัมพันธ์ภายในสกุลย่อย *Lotos* ที่มีค่า bootstrap support ระดับปานกลาง (63%) ประกอบด้วยสมาชิก 8 ตัวอย่าง คือ *N. lotus* (ชมพูลินจง), *N. pubescens* (ดอกสีชมพูเข้มและสีชมพูอ่อน), *N. rubra*, *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก 2 ตัวอย่าง (ฐานใบเปิดและปิด), *Nymphaea* sp. (ขาวอูฐยา) และ *Nymphaea* sp. โดยที่ *N. lotus* จะแยกออกมาจากตัวอย่างอื่นในกลุ่มใหญ่ภายในกลุ่มใหญ่สนับสนุนด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (57%) โดยสมาชิกภายในกลุ่มนี้ประกอบด้วย *N. rubra*, *N. pubescens* 2 ตัวอย่าง (ดอกสีชมพูเข้มและสีชมพูอ่อน) และ *Nymphaea* sp. 4 ตัวอย่าง ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า *N. rubra* และ *N. pubescens* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันและ *Nymphaea* sp. ทั้ง 4 ตัวอย่างอาจจะเป็นบัวสายชนิด *N. pubescens* ทั้งหมดก็ได้

ความสัมพันธ์ภายในกลุ่มสกุลย่อย *Anechphyta* (C)-*Brachyceras* (D) ถูกสนับสนุนด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (86%) โดยทั้งสองสกุลย่อยนี้แยกความสัมพันธ์กันด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (62% และ 56% ตามลำดับ) ภายในสกุลย่อย *Anechphyta* (C) ประกอบด้วยสมาชิก 8 ตัวอย่างคือ *N. macrosperma*, *N. gigantea* 2 ตัวอย่าง (ดอกสีขาวและสีม่วง), *N. atrans*, *N. immutabilis*, *N. violacea*, *N. elleniea* และ *Ondinea purpurea* ความสัมพันธ์ภายในสกุลย่อยนี้ สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มย่อย คือกลุ่มย่อยแรกประกอบด้วย 3 ตัวอย่างคือ *N. macrosperma*, *N. gigantea* 2 ตัวอย่าง (ดอกสีขาวและสีม่วง) ด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (85%) กลุ่มย่อยที่สองประกอบด้วย *N. atrans* และ *N. immutabilis* ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (64%) และกลุ่มย่อยที่ 3 ประกอบด้วย 3 ตัวอย่างคือ *N. violacea*, *N. elleniea* และ *Ondinea purpurea* ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (64%) โดยภายในกลุ่มย่อยนี้พบว่า *N. elleniea* และ *Ondinea purpurea* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (64%)

ขณะที่ภายในสกุลย่อย *Brachyceras* (D) ประกอบด้วยสมาชิก 11 ตัวอย่างคือ *N. micrantha*, *N. nouchali* 2 ตัวอย่าง (พะเยาและระยอง), *N. capensis* (ดอกสีม่วง), *N. colorata*, *N. minuta*, *N. cyanea*, *Nymphaea* 'Jongkolnee', *Nymphaea* 'Chalongkwan', *Nymphaea* 'Royal purple' และ *Nymphaea* sp. (บัวใต้น้ำ) โดยที่พบว่าความสัมพันธ์ภายในสกุลย่อยนี้มี 2 กลุ่ม คือความสัมพันธ์ของ *N. micrantha* และ *Nymphaea* 'Royal purple' ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (54%) และความสัมพันธ์ของ *N. capensis* (ดอกสีม่วง) และ *Nymphaea* 'Chalongkwan' ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (63%) (ภาพ 8)



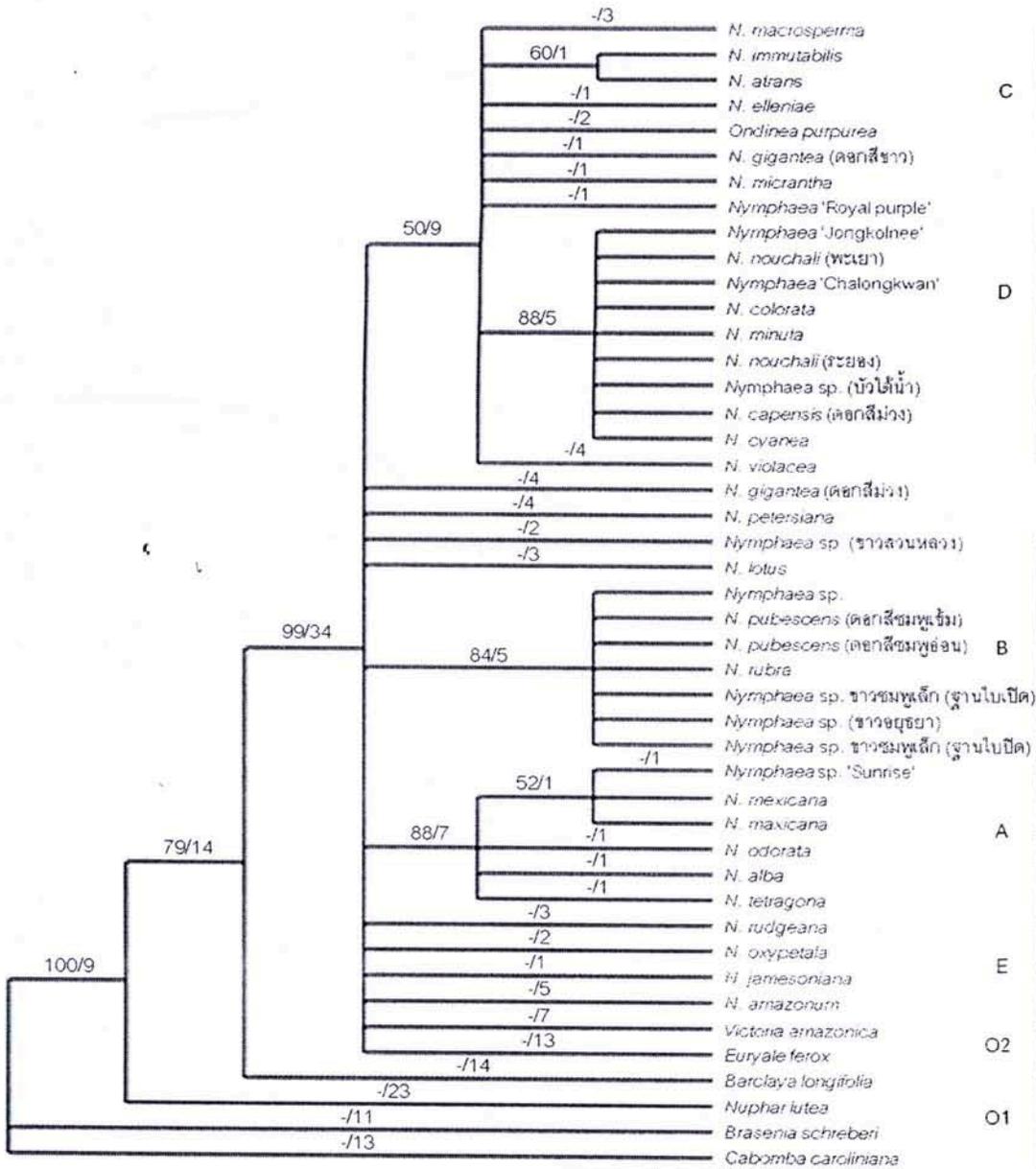
ภาพ 8 Maximum parsimonious tree จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณระหว่าง ยีน *trnT-L* โดยที่ O คือ outgroup และ A B C D E คือกลุ่มของสกุลย่อยต่างๆ (ตัวเลขด้านหน้าเครื่องหมายทับคือ bootstrap support ตัวเลขด้านหลังคือ character support ขีดคือค่า bootstrap support ที่น้อยกว่า 50%)

การวิเคราะห์บริเวณอินทรอนของยีน *trnL*

การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณอินทรอนของยีน *trnL* ด้วยวิธี maximum parsimony พบว่ามีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 549 คู่เบส (*Cabomba caroliniana*) ถึง 634 คู่เบส (*Nuphar lutea*) โดยพืชสกุลบัวสายนั้นมีความยาวจำนวน 559 (*Nymphaea tetragona*) ถึง 604 คู่เบส (*N. amazonum*) และเมื่อนำข้อมูลทั้งหมดที่ได้มาจัดเรียงจะมีความยาวรวม 760 คู่เบส พบบริเวณที่เกิดการเพิ่มขึ้นมาของลำดับนิวคลีโอไทด์มี 17 บริเวณ ขนาดตั้งแต่ 2-13 คู่เบส โดยมี 9 บริเวณที่ใช้บอกสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้ ซึ่งข้อมูลทั้งหมดจะพบการเพิ่มของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณซ้ำ 6 บริเวณ ส่วนการขาดหายของลำดับนิวคลีโอไทด์จะมี 8 บริเวณ ขนาดตั้งแต่ 1-15 คู่เบส มี 2 บริเวณที่บอกสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีลำดับของนิวคลีโอไทด์ที่คงที่ในทุกๆ ตัวอย่าง 632 คู่เบส (83.16%) ผันแปรในแต่ละตัวอย่าง 128 คู่เบส (16.84%) โดยความผันแปรนี้สามารถแบ่งเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบเฉพาะบางตัวอย่างจำนวน 73 คู่เบส (9.61%) และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถบอกสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจำนวน 55 คู่เบส (7.24%) ค่า GC content ประมาณ 36% อัตราส่วน transition/transversion เท่ากับ 0.7 (ตาราง 4)

ผลการวิเคราะห์ maximum parsimony พบว่า phylogenetic tree ที่ได้มีเพียง topology เดียวที่มีค่า tree length เท่ากับ 176 ค่า Consistency index เท่ากับ 0.773 และค่า Retention index เท่ากับ 0.770 โดยในการศึกษาครั้งนี้ใช้พืชวงศ์บัวสาหร่าย 2 ชนิดเป็น outgroup คือ *Cabomba caroliniana* และ *Brasenia schreberi* จากความสัมพันธ์ที่ได้พบว่าพืชวงศ์บัวสาหร่ายมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับพืชวงศ์บัวสาย และสามารถบอกได้ว่าพืชวงศ์บัวสายเป็น monophyletic group เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ภายในวงศ์บัวสายพบว่าพืชสกุล *Nuphar* คือ *N. lutea* เป็น basal lineage ของพืชวงศ์บัวสายทั้งหมด ขณะที่พืชสกุล *Barclaya* คือ *B. longifolia* ก็จะแยกสายวิวัฒนาการต่อมา และสกุลอื่นๆ ที่เหลือคือ *Ondinea*, *Euryale*, *Victoria* และ *Nymphaea* จะอยู่กันเป็นกลุ่มใหญ่ โดยที่สกุล *Ondinea* คือ *O. purpurea* จะแทรกอยู่ในสกุลย่อย *Anecphyta* ของสกุลบัวสาย ส่วนสกุล *Euryale* คือ *E. ferox* และสกุล *Victoria* คือ *V. amazonica* จะไม่มีการรวมเป็นกลุ่ม (ภาพ 9)

ความสัมพันธ์ภายในสกุลบัวสาย พบว่าสามารถแยกได้เพียง 3 กลุ่มย่อยของ 4 สกุลย่อย คือ *Nymphaea* (A), *Lotos* (B) และ *Anecphyta* (C)-*Brachyceras* (D) เท่านั้น ขณะที่สกุลย่อย *Hydrocallis* (E) กับตัวอย่าง *N. gigantea* (ดอกสีม่วง), *N. petersiana*, *N. lotus* และ *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง) ไม่มีการรวมเป็นกลุ่ม



ภาพ 9 Maximum parsimonious tree จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณอินทรอนของยีน *trnL* โดยที่ O คือ outgroup และ A B C D E คือกลุ่มของสกุลย่อยต่างๆ (ตัวเลขด้านหน้าเครื่องหมายทับคือ bootstrap support ตัวเลขด้านหลังคือ character support ซีดคือค่า bootstrap support ที่น้อยกว่า 50%)

ความสัมพันธ์ภายในสกุลย่อย *Nymphaea* (A) ถูกสนับสนุนด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (88%) ประกอบด้วยสมาชิกทั้งหมด 6 ตัวอย่าง คือ *N. alba*, *N. odorata*, *N. tetragona*, *N. mexicana* 2 ตัวอย่าง (ดอกขนาดเล็กและขนาดใหญ่) และ *Nymphaea* 'Sunrise' โดยที่ *N. mexicana* ทั้ง 2 ตัวอย่างและ *Nymphaea* 'Sunrise' นั้นมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันที่สุดด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (52%)

ความสัมพันธ์ภายในสกุลย่อย *Lotos* (B) ที่มีค่า bootstrap support ที่สูง (84%) ประกอบด้วยสมาชิก 7 ตัวอย่าง คือ *N. pubescens* 2 ตัวอย่าง (ดอกสีชมพูเข้มและสีชมพูอ่อน), *N. rubra*, *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก 2 ตัวอย่าง (ฐานใบเปิดและปิด), *Nymphaea* sp. (ขาวอูฐยา) และ *Nymphaea* sp. ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า *N. rubra* และ *N. pubescens* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันและ *Nymphaea* sp. ทั้ง 4 ตัวอย่างอาจจะเป็นบัวสายชนิด *N. pubescens* ทั้งหมดก็ได้

ความสัมพันธ์ภายในกลุ่มสกุลย่อย *Anechphyta* (C)-*Brachyceras* (D) ถูกสนับสนุนด้วยค่า bootstrap support ในระดับต่ำ (50%) โดยสกุลย่อย *Brachyceras* (D) จะแยกความสัมพันธ์ออกมาด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (88%) ประกอบด้วยสมาชิก 9 ตัวอย่างคือ *nouchali* 2 ตัวอย่าง (พะเยาและระยอง), *N. capensis* (ดอกสีม่วง), *N. colorata*, *N. minuta*, *N. cyanea*, *Nymphaea* 'Jongkolnee', *Nymphaea* 'Chalongkwan', และ *Nymphaea* sp. (บัวได้นำ) โดยที่ *N. micrantha* และ *Nymphaea* 'Royal purple' ถูกแยกออกมาภายนอกกลุ่ม ขณะที่สกุลย่อย *Anechphyta* (C) จะไม่มีการรวมเป็นกลุ่ม นอกจากกลุ่มย่อยที่ประกอบด้วย *N. atrans* และ *N. immutabilis* ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (60%) เนื่องจากมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เหมือนกันยกเว้นสีของกลีบดอก (ภาพ 9)

การวิเคราะห์บริเวณระหว่างยีน *trnL-F*

การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณระหว่างยีน *trnL-F* ด้วยวิธี maximum parsimony พบว่ามีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 427 คู่เบส (*Brasenia schreberi*) ถึง 494 คู่เบส (*Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง)) โดยพืชสกุลบัวสายนั้นมีความยาวจำนวน 447 คู่เบส (*N. alba*, *N. odorata* และ *Nymphaea* 'Sunrise') ถึง 476 คู่เบส (*N. gigantea* (ดอกสีขาวและดอกสีม่วง) และ *N. macrosperma*) เมื่อนำข้อมูลทั้งหมดที่ได้มาจัดเรียงจะมีความยาวรวม 588 คู่เบส พบบริเวณที่เกิดการเพิ่มขึ้นมาของลำดับนิวคลีโอไทด์มี 21 บริเวณ ขนาดตั้งแต่ 1-27 คู่เบส โดยมี 9 บริเวณที่ใช้อธิบายสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้ ซึ่งข้อมูลทั้งหมดจะพบการเพิ่มของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณซ้ำ 11 บริเวณ ส่วนการขาดหายของลำดับนิวคลีโอไทด์จะมี 7

บริเวณ ขนาดตั้งแต่ 1-13 คู่เบส มี 4 บริเวณที่บอกสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้ นอกจากนี้ยังพบว่าลำดับของนิวคลีโอไทด์ที่คงที่ในทุกๆ ตัวอย่าง 487 คู่เบส (82.82%) ผันแปรในแต่ละตัวอย่าง 101 คู่เบส (17.18%) โดยความผันแปรนี้สามารถแบ่งเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบเฉพาะบางตัวอย่างจำนวน 58 คู่เบส (9.86%) และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถบอกสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจำนวน 43 คู่เบส (7.31%) ค่า GC content ประมาณ 37% อัตราส่วน transition/transversion เท่ากับ 0.6 (ตาราง 4)

ผลการวิเคราะห์ maximum parsimony พบว่า phylogenetic tree ที่ได้มีเพียง topology เดียวที่มีค่า tree length เท่ากับ 125 ค่า Consistency index เท่ากับ 0.888 และค่า Retention index เท่ากับ 0.957 โดยในการศึกษาครั้งนี้ใช้พืชวงศ์บัวสาหร่าย 2 ชนิดเป็น outgroup คือ *Cabomba caroliniana* และ *Brasenia schreberi* จากความสัมพันธ์ที่ได้พบว่าพืชวงศ์บัวสาหร่ายมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับพืชวงศ์บัวสาย และสามารถบอกได้ว่าพืชวงศ์บัวสายเป็น monophyletic group เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ภายในวงศ์บัวสายพบว่าพืชสกุล *Nuphar* คือ *N. lutea* เป็น basal lineage ของพืชวงศ์บัวสายทั้งหมด ขณะที่พืชสกุล *Barclaya* คือ *B. longifolia* ก็จะแยกสายวิวัฒนาการต่อมา และสกุลอื่นๆ ที่เหลือคือ *Ondinea*, *Euryale*, *Victoria* และ *Nymphaea* จะอยู่กันเป็นกลุ่มใหญ่ โดยที่สกุล *Euryale* คือ *E. ferox* และสกุล *Victoria* คือ *V. amazonica* ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน โดยแยกจากกลุ่มใหญ่ของสกุลย่อย *Nymphaea* (A), *Anecphyra* (C) และ *Brachyceras* (D) อย่างชัดเจนด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (75%) ขณะที่สกุล *Ondinea* คือ *O. purpurea* จะแทรกอยู่ในสกุลย่อย *Anecphyra* (C) ของสกุลบัวสาย (ภาพ 10)

ความสัมพันธ์ภายในสกุลบัวสาย พบว่าสามารถแยกได้ 3 กลุ่มของ 5 สกุลย่อย คือ *Lotos* (B)-*Hydrocallis* (E), *Nymphaea* (A) และ *Anecphyra* (C)-*Brachyceras* (D) โดยที่ *N. petersiana* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับกลุ่มของสกุลย่อย *Lotos* (B)-*Hydrocallis* (E) มากที่สุด

ความสัมพันธ์ภายในกลุ่มสกุลย่อย *Lotos* (B)-*Hydrocallis* (E) สกุลย่อย *Hydrocallis* (E) แยกความสัมพันธ์ออกมาด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (58%) ประกอบด้วยสมาชิกทั้งหมด 4 ตัวอย่าง คือ *N. amazonum*, *N. jamesoniana*, *N. oxypetala*, *N. rudgeana* และยังพบว่าภายในสกุลย่อย *Lotos* ประกอบด้วยสมาชิก 11 ตัวอย่าง คือ *N. pubescens* 4 ตัวอย่าง (ดอกสีชมพูเข้มและสีชมพูอ่อน), *N. rubra*, *N. lotus*, *Nymphaea* (ขาวสวนหลวง), *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบเปิดและปิด), *Nymphaea* sp. (ขาวอุยงยา) และ *Nymphaea* sp. โดยพบว่ามี 2 กลุ่มย่อยที่มีความใกล้ชิดกัน คือกลุ่มย่อยแรกประกอบด้วย 2 ตัวอย่างคือ *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบเปิดและปิด) ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (64%) กลุ่มย่อยที่

สองประกอบด้วย *N. lotus* และ *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง) ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (67%) เช่นกัน

ความสัมพันธ์ภายในสกุลย่อย *Nymphaea* (A) ถูกสนับสนุนด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (99%) ประกอบด้วยสมาชิกทั้งหมด 8 ตัวอย่าง คือ *N. alba*, *N. odorata* 2 ตัวอย่าง, *N. tetragona*, *N. tuberosa*, *N. mexicana* 2 ตัวอย่าง (ดอกขนาดเล็กและขนาดใหญ่) และ *Nymphaea* 'Sunrise' โดยที่ *N. mexicana* ทั้ง 2 ตัวอย่างนี้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันที่สุดด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (86%)

ความสัมพันธ์ภายในกลุ่มสกุลย่อย *Anecphyta* (C)-*Brachyceras* (D) ถูกสนับสนุนด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (86%) ภายในกลุ่มพบว่าสกุลย่อย *Anecphyta* (C) แยกความสัมพันธ์ออกมาด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (60%) ประกอบด้วยสมาชิก 10 ตัวอย่างคือ *N. macrosperma*, *N. gigantea* 2 ตัวอย่าง (ดอกสีขาวและสีม่วง), *N. carpentaria*, *N. neorosea*, *N. atrans*, *N. immutabilis*, *N. violacea*, *N. elleniea* และ *Ondinea purpurea* ความสัมพันธ์ภายในสกุลย่อยนี้ จะพบเพียง 2 กลุ่มย่อย คือกลุ่มย่อยแรกประกอบด้วย 5 ตัวอย่าง คือ *N. macrosperma*, *N. gigantea* 2 ตัวอย่าง (ดอกสีขาวและสีม่วง), *N. carpentaria* และ *N. neorosea* ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (53%) กลุ่มย่อยที่สองประกอบด้วย *N. atrans* และ *N. immutabilis* ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (65%) ขณะที่ภายในสกุลย่อย *Brachyceras* (D) ประกอบด้วยสมาชิก 14 ตัวอย่างคือ *N. micrantha*, *N. nouchali* 2 ตัวอย่าง (พะเยาและระยอง), *N. capensis* 2 ตัวอย่าง (ดอกสีม่วงและสีชมพู), *N. colorata*, *N. minuta*, *N. cyanea*, *Nymphaea* 'Jongkolnee', *Nymphaea* 'Chalongkwan', *Nymphaea* 'Royal purple', *Nymphaea* 'White' และ 'Violet Nang kwang' และ *Nymphaea* sp. (บัวได้น้ำ) ความสัมพันธ์ภายในสกุลย่อยนี้ จะพบเพียง 2 กลุ่มย่อย กลุ่มแรกประกอบด้วย *N. micrantha* และ *Nymphaea* 'Royal purple' ด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (95%) กลุ่มที่สองประกอบด้วย *N. cyanea* และ *N. nouchali* (พะเยา) ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (62%) (ภาพ 10)

#### การวิเคราะห์ข้อมูลร่วมกัน

ผลการวิเคราะห์ maximum parsimony โดยใช้ข้อมูลจากทุกบริเวณร่วมกันพบว่า phylogenetic tree ที่ได้มีเพียง topology เดียวและผลการศึกษาที่ได้มีความสอดคล้องกับการวิเคราะห์แบบแยกกันในแต่ละบริเวณ แต่ให้ความสัมพันธ์ที่เด่นชัดกว่าด้วยค่า bootstrap support ที่สูงขึ้น และสามารถแบ่งเป็นกลุ่มๆ ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น โดยในการศึกษาค้างนี้ใช้พืชวงศ์บัวสาหร่าย 2 ชนิดเป็น outgroup คือ *Cabomba caroliniana* และ *Brasenia schreberi* จากความสัมพันธ์ที่ได้

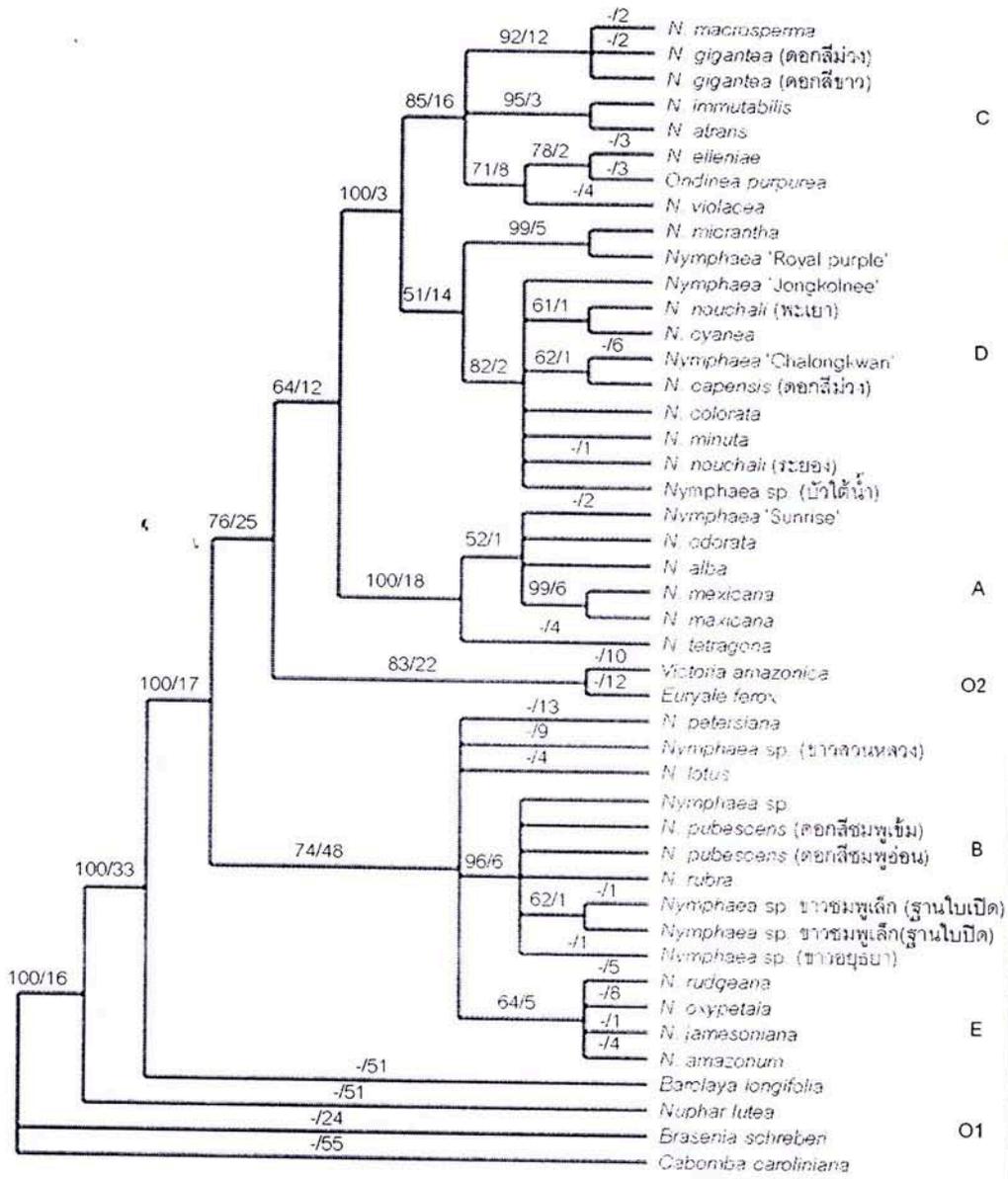


พบว่าพืชวงศ์บัวสาหร่ายมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับพืชวงศ์บัวสาย และสามารถบอกได้ว่าพืชวงศ์บัวสายเป็น monophyletic group เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ภายในวงศ์บัวสายพบว่าพืชสกุล *Nuphar* คือ *N. lutea* (L.) Sm. เป็น basal lineage ของพืชวงศ์บัวสายทั้งหมด ขณะที่พืชสกุล *Barclaya* คือ *B. longifolia* ก็จะแยกสายวิวัฒนาการต่อมา และสกุลอื่นๆ ที่เหลือคือ *Ondinea*, *Euryale*, *Victoria* และ *Nymphaea* จะอยู่กันเป็นกลุ่มใหญ่ โดยที่สกุล *Euryale* คือ *E. ferox* และสกุล *Victoria* คือ *V. amazonica* ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน โดยแยกจากกลุ่มใหญ่ของสกุลย่อย *Nymphaea* (A), *Anecphyta* (C) และ *Brachyceras* (D) อย่างชัดเจนด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (83%) ขณะที่สกุล *Ondinea* คือ *O. purpurea* จะแทรกอยู่ในสกุลย่อย *Anecphyta* (C) ของสกุลบัวสาย (ภาพ 11)

ความสัมพันธ์ภายในสกุลบัวสาย พบว่าสามารถแยกได้ 3 กลุ่มของ 5 สกุลย่อย คือ *Lotos* (B)-*Hydrocallis* (E), *Nymphaea* (A) และ *Anecphyta* (C)-*Brachyceras* (D)

ความสัมพันธ์ภายในกลุ่มของสกุลย่อย *Lotos* (B)-*Hydrocallis* (E) จะพบว่าสกุลย่อย *Hydrocallis* (E) แยกความสัมพันธ์ออกมาด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (64%) ประกอบด้วยสมาชิกทั้งหมด 4 ตัวอย่าง คือ *N. amazonum*, *N. jamesoniana*, *N. oxypetala* และ *N. rudgeana* ภายในสกุลย่อย *Lotos* จะประกอบด้วยสมาชิก 10 ตัวอย่าง คือ *N. pubescens* 2 ตัวอย่าง (ดอกสีชมพูเข้มและสีชมพูอ่อน), *N. rubra*, *N. lotus*, *N. petersiana*, *Nymphaea* (ขาวสวนหลวง), *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก 2 ตัวอย่าง (ฐานใบเปิดและปิด), *Nymphaea* sp. (ขาวอยุธยา) และ *Nymphaea* sp. โดยที่ *N. petersiana*, *N. lotus* และ *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง) จะแยกออกมาจากกลุ่มใหญ่อย่างชัดเจน ซึ่งภายในกลุ่มใหญ่จะมีค่า bootstrap support ที่สูง (96%) สมาชิกภายในกลุ่มนี้พบว่า *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก ทั้ง 2 ตัวอย่าง (ฐานใบเปิดและปิด) นั้นมีความใกล้ชิดกันด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (62%) ดังนั้นจากข้อมูลทั้งหมดอาจกล่าวได้ว่า *N. rubra* และ *N. pubescens* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันและ *Nymphaea* sp. ทั้ง 4 ตัวอย่างอาจจะเป็นบัวสายชนิด *N. pubescens* ทั้งหมดก็ได้ (ภาพ 11)

ความสัมพันธ์ภายในสกุลย่อย *Nymphaea* (A) ถูกสนับสนุนด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (100%) ประกอบด้วยสมาชิกทั้งหมด 6 ตัวอย่าง คือ *N. alba*, *N. odorata*, *N. tetragona*, *N. mexicana* 2 ตัวอย่าง (ดอกขนาดเล็กและขนาดใหญ่) และ *Nymphaea* 'Sunrise' โดยที่ *N. tetragona* จะแยกออกมาจากตัวอย่างอื่นในกลุ่มใหญ่ ภายในกลุ่มใหญ่สนับสนุนด้วยค่า bootstrap support 52% โดยสมาชิกภายในกลุ่มนี้จะประกอบด้วย *N. alba*, *N. odorata*,



ภาพ 11 Maximum parsimonious tree จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณระหว่าง ยีน *trnT-L-F* ร่วมกับบริเวณอินทรอนของยีน *trnL* โดยที่ O คือ outgroup และ A B C D E คือกลุ่มของสกุลย่อยต่างๆ (ตัวเลขด้านหน้าเครื่องหมายทับคือ bootstrap support ตัวเลขด้านหลังคือ character support ขีดคือค่า bootstrap support ที่น้อยกว่า 50%)

*N. tetragona*, *N. mexicana* 2 ตัวอย่าง และ *Nymphaea* 'Sunrise' โดย *N. mexicana* ทั้ง 2 ตัวอย่างนี้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันที่สุดด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (99%) ความสัมพันธ์ภายในกลุ่มสกุลย่อย *Anechphyta* (C)-*Brachyceras* (D) ถูกสนับสนุนด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (100%) โดยทั้งสองสกุลย่อยนี้แยกความสัมพันธ์กันด้วยค่า bootstrap support ในระดับปานกลางถึงสูง (85% และ 51% ตามลำดับ) ภายในสกุลย่อย *Anechphyta* (C) ประกอบด้วยสมาชิก 8 ตัวอย่างคือ *N. macrosperma*, *N. gigantea* 2 ตัวอย่าง (ดอกสีขาวยาวและสีม่วง), *N. atrans*, *N. immutabilis*, *N. violacea*, *N. elleniea* และ *Ondinea purpurea* ความสัมพันธ์ภายในสกุลย่อยนี้ สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มย่อย คือกลุ่มย่อยแรกประกอบด้วย 3 ตัวอย่างคือ *N. macrosperma*, *N. gigantea* 2 ตัวอย่าง (ดอกสีขาวยาวและสีม่วง) ด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (92%) กลุ่มย่อยที่สองได้แก่ *N. atrans* และ *N. immutabilis* ด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (95%) และกลุ่มย่อยที่ 3 ประกอบด้วย 3 ตัวอย่างคือ *N. violacea*, *N. elleniea* และ *Ondinea purpurea* ด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (71%) โดยภายในกลุ่มย่อยนี้พบว่า *N. elleniea* และ *Ondinea purpurea* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (78%) ขณะที่ภายในสกุลย่อย *Brachyceras* (D) ประกอบด้วยสมาชิก 11 ตัวอย่างคือ *N. micrantha*, *N. nouchali* 2 ตัวอย่าง (พะเยาและระยอง), *N. capensis* (ดอกสีม่วง), *N. colorata*, *N. minuta*, *N. cyanea*, *Nymphaea* 'Jongkolnee', *Nymphaea* 'Chalongkwan', *Nymphaea* 'Royal purple' และ *Nymphaea* sp. (บัวได้นำ) โดยจะพบว่า *N. micrantha* และ *Nymphaea* 'Royal purple' จะแยกออกมาจากตัวอย่างอื่นในกลุ่มใหญ่ด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (99%) ส่วนภายในกลุ่มใหญ่จะถูกสนับสนุนด้วยค่า bootstrap support ที่สูง (82%) สมาชิกภายในกลุ่มนี้ประกอบด้วย *N. nouchali* 2 ตัวอย่าง, *N. capensis*, *N. colorata*, *N. minuta*, *N. cyanea*, *Nymphaea* 'Jongkolnee', *Nymphaea* 'Chalongkwan', และ *Nymphaea* sp. (บัวได้นำ) ความสัมพันธ์ภายในกลุ่มสกุลย่อยนี้มี 2 กลุ่ม คือความสัมพันธ์ของ *N. capensis* (ดอกสีม่วง) และ *Nymphaea* 'Chalongkwan' ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (62%) และอีกกลุ่มย่อยประกอบด้วย *N. cyanea* และ *N. nouchali* (พะเยา) ด้วยค่า bootstrap support ปานกลาง (61%) (ภาพ 11)

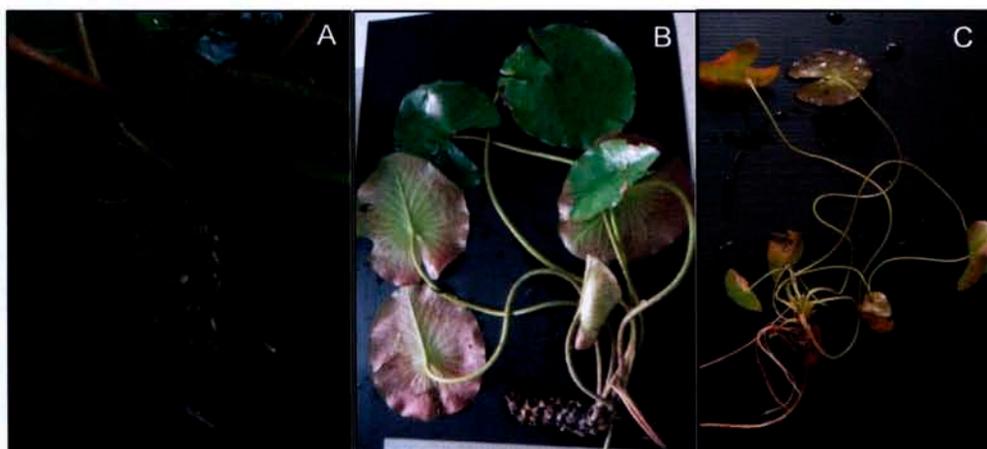
### ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์บางประการ

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาก็เป็นข้อมูลที่สำคัญอีกข้อมูลหนึ่งซึ่งสามารถนำมาช่วยสนับสนุนและอธิบายสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่เกิดขึ้น ดังนั้นจึงมีการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาบางประการในบัวสายบางชนิดเพื่อใช้เป็นข้อมูลเพิ่มเติมในการจัดจำแนก เช่น

ลักษณะของลำต้น ลักษณะของใบ ส่วนประกอบต่างๆ ภายในดอก รวมไปถึงช่วงเวลาในการบาน และลักษณะการบานของดอก โดยการศึกษาครั้งนี้ศึกษาเพียง 10 ตัวอย่างที่สามารถหาได้ในสภาพธรรมชาติ ผลการศึกษามีดังนี้

#### สัณฐานวิทยาของลำต้น

ลำต้นของพืชสกุลบัวสายมี 2 ลักษณะ มีทั้งที่เป็นหัว (tuber) และเป็นเหง้า (rhizome) ซึ่งลักษณะของเหง้านั้นก็จะมีการเจริญแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบคือ แบบที่เจริญตามแนวตั้ง (corm) พบได้ใน *Nymphaea lotus*, *N. capensis*, *N. rubra*, *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง), *Nymphaea* sp. (ขาวอยุธยา), *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบปิด) และ *Nymphaea* 'Royal purple' โดยเหง้าชนิดนี้จะมีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างไหล (stolon) พบใน *N. lotus* และการแตกหน่อจะพบใน *N. rubra* และ *Nymphaea* sp. (ขาวอยุธยา) ส่วนเหง้าที่เจริญตามแนวนอนหรือ rhizome จะพบใน *N. maxicana* และ *Nymphaea* 'Sunrise' ในขณะที่ลำต้นของ *N. gigantea* จะเป็นหัวกลม เมื่อจมลงในน้ำจะสามารถงอกเป็นต้นใหม่ได้ (ภาพ 12)



ภาพ 12 สัณฐานวิทยาของพืชสกุลบัวสาย; A. เหง้าเจริญตามแนวตั้ง, B. เหง้าเจริญตามแนวนอน และ C. ลักษณะของหัว

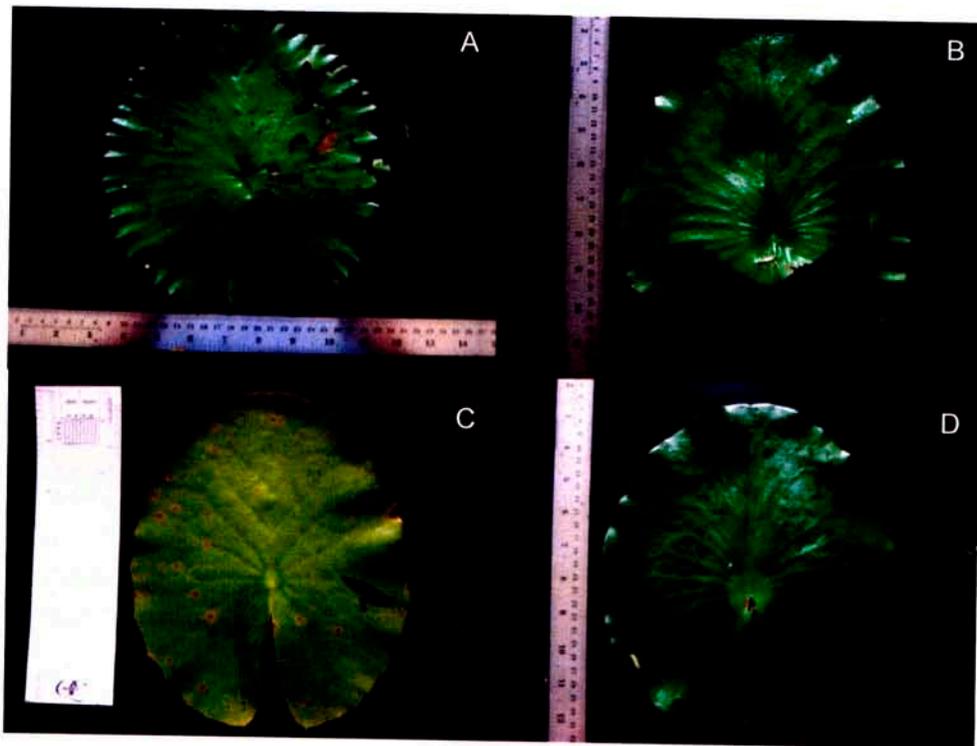
#### สัณฐานวิทยาของใบ

ลักษณะขอบใบของพืชสกุลบัวสายสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ คือ ขอบใบเรียบ (entire) ได้แก่ บัวสายในสกุลย่อย *Nymphaea* ตัวอย่างเช่น *N. maxicana* และ *Nymphaea* 'Sunrise' และขอบใบจักฟันเลื่อย (dentate) หรือเรียบเป็นคลื่น (undulate) ซึ่งพบในสกุลย่อยอื่นๆ โดยถ้าขอบใบเรียบเป็นคลื่นจะพบในสกุลย่อย *Anecphyia* คือ *N. gigantea* และสกุลย่อย

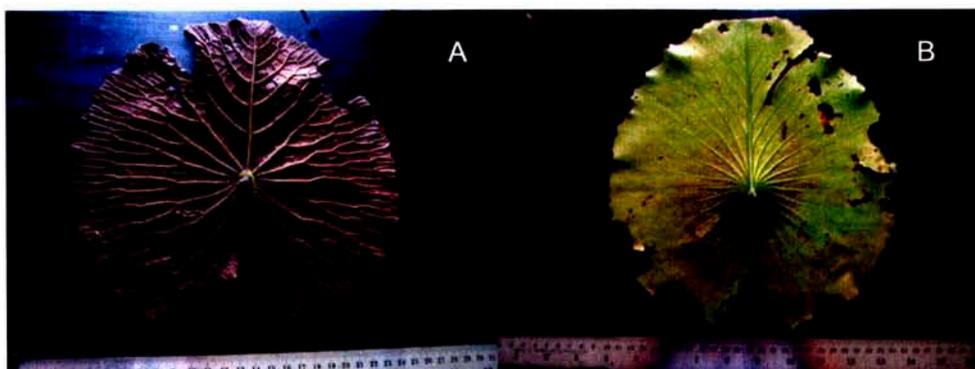
*Brachyceras* พบใน *N. capensis* และ *Nymphaea* 'Royal purple' ขณะที่ขอบใบจักฟันเลื่อยจะพบในสกุลย่อย *Lotos* ตัวอย่างเช่น *N. lotus*, *N. rubra*, *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง), *Nymphaea* sp. (ขาวอยุธยา) และ *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบปิด) (ภาพ 13)

นอกจากนี้ความเด่นชัดของเส้นใบก็มีความแตกต่างกัน โดยที่ *N. lotus*, *N. rubra*, *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง), *Nymphaea* sp. (ขาวอยุธยา) และ *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบปิด), จะมีเส้นใบที่นูนเห็นได้ชัดเจน ขณะที่ *N. gigantea*, *N. capensis*, *Nymphaea* 'Royal purple', *N. maxicana* และ *Nymphaea* 'Sunrise' จะมีเส้นใบเรียบกับแผ่นใบ (ภาพ 14)

ลักษณะของฐานใบมี 2 แบบคือ ฐานใบเปิดจะพบใน *N. lotus*, *N. rubra*, *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง), *Nymphaea* sp. (ขาวอยุธยา) ส่วนฐานใบปิดจะมี 2 แบบคือปิดเพียงบางส่วน เช่น *N. gigantea*, *N. capensis*, *Nymphaea* 'Royal purple', *N. maxicana* และ *Nymphaea* 'Sunrise' ยกเว้น *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบปิด) ที่ปิดจนมิด (ภาพ 13 และภาพ 14)



ภาพ 13 สัณฐานวิทยาของใบในพืชสกุลบัวสาย; A. ขอบใบจักฟันเลื่อย, B. และ C. ขอบใบเรียบเป็นคลื่น และ D. ขอบใบเรียบ

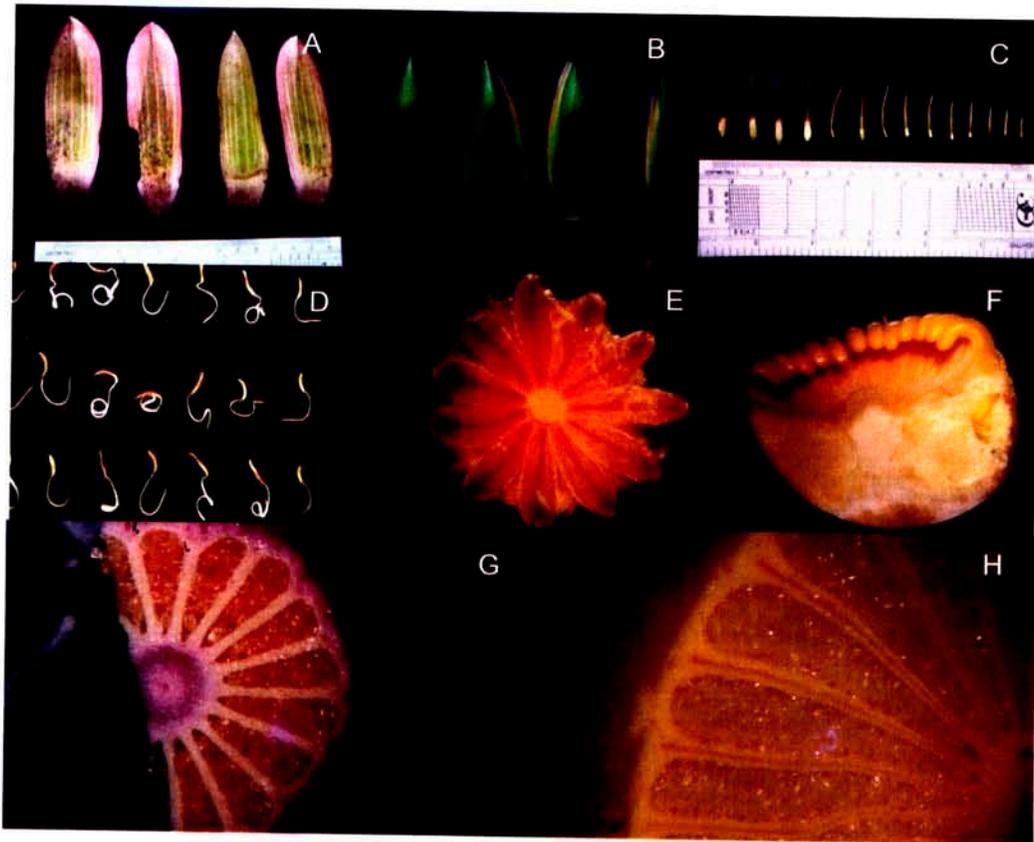


ภาพ 14 ลักษณะเส้นใบในพืชสกุลบัวสาย; A. เส้นใบนูน และ B. เส้นใบเรียบ

#### สัณฐานวิทยาของดอก

ดอกของพืชสกุลบัวสายเมื่อมองเพียงผิวเผินจะมีลักษณะที่คล้ายๆกันทั้ง กลีบเลี้ยง กลีบดอก เกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย แต่เมื่อศึกษาอย่างถี่ถ้วนแล้วจะยังคงมีความแตกต่างกันบ้าง เช่น ลักษณะกลีบเลี้ยง โดยจะพบว่ากลีบเลี้ยงของ *N. lotus*, *N. rubra*, *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง), *Nymphaea* sp. (ขาวอโยธยา) และ *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบปิด) จะมีเส้นสีขาวลากจากบนลงล่างนูนขึ้นมาเห็นได้ชัดเจนทางด้านนอก ขณะที่ *N. maxicana*, *Nymphaea* 'Sunrise', *N. gigantea*, *N. capensis* และ *Nymphaea* 'Royal purple' จะมีกลีบเลี้ยงสีเขียวสดเป็นมันวาวทั้งกลีบไม่มีเส้นสีขาว (ภาพ 15A และภาพ 15B)

นอกจากนี้เกสรเพศผู้ก็มีความแตกต่างกัน โดยที่ *N. lotus*, *N. rubra*, *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง), *Nymphaea* sp. (ขาวอโยธยา), *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบปิด), *N. maxicana*, *Nymphaea* 'Sunrise', *N. capensis* และ *Nymphaea* 'Royal purple' จะมีก้านชูเกสรเพศผู้จะเป็นแผ่นแบน ขณะที่ *N. gigantea* จะเป็นแท่งกลม และยังพบอีกว่า *N. capensis* และ *Nymphaea* 'Royal purple' มีรยางค์ที่ปลายเกสรเพศผู้ ส่วนตัวอย่างที่เหลือจะไม่พบ (ภาพ 15C และภาพ 15D) นอกจากนี้ที่ลักษณะของเกสรเพศเมียก็แตกต่างกันโดย *N. gigantea* จะไม่มีรยางค์ที่ยอดเกสรเพศเมีย แต่ตัวอย่างที่เหลือจะมีรยางค์ (ภาพ 15E และภาพ 15F) ลักษณะของผนังรังไข่ซึ่งเป็นลักษณะเด่นที่ใช้ในการจัดกลุ่มบัวสายนั้น พบว่า *N. lotus*, *N. rubra*, *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง), *Nymphaea* sp. (ขาวอโยธยา), *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบปิด), *N. maxicana* และ *Nymphaea* 'Sunrise' มีผนังรังไข่เชื่อมติดกันแตกต่างกับ *N. gigantea*, *N. capensis* และ *Nymphaea* 'Royal purple' ที่แยกออกจากกัน (ภาพ 15G และภาพ 15H)

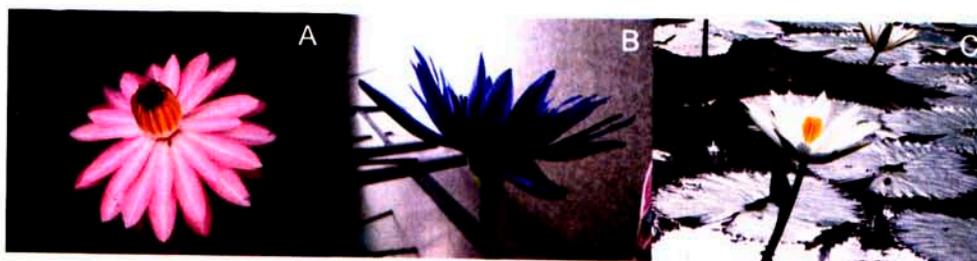


ภาพ 15 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกในพืชสกุลบัวสาย; A. กลีบเลี้ยงที่มีเส้นสีขาวพาดตามยาว, B. กลีบเลี้ยงสีเขียวเป็นมันวาว, C. เกสรเพศผู้เป็นแผ่นแบนและมีรยางค์, D. เกสรเพศผู้เป็นแท่งกลมและไม่มียางค์, E. เกสรเพศเมียที่ไม่มีรยางค์ที่ยอดเกสร, F. เกสรเพศเมียที่มีรยางค์ที่ยอดเกสร, G. เกสรเพศเมียที่มีรังไข่เชื่อมติดกัน, H. เกสรเพศเมียที่มีรังไข่แยกออกจากกัน

#### ช่วงเวลาและการบานของดอก

นอกจากลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาภายนอกแล้วยังพบว่าช่วงเวลาในการบานของดอกก็มีความแตกต่างกันด้วยโดยที่ *N. lotus*, *N. rubra*, *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง), *Nymphaea* sp. (ขาวอยุธยา) และ *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบปิด) จะเริ่มบานในช่วงเวลากลางคืน และจะหุบในช่วงสวयของอีกวันหนึ่ง ขณะที่ *N. capensis*, *Nymphaea* 'Royal purple', *N. gigantea*, *Nymphaea* 'Sunrise' และ *N. maxicana* นั้นดอกจะเริ่มบานในเวลา เช้า-สาย และจะหุบในเวลาบ่าย-เย็น ในวันเดียวกัน และรูปทรงการบานของดอกก็มีความแตกต่างกัน ซึ่งถ้าดอกบานเต็มที่แล้วเป็นรูปถ้วย (cup shape) จะพบใน *N. rubra*, *Nymphaea* sp. (ขาวอยุธยา) และ *Nymphaea* sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบปิด) และ *N. gigantea* ถ้าเป็นรูปครึ่ง

วงกลม (hemispheroidal) จะพบใน *N. capensis* และ *Nymphaea* 'Royal purple' แต่ถ้าเป็นรูป  
 ค้อนวงกลม (spheroidal) จะพบใน *N. lotus*, *Nymphaea* sp. (ขาวสวนหลวง), *N. maxicana*  
 และ *Nymphaea* 'Sunrise' (ภาพ 16)



ภาพ 16 พฤกษศาสตร์ของดอกในพืชสกุลบัวสาย; A. การบานของดอกรูปค้อนวงกลม; B.  
 การบานของดอกรูปครึ่งวงกลม; C. การบานของดอกรูปถ้วย

ตาราง 5 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์บางประการ ของพืชสกุลบัวสาย

ชนิด	การเจริญ ของลำต้น	ช่วงเวลาในการ บานของดอก	ลักษณะ รังไข่	ระยะที่ เกสรเพศผู้	ระยะที่เกสร เพศเมีย	ลักษณะ ขอใบ	รูปทรงการบาน ของดอก
1. <i>N. lotus</i>	แนวตั้ง	กลางคืน-ตอนสาย	เชื่อมติดกัน	ไม่มี	มี	จักฟันเลื่อย	บานค่อนข้างกลม
2. <i>Nymphaea</i> sp. (ขาวสวนหลวง)	แนวตั้ง	กลางคืน-ตอนสาย	เชื่อมติดกัน	ไม่มี	มี	จักฟันเลื่อย	บานค่อนข้างกลม
3. <i>N. rubra</i>	แนวตั้ง	กลางคืน-ตอนสาย	เชื่อมติดกัน	ไม่มี	มี	จักฟันเลื่อย	บานรูปถ้วย
4. <i>Nymphaea</i> sp. ขาวชมพูเล็ก (ฐานใบปิด)	แนวตั้ง	กลางคืน-ตอนสาย	เชื่อมติดกัน	ไม่มี	มี	จักฟันเลื่อย	บานรูปถ้วย
5. <i>Nymphaea</i> sp. (ขาวอุยธยา)	แนวตั้ง	กลางคืน-ตอนสาย	เชื่อมติดกัน	เชื่อมติดกัน	มี	จักฟันเลื่อย	บานรูปถ้วย
6. <i>N. capensis</i>	แนวตั้ง	ตอนเช้า-บ่าย	แยกกัน	เชื่อมติดกัน	มี	เรียบเป็นคลื่น	บานรูปครึ่งวงกลม
7. <i>Nymphaea</i> 'Royal purple'	แนวตั้ง	ตอนเช้า-บ่าย	แยกกัน	เชื่อมติดกัน	มี	เรียบเป็นคลื่น	บานรูปครึ่งวงกลม
8. <i>Nymphaea</i> 'Sunrise'	แนวนอน	ตอนเช้า-บ่าย	เชื่อมติดกัน	ไม่มี	มี	เรียบ	บานค่อนข้างกลม
9. <i>N. maxicana</i>	แนวนอน	ตอนเช้า-บ่าย	เชื่อมติดกัน	ไม่มี	มี	เรียบ	บานค่อนข้างกลม
10. <i>N. gigantea</i> (ขาว)	หัว	ตอนเช้า-บ่าย	แยกกัน	ไม่มี	ไม่มี	จักฟันเลื่อย	บานรูปถ้วย