



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ
ระบบวิทยาและวิวัฒนาการระดับอนุของพืชสกุลไก่อแดงในประเทศไทย

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎา เด่นดวงบริพันธ์

เดือนมิถุนายน ปี พ.ศ. 2548

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

ระบบวิทยาและวิวัฒนาการระดับอนุของพืชสกุลไก่อแดงในประเทศไทย

ผู้วิจัยและสังกัด

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎา เด่นดวงบริพันธ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยทบวงมหาวิทยาลัย และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย ทบวงฯ และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

พืชสกุลไก่อแดง (*Aeschynanthus*) เป็นสกุลของพืชอิงอาศัยประมาณ 160 ชนิด กระจายทั่วไปในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีดอกทรงหลอดสีแดงหรือเหลืองสดและถูกนำมาปลูกกันเป็นไม้ดอกไม้ประดับ จากการศึกษาเอกสารและตัวอย่างแห้งพบว่ามียู่ประมาณ 20 ชนิดในประเทศไทย พืชเหล่านี้ส่วนใหญ่ยังไม่เคยได้รับการศึกษาทางด้านระบบวิวัฒนาการและวิวัฒนาการระดับอนุกรมมาก่อน ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางวงศ์วานวิวัฒนาการระดับอนุกรมของพืชสกุลไก่อแดงในประเทศไทย โดยเน้นไปที่บริเวณไอทีเอสของยีนนิวเคลียร์ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ การรวบรวมตัวอย่างพืชเริ่มจากการเก็บตัวอย่างภาคสนาม ซึ่งจากตลาดขายต้นไม้ และได้รับจากองค์กรต่างประเทศ ดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชได้ถูกสกัดและบริเวณไอทีเอสได้ถูกเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ก่อนที่จะถูกนำมาหาลำดับเบสและจัดเรียงเทียบกับข้อมูลเดิม เพื่อสร้างแผนภูมิต้นไม้วงศ์วานวิวัฒนาการขึ้นมาใหม่ ผลการทดลองได้ยืนยันถึงการแบ่งพืชสกุลไก่อแดงออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ ตัวอย่างพืชที่เพิ่มเข้าไปใหม่เกือบทั้งหมดที่มีชื่อเดียวกันแต่ต่างเลขประจำตัวกับคู่ของมันที่เคยศึกษามาก่อนจะจับกลุ่มอยู่ด้วยกัน ต้นไก่อแดงในประเทศไทยส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มที่หนึ่ง ขณะที่เฉพาะ *A. radicans* และ *A. parvifolius* จัดอยู่ในกลุ่มที่สอง สำหรับ *A. andersonii* *A. humilis* และ *A. hildebrandii* ซึ่งเป็นสามชนิดที่อาจมีปัญหาเรื่องชื่อซ้ำซ้อนกันนั้น จากการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการเชิงโมเลกุลและเทคนิคพีซีอาร์อาร์เอพีดี พบว่า *A. andersonii* และ *A. humilis* ควรเป็นพืชชนิดเดียวกัน การขาดข้อมูลทางด้านสัณฐานวิทยาของต้นไก่อแดงหลายชนิดได้จำกัดการอธิบายถึงรูปแบบการเกิดวิวัฒนาการของเมล็ดของมัน โครงการวิจัยนี้ยังได้ใช้เทคนิคทางโมเลกุลในการระบุชื่อชนิดของต้นไก่อแดงทั้งที่เป็นพืชปลูกและพืชตามธรรมชาติได้สำเร็จ เป็นที่น่าสนใจว่าตัวอย่างพืชไก่อแดงต้นหนึ่งซึ่งมีดอกสีชมพูแปลกไปจากปรกตินั้น พบว่ามีลำดับดีเอ็นเอบริเวณไอทีเอสที่เฉพาะตัวและอาจจะเป็นพืชชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยถูกรายงานมาก่อน

Abstract

Aeschynanthus (Lipstick vines) is an epiphyte genus with c.160 species widespread in Southeast Asia. They have brightly red or orange tubular flowers and therefore are commercially cultivated for their splendid flowers. Literature reviews and herbarium visits indicated that there are approximately 20 species in Thailand. Most of these plants have not been studied in molecular systematics and evolution. Thus this research had studied molecular phylogenetic relationships of Thai *Aeschynanthus* using sequences of internal transcribed spacer (ITS) regions of nuclear ribosomal DNA genes. Plant sample collections were done by fieldwork expeditions, buying from plant markets, and receiving from foreign organisations. DNA of the plant specimens was extracted and ITS regions were amplified with PCR method before sequenced and aligned with previous data to reconstruct a phylogenetic tree. The result confirmed the division of *Aeschynanthus* into two major groups. Almost all additional samples having the same name but different in accession number to their investigated counterparts were clustered together. Most of Thai species were placed in the Clade I while only *A. radicans* and *A. parvifolius* were in the Clade II. *Aeschynanthus andersonii*, *A. humilis* and *A. hildebrandii* - the three supposedly synonymous species – were found from molecular phylogenetic and PC-RAPD studies that *A. andersonii* and *A. humilis* should be the same species. Lacks of morphological information of some *Aeschynanthus* specie limited a discussion on their seed evolutionary patterns. This research also used molecular techniques to identify cultivated and wild samples successfully. Interestingly, one species with unusual pink flowers showed unique ITS sequence and may be a new undescribed species.

หน้าสรุปโครงการ (Executive Summary)
ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่

1. **ชื่อโครงการ** (ภาษาไทย) ระบบวิทยาและวิวัฒนาการระดับอนุของพืชสกุลไก่แดงในประเทศไทย
(ภาษาอังกฤษ) Molecular systematics and evolution of Thai *Aeschynanthus*
(Gesneriaceae)

2. **ชื่อหัวหน้าโครงการ**

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจษฎา เด่นดวงบริพันธ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 02-2185378 โทรสาร 02-2185386 e-mail: jessada.d@chula.ac.th

3. **สาขาวิชาที่ทำการวิจัย** ระบบวิทยาและวิวัฒนาการระดับอนุของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในประเทศไทย

5. **ระยะเวลาดำเนินงาน** 2 ปี

6. **ได้เสนอโครงการนี้ หรือโครงการที่มีส่วนเหมือนกับเรื่องนี้บางส่วน เพื่อขอทุนต่อแหล่งทุน
อื่นที่ใดบ้าง**

ไม่ได้เสนอต่อแหล่งทุนอื่น

เสนอต่อ

7. **ปัญหาที่ทำการวิจัย และความสำคัญของปัญหา**

Aeschynanthus หรือชื่อไทยว่า “ไก่แดง” นั้น เป็นพืชสกุลหนึ่งในวงศ์ Gesneriaceae มีลักษณะเด่นที่ดอกเป็นรูปหลอดสีส้ม แดง หรือเหลืองสดใส เป็นที่นิยมของวงการไม้ดอกไม้ประดับทั้งในประเทศและต่างประเทศ สำหรับประเทศไทยนั้น มีพืชสกุลไก่แดงเป็นพืชพื้นเมืองอยู่หลายชนิด โดยมีชื่อเรียกต่างกันไปตามชนิดและตามท้องถิ่นนั้น จากข้อมูลการตัวอย่างแห้งของสกุลไก่แดง ที่นักวิจัยต่างชาติได้เคยเข้ามาทำการสำรวจ เก็บตัวอย่างและศึกษาวิจัย พบว่าพืชสกุลนี้มีอยู่ถึงประมาณ 20 ชนิดในประเทศไทย โดยที่จำนวนชนิดดังกล่าวนี้ยังเป็นจำนวนที่ไม่แน่นอนนัก เนื่องจากข้อมูลจากตัวอย่างแห้งดังกล่าวยังมีความสับสนอยู่มาก ในปัจจุบัน วิธีการสมัยใหม่ทางอนุวิทยา ดังเช่น การศึกษาลำดับสายดีเอ็นเอของยีนในสิ่งมีชีวิต ได้มีส่วนช่วยอย่างมากในการแก้ปัญหาลักษณะทางอนุกรม

วิธานและระบบวิทยาดังกล่าว ได้อย่างแม่นยำและรวดเร็ว จากการที่ยังไม่มีผู้ใดในประเทศไทยทำการศึกษาวิจัยวิจัยพืชสกุลไก่อ่างอย่างจริงจัง ทั้งที่เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศและเป็นพืชที่มีแนวโน้มจะมีความสำคัญทางเศรษฐกิจในลักษณะไม้ดอกไม้ประดับ ผู้เสนอขอรับทุนจึงมีแนวคิดที่จะรวบรวมตัวอย่างพืชสกุลไก่อ่างชนิดต่างๆ ในประเทศไทย ทั้งที่ได้จากการสำรวจในประเทศและจากการขอตัวอย่างจากต่างประเทศ จากนั้น จะนำวิธีการทางอนุวิธานมาศึกษาตัวอย่างพืชดังกล่าว เพื่อใช้ตอบปัญหาทางด้านอนุกรมวิธาน ระบบวิทยา และวิวัฒนาการของพืชสกุลไก่อ่างในประเทศไทย เมื่อเสร็จสิ้นการวิจัยแล้ว ผลจากงานวิจัยดังกล่าวจะเป็นข้อมูลอันสำคัญยิ่งในการวิจัยต่อยอดของพืชวงศ์ Gesneriaceae ต่อไป

8. วัตถุประสงค์

- 8.1 รวบรวมตัวอย่างพืชสกุลไก่อ่างในประเทศไทยชนิดต่างๆ
- 8.2 ศึกษาตัวอย่างพืชที่รวบรวมได้ดังกล่าวด้วยวิธีการหาลำดับสายดีเอ็นเอของยีนบางยีน
- 8.3 นำข้อมูลลำดับสายดีเอ็นเอที่วิเคราะห์ ไปใช้ในการศึกษาระบบวิทยาและวิวัฒนาการของพืชสกุลไก่อ่างในประเทศไทย

9. ระเบียบวิธีวิจัย

วิธีการวิจัยจะเริ่มจากการรวบรวมตัวอย่างใบพืชของพืชสกุลไก่อ่างในประเทศไทยชนิดต่างๆ ทั้งจากตัวอย่างแห้งและตัวอย่างใบพืชสด ซึ่งจะมีทั้งที่ชื่อจากองค์กรต่างๆ และจากการเก็บตัวอย่างภายในประเทศ ตัวอย่างพืชที่รวบรวมได้จะถูกนำมาระบุชื่อที่ถูกต้องตามข้อมูลการจำแนกชนิดของพืชสกุลนี้ จากนั้นตัวอย่างใบพืชจะถูกนำมาบดที่อุณหภูมิต่ำด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วสกัดดีเอ็นเอและทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์ ดีเอ็นเอที่ได้จะถูกไปเพิ่มปริมาณยีน nuclear ribosomal DNA บริเวณ internal transcribed spacers (ITS) region 1 และ region 2 (ITS1 และ ITS2) ด้วยวิธีการ polymerase chain reaction (PCR) ให้ได้ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่มากพอที่จะนำไปศึกษาหาลำดับของสายดีเอ็นเอในบริเวณยีนนี้ ซึ่งจะอาศัยวิธี dideoxy chain termination โดยนำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้วมาทำปฏิกิริยา DNA cycle sequencing พร้อมสี่ย้อมเรืองแสง ก่อนจะนำมาวิ่งในสนามไฟฟ้าด้วยเครื่อง automated DNA sequencer ของบริษัทหรือองค์กรที่ให้บริการทางด้านนี้ การหาลำดับสายดีเอ็นเอจะถูกทำซ้ำอย่างน้อยสองซ้ำจนกว่าจะได้ลำดับสายดีเอ็นเอที่ต้องการ ก่อนที่จะส่งเข้าไปเก็บในฐานข้อมูล GenBank ต่อไป

ลำดับดีเอ็นเอของพืชสกุลไก่อ่างในประเทศไทยที่ได้ รวมถึงของพืชสกุลไก่อ่างชนิดอื่นๆ ที่ได้เคยศึกษาไว้แล้ว จะถูกนำมาสร้างเป็นตารางแมตริกซ์ระหว่างชนิดของพืชและลำดับดีเอ็นเอ จากนั้นจึงให้โปรแกรมคอมพิวเตอร์วิเคราะห์ระดับความเหมือนหรือความแตกต่างกันทางพันธุกรรมระหว่าง

กัน รวมไปถึงการวิเคราะห์สร้างแผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) ด้วยวิธี maximum parsimony เพื่อบอกขอบเขตของการเป็นชนิด (species) ของพืชชนิดที่กำลังเป็นปัญหา และบอกความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างพืชสกุลใกล้เคียงในประเทศไทยแต่ละชนิด

10. จำนวนโครงการที่ผู้สมัครกำลังดำเนินการอยู่

ชื่อโครงการ Rabies: Molecular and neuro-viro-immunologic approach implications for rabies control and further understanding of rabies neurophatogenesis

ระยะเวลาโครงการ 5 ปี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2547 ถึง พ.ศ. 2551

แหล่งทุนที่ให้การสนับสนุน ทุนส่งเสริมกลุ่มนักวิจัยอาชีพ สวทช.

งบประมาณที่ได้รับ 20 ล้านบาท

สถานะผู้สมัคร หัวหน้าโครงการ

ผู้ร่วมโครงการ

เวลาที่ใช้ทำวิจัยในโครงการนี้ 5 ชั่วโมงต่อสัปดาห์

เนื้อหางานวิจัย

1. บทนำ

Aeschynanthus หรือชื่อไทยว่า “ไก่อแดง” นั้น เป็นพืชสกุลหนึ่งในวงศ์ Gesneriaceae มีลักษณะเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวตลอดปี เกาะอาศัยบนกิ่งหรือลำต้นของพืชอื่น สกุลไก่อแดงประกอบด้วยสมาชิกกว่า 150 ชนิด กระจายพันธุ์ทั่วไปในป่าเขตร้อนถึงเขตร้อน ตั้งแต่ประเทศอินเดียตอนใต้ เซี่ยงเห็อกเขาหิมาลัย ประเทศจีนตอนใต้ เข้ามาสู่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ จนถึงประเทศปาปัวนิวกินี สำหรับประเทศไทยเรานั้น มีพืชสกุลไก่อแดงเป็นพืชพื้นเมืองอยู่หลายชนิด โดยมีชื่อเรียกต่างกันไปตามชนิดและตามท้องถิ่นนั้น เช่น กระดุกไก่อ (*Aeschynanthus acuminatus*; เลย) ว่านไก่อแดง (*A. hildebrandii*; เชียงใหม่) นมเมียหินหรือเอื้องข้าวกำ (*A. longicaulis*; สุราษฎร์ธานีหรือเชียงใหม่ ตามลำดับ) เนื่องจากพืชสกุลไก่อแดงนี้ มีลักษณะเด่นที่ดอกเป็นรูปหลอดสีส้ม แดง หรือเหลืองสดใส จึงเป็นที่นิยมของวงการไม้ดอกไม้ประดับทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยนิยมนำมาปลูกในกระถางแขวน ออกดอกในช่วงฤดูฝนถึงฤดูหนาว และอาจพบขายตามร้านต้นไม้ในกรุงเทพฯ ในชื่อ ต้นลิปสติก จากชื่อภาษาอังกฤษว่า Lipstick vine

สำหรับพืชวงศ์ Gesneriaceae ในประเทศไทยนั้น ได้รับความสนใจจากนักพฤกษศาสตร์ชาวต่างชาติเข้ามารวบรวมและศึกษาเป็นเวลานานกว่าร้อยปีแล้ว โดยมีการตีพิมพ์บทความเกี่ยวกับพันธุ์พืชวงศ์ Gesneriaceae ชนิดต่างๆ ในวารสารวิชาการทางพฤกษศาสตร์หลายหลายฉบับ โดยเฉพาะวารสารของสถาบันต่างๆ ในยุโรป จนในปี ค.ศ. 1962 E.C. Barnett ได้เผยแพร่รายชื่อรวมของพืชวงศ์ Gesneriaceae ในประเทศไทยเป็นครั้งแรก ใน *Florae of Siamensis Enumeratio* และไม่มีมีการตีพิมพ์รายชื่อรวมในลักษณะดังกล่าวอีก จนกระทั่งปี ค.ศ. 2001 ที่ B.L. Burt ซึ่งเป็นผู้เชี่ยวชาญอาวุโสด้าน Gesneriaceae ของสวนพฤกษศาสตร์ Royal Botanic Garden Edinburgh (ประเทศสหราชอาณาจักร) และเป็นที่ปรึกษาในกับโครงการ *Flora of Thailand* ได้เขียนรายชื่อรวมของพืชวงศ์ Gesneriaceae ในประเทศไทยขึ้นในกับ *Flora of Thailand* ในบทความนี้ B.L. Burt ได้ใช้การตรวจสอบตัวอย่างแห้งทั้งหมดของพืชวงศ์ Gesneriaceae ในประเทศไทย เท่าที่รวบรวมได้ทั้งจากหอพรรณไม้แห่งชาติและจากหอพรรณไม้อื่นๆ

ภายใต้บทความรายชื่อรวมของพืชวงศ์ Gesneriaceae ในประเทศไทยดังกล่าว B.L. Burt ได้รวบรวมรายชื่อชนิดของสกุลไก่อแดง (*Aeschynanthus*) ในประเทศไทยไว้ถึงประมาณ 20 ชนิด หรือกว่าหนึ่งในแปดของพืชสกุล คือ *A. acuminatus*, *A. andersonii*, *A. fecundus*, *A. fulgens*, *A. garrettii*, *A. gracilis*, *A. hildebrandii*, *A. hosseusianus*, *A. hosseusii*, *A. humilis*, *A. alineatus*, *A. longicaulis*, *A. longiflorus*, *A. macranthus*, *A. monetarius*, *A. persimilis*, *A. radicans*, *A.*

speciosus, *A. stenosphonius* และ *A. superbus* โดยดูจากข้อมูลการตัวอย่างแห้งของสกุลไก่อแดงที่นักวิจัยต่างชาติได้เคยเข้ามาทำการสำรวจ เก็บตัวอย่างและศึกษาวิจัยเอาไว้ อย่างไรก็ตามจำนวนชนิดดังกล่าวของพืชสกุลไก่อแดงนี้ยังเป็นจำนวนที่ไม่แน่นอนนัก เนื่องจากข้อมูลจากตัวอย่างแห้งยังมีความสับสนอยู่มาก จากการที่บางชนิดมีลักษณะที่บรรยายไว้คล้ายกันมาก จนน่าที่จะเป็นการตั้งชื่อซ้ำจากการเก็บพืชชนิดเดียวโดยกลุ่มสำรวจคนละกลุ่มกัน ซึ่งการตรวจสอบตัวอย่างแห้งของพืชเพียงอย่างเดียวนั้น ไม่อาจนำไปสู่ข้อสรุปของปัญหาดังกล่าวได้ ดังเช่นที่ B. L. Burt ได้ระบุเพิ่มเติมข้อคิดเห็นในบทความของเขาถึงความสับสนในการตั้งชื่อซ้ำซ้อนกันของนักพฤกษศาสตร์ที่ผ่านมา เช่น *A. andersonii*, *A. hildebrandii*, *A. hosseusianus*, *A. humilis* และ *A. persimilis* นั้นอาจจะเป็นพืชชนิดเดียวกันคือ *A. andersonii* ที่ถูกตั้งชื่อซ้ำซ้อนชื่ออื่นตามมาที่หลังก็เป็นได้ และรวมไปถึงกรณีของ *A. fulgens* และ *A. macranthus* อีกด้วย

ในช่วงสิบปีที่ผ่านมาบุคคลที่นับได้ว่าเป็นผู้เชี่ยวชาญที่สุดในด้านพืชสกุลไก่อแดง คือ M. Mendum ซึ่งอยู่ที่สวนพฤกษศาสตร์ Royal Botanic Garden Edinburgh (ประเทศสหราชอาณาจักร) เช่นเดียวกับ B. L. Burt งานวิจัยที่สำคัญในช่วงที่ผ่านมาของ M. Mendum คือการออกสำรวจ เก็บตัวอย่าง ระบุและตั้งชื่อให้กับ *Aeschynanthus* ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะชนิดที่พบในเขตประเทศอินโดนีเซีย และปาปัวนิวกินีในช่วงปี ค.ศ. 1999 นอกจากนี้ M. Mendum ยังได้ร่วมกับนักวิจัยคนอื่นๆ ใน Royal Botanic Garden Edinburgh ทำการศึกษาวิจัยสกุลไก่อแดงนี้ในแง่มุมต่างๆ เช่น การสำรวจจำนวนโครโมโซมของพืชสกุลไก่อแดงเมื่อปี ค.ศ. 2001 และ การศึกษาลักษณะของเมล็ดของพืชชนิดต่างๆ ในสกุลไก่อแดงด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนในช่วงปี ค.ศ. 2001 และ 2002 ซึ่งนำไปสู่การจัดจำแนกชนิดของพืชสกุลนี้ได้ดียิ่งขึ้น ถูกต้องมากขึ้น รวมไปถึงหลักฐานใหม่ๆ ที่บอกถึงแนวทางในการเจริญเติบโตและวิวัฒนาการของสกุลไก่อแดง อย่างไรก็ตาม เป็นที่น่าเสียดายอย่างยิ่งที่ M. Mendum เพิ่งจะถึงแก่กรรมเมื่อต้นปี พ.ศ. 2547 ด้วยโรคมะเร็ง ทำให้การวิจัยเกี่ยวกับอนุกรมวิธานของพืชสกุลไก่อแดงนั้นหยุดชะงักไปมาก

ในปัจจุบันนี้ วิธีการสมัยใหม่ทางอณูชีววิทยา ดังเช่น การศึกษาลำดับสายดีเอ็นเอของยีนในสิ่งมีชีวิต ได้มีส่วนช่วยอย่างมากในการแก้ปัญหาลักษณะทางอนุกรมวิธานและระบบวิธядังกล่าว ได้อย่างแม่นยำและรวดเร็ว ทั้งในการระบุขอบเขตของการเป็นชนิด (species delimitation) ดังกล่าว การจัดกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่สนใจให้ถูกต้อง รวมไปถึงการศึกษารูปแบบการกระจายพันธุ์เชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ สำหรับงานวิจัยที่นำเอาวิธีการทางอณูชีววิทยา มาศึกษาอนุกรมวิธานและระบบวิทยาของพืชสกุลไก่อแดง ซึ่งจะเป็นแนวทางในการวิจัยศึกษาและแก้ปัญหาดังกล่าวของสกุลไก่อแดงในประเทศไทยนั้น ในปัจจุบันมีเพียงผลงานการวิจัยของ เจษฎา เต็นดวงบริพันธ์ (หัวหน้าโครงการวิจัยนี้) ที่ได้ทำร่วมกับ M. Mendum แห่ง Royal Botanic Garden Edinburgh และ Q.C. Cronk ขณะสังกัดมหาวิทยาลัย Edinburgh ประเทศสหราชอาณาจักร ระหว่างปี ค.ศ. 2000 ถึง 2001 ในการนำเอา

ลำดับสายดีเอ็นเอบริเวณ internal transcribed spacers (ITS) ของยีน nuclear ribosomal DNA จากพืชสกุลไก่อ่แดงชนิดต่างๆ รวม 50 ชนิดที่มีการเพาะเลี้ยงไว้ที่ Royal Botanic Garden Edinburgh มาศึกษาหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชสกุลนี้ ซึ่งจากผลการวิจัยที่ได้ทั้งหมดรวมกับผลงานวิจัยก่อนหน้าของ M. Mendum ได้นำไปสู่รูปแบบการจัดจำแนกกลุ่มภายในสกุลไก่อ่แดงนี้ใหม่ ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา การกระจายพันธุ์ และวิวัฒนาการ

อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างของพืชสกุลไก่อ่แดงที่ได้ถูกศึกษาทางอณูชีววิทยาทั้ง 50 ชนิดดังกล่าว นั้น เป็นชนิดที่เป็นตัวแทนจากบริเวณต่างๆ ในทวีปเอเชียตามลักษณะการกระจายพันธุ์ของสกุลนี้ โดยมีเพียงบางชนิดที่มีในประเทศไทย จากการที่ยังไม่มีผู้ใดในประเทศไทยทำการศึกษาวินิจฉัยพืชสกุลไก่อ่แดงอย่างจริงจังทั้งที่เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศและเป็นพืชที่มีแนวโน้มจะมีความสำคัญทางเศรษฐกิจในลักษณะไม้ดอกไม้ประดับ โครงการวิจัยจึงได้ถูกดำเนินการขึ้นเพื่อรวบรวมตัวอย่างใบพืชสกุลไก่อ่แดงชนิดต่างๆ ในประเทศไทย ทั้งที่หาได้จากการสำรวจในประเทศและการขอตัวอย่างจากต่างประเทศ แล้วใช้นาวิธีการทางอณูชีววิทยา มาศึกษาดีเอ็นเอที่ได้จากตัวอย่างใบพืชดังกล่าวเปรียบเทียบกับข้อมูลทางอณูชีววิทยาที่มีอยู่แล้ว เพื่อใช้ตอบปัญหาทางด้านอนุกรมวิธานและระบบวิธานของพืชสกุลนี้ในประเทศไทย รวมทั้งนำข้อมูลทางอณูชีววิทยาดังกล่าวไปใช้ในการศึกษาวิวัฒนาการของพืชสกุลไก่อ่แดงในประเทศไทย ซึ่งผลจากงานวิจัยดังกล่าวที่ได้หลังเสร็จสิ้นการวิจัยแล้วได้เป็นข้อมูลอันสำคัญยิ่งในการวิจัยต่อยอดในด้านอนุกรมวิธาน วิวัฒนาการ รวมทั้งการผสมและปรับปรุงพันธุ์ของพืชวงศ์ Gesneriaceae ในประเทศไทยและประเทศอื่นๆ ในภูมิภาคต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 2.1 รวบรวมตัวอย่างพืชสกุลไก่อ่แดงในประเทศไทยชนิดต่างๆ
- 2.2 ศึกษาตัวอย่างพืชที่รวบรวมได้ดังกล่าวด้วยวิธีการหาลำดับสายดีเอ็นเอของยีนบางยีน
- 2.3 นำข้อมูลลำดับสายดีเอ็นเอที่วิเคราะห์ ไปใช้ในการศึกษาระบบวิธานและวิวัฒนาการของพืชสกุลไก่อ่แดงในประเทศไทย

3. ระเบียบวิธีวิจัย

การวิจัยเรื่องระบบวิธานและวิวัฒนาการระดับอนุของพืชสกุลไก่อ่แดงในประเทศไทยนี้ ได้เริ่มต้นจากการรวบรวมตัวอย่างของพืชสกุลไก่อ่แดงในประเทศไทยชนิดต่างๆ ทั้งที่เป็นตัวอย่างใบพืชจากตัวอย่างแห้งที่เก็บรักษาไว้ในตามหอพรรณไม้ต่างๆ เท่าที่สามารถจะขอความร่วมมือได้ และที่เป็นตัวอย่างใบพืชสด ซึ่งได้จากสวนเพาะเลี้ยงของ Royal Botanic Garden Edinburgh (ประเทศสหราชอาณาจักร)

อาณาจักร) และจากการเก็บตัวอย่างภายในประเทศโดยการออกสำรวจตามป่าไม้ต่างๆ ที่ถูกระบุไว้ว่า มีการพบพืชสกุลไก่อแดง รวมทั้งหาชื่อจากแหล่งจำหน่ายพันธุ์พืชหายาก เช่น บริเวณตลาดนัดสวนจตุจักร สำหรับตัวอย่างพืชที่ยังมีชีวิตอยู่ที่สามารถรวบรวมได้ทั้งหมด ได้ถูกนำมาระบุชื่อที่ถูกต้องตามข้อมูลการจำแนกชนิดของพืชสกุลนี้ ซึ่งจะได้รับการสนับสนุนข้อมูลจาก M. Mendum (Royal Botanic Garden Edinburgh)

ตัวอย่างใบพืชที่รวบรวมได้ทั้งที่เป็นตัวอย่างแห้งและตัวอย่างสด ได้ถูกนำมาสกัดแยกด้วยวิธีทางอณูชีววิทยาเพื่อนำเอาดีเอ็นเอออกมาทำการศึกษาต่อไป ขั้นตอนการสกัดแยกดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบพืชนั้นเริ่มจากการนำตัวอย่างใบพืชมาบดที่อุณหภูมิต่ำด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วทำตามขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอและการทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์ตามที่แนะนำไว้ในชุดสารเคมีสกัดดีเอ็นเอ ดีเอ็นเอที่ได้ของพืชแต่ละชนิดจะถูกไปเพิ่มปริมาณยีน nuclear ribosomal DNA บริเวณ internal transcribed spacers (ITS) region 1 และ region 2 (ITS1 และ ITS2) ด้วยวิธีการ polymerase chain reaction (PCR) ให้ได้ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่มากพอที่จะนำไปศึกษาหาลำดับของสายดีเอ็นเอในบริเวณยีนนี้ สารเคมี สภาวะที่เหมาะสม และขั้นตอนในการทำปฏิกิริยา PCR จะดำเนินการตามที่ได้ดำเนินการวิจัยได้เคยใช้ การหาลำดับดีเอ็นเอของผลิตภัณฑ์จากวิธีการ PCR จะอาศัยวิธี dideoxy chain termination โดยนำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ก่อนด้วยชุดสารเคมีจำเพาะ แล้วจึงนำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้วมาทำปฏิกิริยา DNA cycle sequencing ซึ่งเป็นการหาลำดับสายดีเอ็นเอโดยการเติมสี่ย้อมเรืองแสงเข้าไปในผลิตภัณฑ์ที่ได้ ก่อนจะนำมาวิ่งในสนามไฟฟ้าตามวิธี gel electrophoresis ด้วยเครื่อง automated DNA sequencer ของบริษัทหรือองค์กรที่ให้บริการทางด้านนี้ การหาลำดับสายดีเอ็นเอของบริเวณ ITS1 และ ITS2 จากพืชแต่ละชนิดได้ถูกทำซ้ำอย่างน้อยสองซ้ำหรือมากกว่า จนกว่าจะได้ลำดับสายดีเอ็นเอที่ถูกต้องและมีคุณภาพดีเพียงพอที่จะส่งเข้าไปเก็บในฐานข้อมูลลำดับดีเอ็นเอสาธารณะ เช่น ฐานข้อมูล GenBank ต่อไป

ข้อมูลลำดับดีเอ็นเอของพืชสกุลไก่อแดงในประเทศไทยแต่ละชนิดที่ได้จากการศึกษาทดลองข้างต้น รวมถึงลำดับดีเอ็นเอของพืชสกุลไก่อแดงชนิดอื่นๆ ที่ได้เคยศึกษาไว้แล้วด้วย ได้ถูกนำมาเรียงลำดับสร้างเป็นตารางแมตริกซ์ระหว่างชนิดของพืชและลำดับดีเอ็นเอ จากนั้นได้ให้โปรแกรมคอมพิวเตอร์เปรียบเทียบลำดับดีเอ็นเอระหว่างพืชแต่ละชนิดที่ละคู่ๆ เพื่อตรวจหาระดับความเหมือนหรือความแตกต่างกันทางพันธุกรรมระหว่างกัน ซึ่งค่าระดับความเหมือนหรือความแตกต่างกันทางพันธุกรรมที่ได้จะบอกให้ทราบถึงขอบเขตของการเป็นชนิด (species) ของพืชชนิดที่กำลังเป็นปัญหาดังกล่าวมาแล้วข้างต้นได้เป็นอย่างดี

นอกจากนี้ ตารางแมตริกซ์ระหว่างชนิดของพืชและลำดับดีเอ็นเอที่ได้จากการศึกษาลำดับสายดีเอ็นเอบริเวณ ITS1 และ ITS2 ของพืชสกุลไก่อแดงในประเทศไทยแต่ละชนิด ดังการทดลองข้างต้น รวมถึงลำดับดีเอ็นเอของชนิดอื่นๆ ที่ได้เคยศึกษาไว้แล้ว ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม

คอมพิวเตอร์สร้างแผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) ด้วยวิธี maximum parsimony เพื่อบอกความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างพืชแต่ละชนิด และทำให้เห็นรูปแบบการเกิดวิวัฒนาการและการกระจายพันธุ์เชิงชีวภูมิศาสตร์ (biogeography) ของพืชสกุลไก่อแดงในประเทศไทยแต่ละชนิด เปรียบเทียบกับพืชสกุลไก่อแดงจากบริเวณอื่นๆ ของโลก ซึ่งรูปแบบเชิงระบบวิทยาดังกล่าวได้นำไปสู่การจัดแนกชนิดและจัดกลุ่มของพืชสกุลนี้ในประเทศไทยได้ดียิ่งขึ้น

4. ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยเรื่องระบบวิทยาและวิวัฒนาการระดับอนุของพืชสกุลไก่อแดงในประเทศไทยนี้ ได้ครอบคลุมพืชสกุลไก่อแดงในประเทศไทยเกือบครบทั้ง 20 ชนิดที่มีรายงานไว้ โดยเน้นไปที่การรวบรวมตัวอย่างของพืชชนิดที่น่าสนใจเป็นพิเศษ คือชนิดที่มีปัญหาด้านอนุกรมวิธานจากแนวโน้มที่จะเกิดความซ้ำซ้อนของชื่อวิทยาศาสตร์ที่ใช้เรียก ซึ่งมีอยู่ประมาณ 6-8 ชนิด สำหรับขอบเขตทางด้านวิธีการทดลองนั้น ได้เน้นศึกษาบริเวณ ITS region 1 และ region 2 ของยีน nuclear ribosomal DNA ซึ่งเป็นบริเวณที่มีอัตราการเกิดวิวัฒนาการเหมาะสมที่สุดแล้วบริเวณหนึ่ง แล้วจึงนำเทคนิคการวิจัยอื่นๆ ทางด้านอนุชีววิทยา ได้แก่ การทำพีซีอาร์แบบอาร์เอพีดี (RAPD-PCR) และเทคนิคด้านชีววิทยาพื้นฐาน ได้แก่ การศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชแต่ละชนิด เพิ่มเข้ามาในการวิจัยภายหลัง

5. การดำเนินงานและผลงานวิจัยที่ได้รับ

5.1 การรวบรวมตัวอย่างพืชสกุลไก่อแดง

ได้เริ่มการวิจัยโดยติดต่อขอความร่วมมือจากองค์กรต่างๆ ในการให้ตัวอย่างพืชสกุลไก่อแดง (*Aeschynanthus*) ซึ่งเป็นพืชที่จะใช้ในการศึกษา โดยได้ติดต่อไปยังองค์กรในประเทศ ได้แก่ หอพรรณไม้แห่งชาติ สังกัดกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ องค์การสวนพฤกษศาสตร์แห่งชาติ อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่ และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รวมไปถึงองค์กรต่างประเทศ คือ Royal Botanic Garden Edinburgh ประเทศสหราชอาณาจักร เพื่อขอตรวจสอบถึงจำนวนและชนิดของตัวอย่างพืชสกุลไก่อแดงที่องค์กรเหล่านี้ได้เก็บไว้ ทั้งที่เป็นตัวอย่างที่ยังมีชีวิตอยู่และที่เป็นตัวอย่างแห้ง ซึ่งได้รับความร่วมมือเป็นอย่างดีจากองค์กรต่างๆ ดังกล่าว ตั้งแต่การที่หอพรรณไม้แห่งชาติซึ่งเป็นแหล่งที่มีตัวอย่างแห้งของพืชสกุลนี้เก็บรักษาไว้มากที่สุดนั้นได้อนุญาตให้เข้าศึกษาตัวอย่างแห้งที่เก็บไว้ในกรณีที่จะต้องใช้ในการตรวจระบุชื่อของพืชที่เก็บรวบรวมได้ในอนาคตต่อไป ส่วนทางองค์การสวนพฤกษศาสตร์แห่งชาตินั้น คุณจรัญ มากน้อย ซึ่งเป็นเจ้าหน้าที่อนุกรมวิธาน

ขององค์การได้แจ้งถึงการที่ทางสวนได้เพาะเลี้ยงตัวอย่างพืชสกุลไก่อแดงที่ยังมีชีวิตอยู่ไว้จำนวนหนึ่ง ประมาณ 5 ตัวอย่าง และได้ช่วยเหลือในการระบุชื่อชนิดของพืชเหล่านี้ รวมไปถึงยังได้แจ้งถึงการพบพืชสกุลนี้ในบริเวณป่ารอยต่อชายแดนไทย-มาเลเซีย ซึ่งเป็นบริเวณที่ยังไม่เคยมีรายงานการพบพืชสกุลไก่อแดงมาก่อนอีกด้วย

สำหรับภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งเป็นอีกหน่วยงานหนึ่งที่อยู่
อยู่ในบริเวณที่มีการรายงานถึงการพบพืชสกุลไก่อแดงนี้ ได้ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีในการที่จะช่วย
เหลือในด้านกรออกสำรวจเก็บตัวอย่างพืชในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดอื่นๆ ในภาคเหนือ โดย
การออกสำรวจเพื่อเก็บตัวอย่างพืชในภาคสนามนั้นได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.วิไลวรรณ อนุ
สารสุนทร Mr. J. F. Maxwell และคุณปราณี ปาลี แห่งห้องปฏิบัติการหอพรรณไม้และฐานข้อมูลของ
พืชพรรณ (Herbarium and Flora Database) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย
เชียงใหม่ ช่วยจัดเตรียมการสำรวจเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดอื่นๆ ในภาคเหนือ
โดยได้รับความช่วยเหลือในการออกภาคสนามในบริเวณดอยสุเทพ-ดอยปุย และดอยอินทนนท์
จังหวัดเชียงใหม่ เป็นจำนวนหนึ่งครั้งในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2546 และอีก 2 ครั้งในเดือนมิถุนายน
พ.ศ.2547 ซึ่งได้ทำการบันทึกลักษณะความเป็นอยู่และการกระจายพันธุ์ของพืชสกุลไก่อแดง รวมทั้งการ
เก็บตัวอย่างพืชทั้งเพื่อการทำเป็นตัวอย่างแห้ง การเพาะเลี้ยงในส่วนเพาะชำของภาควิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และเพื่อการนำไปทดสอบด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา

นอกจากนี้แล้ว ทางองค์การต่างประเทศอย่างสวนพฤกษศาสตร์ Royal Botanic Garden
Edinburgh ประเทศสหราชอาณาจักร ซึ่งเป็นแหล่งวิจัยศึกษาหลักของโลกเกี่ยวกับพืชวงศ์
Gesneriaceae ทั้งหมดและได้เก็บรวบรวมตัวอย่างที่ยังมีชีวิตอยู่ ตัวอย่างแห้ง และตัวอย่างดองของ
พืชสกุลไก่อแดงไว้มากที่สุดในโลกแล้วนั้น ได้ให้ความร่วมมืออย่างดีเยี่ยมผ่านการประสานงานของ Mrs.
Mary Mendum ซึ่งเป็นผู้เชี่ยวชาญระดับโลกในด้านพืชสกุลไก่อแดงและเป็นนักวิชาการที่ปรึกษาร่วมใน
ต่างประเทศของงานวิจัยนี้ ในการส่งมอบตัวอย่างพืชสกุลไก่อแดงที่เก็บไว้เป็นจำนวนกว่าสิบชนิด ทั้ง
ชนิดที่พบในประเทศไทยและชนิดที่พบในต่างประเทศแต่มีความน่าสนใจที่ควรจะทำกรวิจัยเพื่อใช้ใน
การศึกษาด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา รวมไปถึงการให้ความช่วยเหลืออื่นๆ ดังเช่น การให้ key ที่จัดทำ
ขึ้นมาใหม่เพื่อใช้ในการระบุชนิดของพืชสกุลนี้ในประเทศไทยโดยเฉพาะ เป็นต้น นอกจากนี้ยังได้รับ
ความช่วยเหลือจาก Dr. Michael Moeller แห่ง Royal Botanic Garden Edinburgh ประเทศสหราชอาณาจักรเช่นเดียวกัน ในทางเดินทางมายังประเทศไทยเพื่อให้คำปรึกษาในด้านผลการทดลองที่ได้ใน
โครงการวิจัยนี้รวมทั้งผลการทดลองในโครงการวิจัยอื่นๆ ให้คำแนะนำด้านเทคนิคการทดลองโดย
เฉพาะการทดลองด้าน cytology และยังสามารถออกเดินทางสำรวจภาคสนามในจังหวัดเชียงใหม่เพื่อ
สาธิตแนวทางในการเก็บตัวอย่างพืชให้เหมาะสมกับการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรของพืชชนิดต่างๆ
ในวงศ์ Gesneriaceae นี้ในอนาคต

นอกจากตัวอย่างพืชที่ได้จากการออกสำรวจภาคสนามและเก็บรวบรวมในพื้นที่ต่างๆ ทางภาคเหนือ และตัวอย่างพืชที่ได้รับการจัดส่งจากทาง Royal Botanic Garden Edinburgh เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยาแล้วนั้น ยังได้ดำเนินการออกสำรวจตามแหล่งจำหน่ายพันธุ์พืชหายาก ได้แก่ บริเวณตลาดนัดสวนจตุจักร และได้จัดซื้อพืชสกุลโก่แดงนำมาจำนวนหนึ่งเพื่อใช้ในการเป็นตัวอย่างเบื้องต้นในการทำการทดลองด้านอณูชีววิทยา ตัวอย่างพืชสกุลโก่แดงทั้งหมดที่จัดซื้อมาจากตลาดนัดสวนจตุจักรได้ถูกนำมาเพาะเลี้ยงไว้ โดยได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ให้เพาะเลี้ยงไว้ในบริเวณเรือนเพาะชำของภาควิชาได้ ตัวอย่างพืชที่ได้จัดซื้อรวบรวมมานี้ได้ถูกทดลองระบุชื่อที่เป็นไปได้ตามข้อมูล key ฉบับใหม่ของทาง Royal Botanic Garden Edinburgh เท่าที่กระทำได้ กล่าวคือ การระบุชื่อพืชเหล่านี้ตาม key ที่มีจะทำได้แม่นยำต่อเมื่อพืชตัวอย่างที่ได้มามีส่วนดอกของพืชอยู่ด้วยเท่านั้น

5.2 การทดลองด้านอณูชีววิทยากับตัวอย่างพืชที่รวบรวมได้

ตัวอย่างพืชที่ได้รับจากองค์กรต่างๆ และที่เก็บรวบรวมเองจากการสำรวจภาคสนามทั้งหมดนั้น ได้ถูกนำมาทดลองสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบของพืชแต่ละต้น โดยใช้วิธีการบดใบพืชด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วสกัดดีเอ็นเอและการทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์ด้วยชุดสารเคมีสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นนำดีเอ็นเอไปเพิ่มปริมาณยีน nuclear ribosomal DNA บริเวณ internal transcribed spacers (ITS) ด้วยวิธีพีซีอาร์ แล้วจึงนำไปหาลำดับดีเอ็นเอของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ โดยทำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ให้บริสุทธิ์ก่อนด้วยชุดสารเคมีจำเพาะ และนำไปทำปฏิกิริยา DNA cycle sequencing ด้วยเครื่อง automated DNA sequencer ของบริษัทหรือองค์กรที่ให้บริการทางด้านนี้ การหาลำดับสายดีเอ็นเอของพืชแต่ละต้นได้ถูกทำอย่างน้อยสองซ้ำหรือมากกว่า จนกว่าจะได้ลำดับสายดีเอ็นเอที่ถูกต้องและมีคุณภาพดี ลำดับสายดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุลโก่แดงนี้ได้ถูกนำไปวิเคราะห์ถึงระดับความเหมือนกันทางพันธุกรรมของตัวอย่างเหล่านี้กับลำดับดีเอ็นเอของพืชสกุลโก่แดงที่เก็บไว้ในฐานข้อมูลลำดับดีเอ็นเอ จากนั้นได้นำไปวิเคราะห์สร้างแผนภูมิความสัมพันธ์วิวัฒนาการ ก่อนที่จะพิจารณาถึงผลการวิเคราะห์ที่ได้ในเชิงของระบบวิวัฒนาการและวิวัฒนาการ

ภายหลังจากที่ลำดับสายดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชที่ได้รับมาจาก Royal Botanic Garden Edinburgh ได้ถูกวิเคราะห์สร้างเป็นแผนภูมิความสัมพันธ์วิวัฒนาการ เพื่อการอภิปรายผลในเชิงของระบบวิวัฒนาการและวิวัฒนาการระดับอณูของพืชสกุลโก่แดงในประเทศไทยทั้งหมดเปรียบเทียบกับพืชสกุลนี้ที่ได้จากประเทศอื่นแล้วนั้น ผลการวิเคราะห์สร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของตัวอย่างพืชที่ได้รับจากองค์กรต่างๆ และที่เก็บรวบรวมเองจากการสำรวจภาคสนามเปรียบเทียบกับลำดับดีเอ็นเอของพืชสกุลโก่แดงชนิดต่างๆ ที่เก็บไว้ในฐานข้อมูลลำดับดีเอ็นเอ ได้แสดงให้เห็นถึงผลที่น่าสนใจใน

เชิงของระบบวิทยาและวิวัฒนาการของพืชสกุลนี้ในประเทศไทยหลายประการ โดยเฉพาะในด้านการแก้ปัญหาขอบเขตของการเป็นชนิดของพืชสกุลไก่อแดงในประเทศไทยบางชนิดได้ ดังเช่น การแสดงให้เห็นถึงความผิดพลาดในการตั้งชื่อของพืชสกุลไก่อแดงบางชนิดที่พบในประเทศไทย ซึ่งได้รับการตั้งชื่อที่ต่างกันเนื่องจากมีลักษณะสัณฐานวิทยาแตกต่างกันเล็กน้อย ทั้งที่ควรจะเป็นพืชชนิดเดียวกันเมื่อพิจารณาประกอบกับลักษณะลำดับดีเอ็นเอที่วิเคราะห์ได้และน่าจะได้รับการยุบรวมเป็นชื่อเดียวกันเมื่อผลการทดลองด้านอื่นๆ ประกอบ นอกจากนี้ ผลการวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของตัวอย่างพืชดังกล่าวช่วยยืนยันชื่อชนิดให้กับตัวอย่างพืชสกุลไก่อแดงหลายตัวอย่างที่ได้ถูกระบุชื่อเบื้องต้นภายหลังจากถูกเก็บรวบรวมได้จากแหล่งที่อยู่ต่างๆ จากการสำรวจภาคสนามของ Royal Botanic Garden Edinburgh เมื่อไม่นานมานี้อีกด้วย

ถึงขณะนี้ผลการวิเคราะห์ศึกษาได้ช่วยยืนยันถึงการจัดกลุ่ม (section) และการจัดสกุลย่อย (subgenus) ตามความสัมพันธ์ภายในสกุลของพืชเหล่านี้ โดยอาศัยความแตกต่างของลักษณะและการจัดเรียงตัวของเซลล์ที่ผิวเมล็ดและที่ขนของเมล็ดภายหลังจากการพิจารณาผ่านทางกล้อง scanning electron microscope (SEM) ผลการศึกษาที่ได้นี้ยังได้ช่วยแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการจัดกลุ่มย่อยของพืชบางชนิดที่มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้เคียงกันมากอีกด้วย ซึ่งจะช่วยให้ข้อมูลเบื้องต้นในการตอบปัญหาทางอนุกรมวิธานของพืชสกุลนี้ โดยเฉพาะปัญหาข้อสงสัยในการตั้งชื่อซ้อนกันพืชสกุลไก่อแดงหลายชนิดที่พบในประเทศไทย เช่น *Aeschynanthus humilis*, *A. andersonnii*, *A. hildebrandii* และ *A. persimilis* ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาล้ำคล้ายคลึงกันมาก จนน่าจะสงสัยว่าจะเป็นพืชชนิดกันแต่เคยถูกตั้งชื่อซ้ำซ้อนกันจากการที่มีตัวอย่างแห้งของพืชดังกล่าวอยู่น้อยเกินกว่าจะเปรียบเทียบได้อย่างถูกต้อง ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้ใหม่จากการศึกษาระบบวิทยาและวิวัฒนาการระดับอนุกรมวิธานนี้ได้ช่วยยืนยันว่าพืชเหล่านี้มีใกล้เคียงกันทางพันธุกรรมและมีความสัมพันธ์กันทางวิวัฒนาการสูงมาก อยู่ในระดับที่อาจจะสรุปได้ว่าพืชสกุลไก่อแดงกลุ่มนี้มีบางชนิดที่ควรจะนับว่าเป็นชนิดเดียวกัน โดยผลการศึกษาล่าสุดด้วยเทคนิคการ PCR แบบ RAPD (random amplified polymorphic DNA) เพิ่มเติมจากที่ได้วางแผนไว้แล้วได้ให้ผลสรุปไปในทางเดียวกัน

สำหรับดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชสกุลไก่อแดงที่จัดชื่อมาจากตลาดนัดสวนจตุจักรและตัวอย่างพืชที่เก็บได้จากการออกสำรวจภาคสนามนั้น ได้ถูกนำไปศึกษาวิจัยทางระบบวิทยาและวิวัฒนาการเชิงอณูเพื่อการระบุชื่อชนิดด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (molecular identification) โดยการอ่านลำดับของบริเวณ ITS ก่อนจะวิเคราะห์หาระดับความเหมือนกันทางพันธุกรรมของตัวอย่างเหล่านี้กับลำดับดีเอ็นเอของพืชสกุลไก่อแดงที่เคยเก็บไว้ในฐานข้อมูลลำดับดีเอ็นเอและที่ได้เพิ่มขึ้นมาจากโครงการวิจัยนี้ จากนั้นนำไปวิเคราะห์สร้างแผนภูมิความสัมพันธ์วิวัฒนาการเช่นกัน ผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์ส่วนนี้พบว่ามีความน่าสนใจอย่างมากอยู่หลายประการ ดังเช่น ถึงแม้ว่าพืชตัวอย่างที่รวบรวมมาได้ทั้งจากการออกสำรวจภาคสนามและที่ชื่อมานั้น จะไม่อาจจะระบุชื่อชนิดของพืชตัวอย่างตาม key

ที่มีอยู่ได้ เนื่องจากมีเพียงตัวอย่างส่วนใบแต่ไม่มีส่วนสืบพันธุ์คือดอกหรือผลของพืชให้ตรวจสอบ เพราะเป็นช่วงเวลาที่ยูนอกฤดูออกดอกก็ตาม ข้อมูลลำดับสายดีเอ็นเอที่วิเคราะห์ได้นั้นกลับสามารถ จะช่วยในการระบุชื่อของพืชตัวอย่างที่มีอยู่ได้เกือบทั้งหมด เนื่องแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ที่สร้างขึ้นมาจากการเปรียบเทียบลำดับดีเอ็นเอที่สกัดได้ร่วมกับลำดับดีเอ็นเอของพืชสกุลนี้ที่เก็บไว้ใน ฐานข้อมูลสามารถนำไปใช้ในการระบุชื่อของพืชตัวอย่างดังกล่าวได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้แผนภูมิดัง กล่าวยังนำไปสู่การทำนายว่าหนึ่งในตัวอย่างพืชสกุลไก่อแดงที่นำมาศึกษานั้นมีความเป็นไปได้สูงมากที่ จะเป็นพืชชนิดใหม่ (new species) เนื่องจากตัวอย่างพืชดังกล่าวที่จัดซื้อมาจากบริเวณตลาดนัดจตุ จักรนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างจากชนิดอื่นๆ ที่ได้เคยรายงานมา รวมทั้งมีลักษณะของ ลำดับดีเอ็นเอที่วิเคราะห์ได้แตกต่างจากลำดับดีเอ็นเอของพืชสกุลไก่อแดงทั้งหมดที่เก็บไว้ในฐานข้อมูล ดีเอ็นเอ

ตัวอย่างใบพืชที่เก็บจากบริเวณดอยสุเทพ-ดอยปุย และดอยอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่ที่เหลือ จากการศึกษาด้าน molecular identification นั้นได้ถูกเก็บรักษาไว้ในถุงบรรจุสารดูดความชื้น silica gel เพื่อการศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ประชากรของพืชสกุลไก่อแดงในประเทศไทยในอนาคต และนอกจาก นี้แล้ว ยังได้มีการทดลองทางด้านเซลล์วิทยา (cytology) จากรากของตัวอย่างพืชที่เก็บได้จากจังหวัด เชียงใหม่และจากรากของตัวอย่างพืชสกุลไก่อแดงอีกบางชนิด เพื่อหาข้อมูลจำนวนโครโมโซมของพืช ดังกล่าวซึ่งไม่เป็นที่ทราบกัน โดยการทดลองทางด้านเซลล์วิทยานี้ได้อาศัยความช่วยเหลือในด้าน อุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ จาก รศ.ดร.วรวิมล จุฬาลักษณ์านุกูล ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และความช่วยเหลือในการฝึกอบรมเทคนิคในการเตรียมสไลด์และย้อมสี โครโมโซม Dr. Michael Moeller แห่ง Royal Botanic Garden Edinburgh ประเทศสหราชอาณาจักร ระหว่างที่เดินทางมาให้คำปรึกษาในประเทศไทย

6. การเชื่อมโยงงานวิจัยกับนักวิชาการอื่นๆ

มีการเชื่อมโยงทางวิชาการกับนักวิชาการอื่นๆ มากมายทั้งในและต่างประเทศ โดยองค์กรทาง วิชาการในประเทศที่ให้ความร่วมมือทางวิชาการ ได้แก่ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (รศ.ดร.ทวีศักดิ์ บุญเกิด และ รศ.ดร.วรวิมล จุฬาลักษณ์านุกูล) ภาควิชาอายุร ศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (ศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุฑา) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (รศ.ดร.วิไลวรรณ อนุสารสุนทร) ภาควิชาชีววิทยา คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (รศ.ดร.คำณูณ กาญจนภูมิ) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยา ศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร (อ.ดร.อัจริยา รังษิรุจิ) หอพรรณไม้แห่งชาติ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (ดร.สมรวัน สุขดี) และองค์การสวนพฤกษศาสตร์แห่งชาติ จังหวัด

เชียงใหม่ (คุณจรัญ มากน้อย) ส่วนองค์กรทางวิชาการในต่างประเทศที่ให้ความร่วมมือทางวิชาการ ได้แก่ Royal Botanic Garden Edinburgh ประเทศ สหราชอาณาจักร (Dr. Michael Moeller) และ Department of Entomology, Kansas State University ประเทศสหรัฐอเมริกา (Professor Dr. Srinikambhampati)

7. ปัญหาและอุปสรรค

ปัญหาใหญ่ที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาที่ผ่านมาคือการเสียชีวิตของ Mrs. Mary Mendum แห่ง Royal Botanic Garden Edinburgh ประเทศสหราชอาณาจักร ซึ่งเป็นผู้เชี่ยวชาญระดับโลกในด้านพืชสกุลไคแดง และเป็นนักวิชาการที่ปรึกษาร่วมมือในต่างประเทศของงานวิจัยนี้ การเสียชีวิตของ Mrs. Mary Mendum นอกจากจะเป็นความสูญเสียอย่างใหญ่หลวงสำหรับวงการวิจัยทางด้านพืชวงศ์ Gesneriaceae แล้ว ยังทำให้การประสานงานเพื่อการแลกเปลี่ยนตัวอย่างพืชและข้อมูลการวิจัยต่างๆ ระหว่าง Royal Botanic Garden Edinburgh กับโครงการวิจัยนี้อยู่ในภาวะชะงักงัน และจำเป็นจะต้องรอให้ทาง Royal Botanic Garden Edinburgh มีการว่าจ้างนักวิชาการคนใหม่มาดูแลงานวิจัยทางด้านพืชสกุลไคแดงให้เรียบร้อยเสียก่อน จึงจะสามารถเริ่มเจรจาเพื่อหาแนวทางในการสร้างความร่วมมือวิจัยต่อไปได้ อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองและข้อมูลต่างๆ ที่มีอยู่ในขณะนี้ น่าจะเพียงพอต่อการสรุปผลการวิจัยขั้นต้น

Output ที่ได้จากโครงการ

ผลที่ได้จากโครงการวิจัยระบบวิทยาและวิวัฒนาการระดับอนุของพืชสกุลไก่แดงในประเทศไทยนี้เป็นประโยชน์อย่างมากต่อการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพและชีววิทยาการอนุรักษ์พันธุ์พืชสกุลไก่แดง ทั้งยังช่วยแก้ปัญหาทางด้านอนุกรมวิธานและระบบวิทยาของพืชสกุลนี้ในประเทศไทย และเป็นข้อมูลพื้นฐานต่อไปในการวิจัยต่อยอดด้านอนุกรมวิธาน วิวัฒนาการ และนิเวศวิทยาของสกุลไก่แดง รวมไปถึงพืชสกุลอื่นๆ ในวงศ์ Gesneriaceae ทั้งของประเทศไทยและประเทศอื่นๆ ในภูมิภาค ข้อมูลระบบวิทยาดังกล่าวได้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญยิ่งต่อการผสมและปรับปรุงสายพันธุ์พืชสกุลไก่แดงเพื่อธุรกิจไม้ดอกไม้ประดับต่อไปได้อีกด้วย

ผลงานจากโครงการวิจัยนี้ได้นำไปสู่การเสนอผลงาน ดังต่อไปนี้

- เสนอผลงานด้วยโปสเตอร์ในการประชุม Flora of Thailand Meeting ครั้งที่ 12 ระหว่างวันที่ 25 ถึง 29 พฤศจิกายน 2545 ณ หอพรรณไม้แห่งชาติ กรมป่าไม้ กรุงเทพฯ
- เสนอผลงานด้วยโปสเตอร์ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วทท.) ครั้งที่ 29 ระหว่างวันที่ 20 ถึง 22 ตุลาคม 2546 ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น
- เสนอผลงานด้วยโปสเตอร์ในการประชุม Biological Sciences Graduate Congress ครั้งที่ 8 ณ National University of Singapore ระหว่างวันที่ 3 ถึง 5 ธันวาคม 2546 ณ National University of Singapore ประเทศสิงคโปร์
- เสนอผลงานด้วยโปสเตอร์ในการประชุมวิชาการประจำปี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ครั้งที่ 12 ระหว่างวันที่ 18 ถึง 19 มีนาคม 2547 ณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ
- เสนอผลงานด้วยโปสเตอร์ในการประชุม International Botanical Congress ครั้งที่ 17 ระหว่างวันที่ 17 ถึง 23 กรกฎาคม 2548 ณ Austria Center Vienna เมือง Vienna ประเทศออสเตรีย

และ ผลงานจากโครงการวิจัยนี้ได้รับการตีพิมพ์เป็นบทความวิจัยแล้ว ในหัวข้อ "จำนวนโครโมโซมของพืชสกุลไก่แดงสามชนิดที่พบในประเทศไทย" ลงในวารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Section T) ปีที่ 3 ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม 2547

นอกจากนี้ ได้จัดเตรียมต้นฉบับบทความวิจัยเพื่อเสนอขอรับการตีพิมพ์ในหัวข้อ "Molecular identification of *Aeschynanthus* (Gesneriaceae) leading to a discovery of an undescribed species" เสนอไปยังวารสาร Plant Systematics and Evolution ซึ่งมี impact factor เท่ากับ 1.360