# บทที่ 1

## บทนำ

ความหลากหลายและความซับซ้อนของชนิดพืชในธรรมชาติ เกิดเนื่องมาจากความแปรผันภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่มของพืช ซึ่งความแปรผันดังกล่าวถือเป็นพื้นฐานของการวิวัฒนาการและการจัดจำแนกกลุ่มของพืช ความแปรผันของพืชในธรรมชาติเกิดขึ้นจากสาเหตุหลัก 3 ประการ (Jones & Luchsinger, 1987) ดังนี้

1. ความแปรผันเนื่องจากพัฒนาการของพืช (Development Variation)
2. ความแปรผันเนื่องจากสิ่งแวดล้อม (Environment Variation)
3. ความแปรผันเนื่องจากพันธุกรรม (Genetic Variation)

ความแปรผันที่เกิดขึ้นทำให้พืชในธรรมชาติมีโครงสร้าง และการปรับตัวที่แตกต่างกันไป ก่อให้เกิดปัญหาในการจัดกลุ่มหรือการจัดจำแนกชนิดของพืช ดังนั้นจึงเกิดความจำเป็นที่จะหาวิธีการมาใช้ในการศึกษาและแก้ไขปัญหาทางอนุกรมวิธานเหล่านี้ ซึ่งเป็นการศึกษาครอบคลุมถึงกระบวนการหรือวิธีการในการปรับตัวของพืชทั้งหลาย รวมถึงการศึกษาวิวัฒนาการ ลักษณะเฉพาะ และลักษณะที่แปรผันของพืช ข้อมูลที่ได้จากการศึกษารวมกับข้อมูลที่ได้จากศาสตร์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับพืชมาช่วยในการแก้ไขปัญหา ซึ่งจะคัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมที่สุด มาใช้ในการจัดกลุ่มพืชที่มีปัญหา (Jones & Luchsinger, 1987)

BIOSYSTEMATICS เป็นคำที่มาจากคำว่า "BIOSYSTEMATY" ซึ่งได้นำเสนอโดย Camp & Gilly ในปี ค.ศ.1943 (อ้างถึงใน Jones & Luchsinger, 1987) โดยกล่าวว่า ไบโอซิสเทมาติกส์ เป็นความพยายามที่จะสร้างหน่วยชีวภาพในธรรมชาติ โดยเฉพาะหน่วยของวิวัฒนาการ เพื่อใช้ผลการศึกษาดังกล่าวในการจัดจำแนกชนิด โดยอาศัยความสัมพันธ์ทางสายพันธุ์ ความแปรผัน และความเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างต่าง ๆ ดังนั้นตั้งแต่ปี ค.ศ.1940 เมื่อมีการศึกษา ไบโอซิสเทมาติกส์ เพิ่มมากขึ้น ได้มีผู้กำหนดนิยามไว้หลากหลายความหมาย ดังต่อไปนี้

Lawrance (1967) ให้ความหมายว่า ไบโอซิสเทมาติกส์ เป็นช่วงหนึ่งของการวิจัยทางพฤกษศาสตร์ ซึ่งพยายามกำหนดขอบเขตของหน่วยชีวภาพในธรรมชาติ และทำให้หน่วยเหล่านี้มีความเด่นชัด ซึ่งจำเป็นต้องใช้ข้อมูลจากทางเคมี นิเวศวิทยา พันธุศาสตร์ เซลล์วิทยา สัณฐานวิทยา การกระจายพันธุ์ และสรีรวิทยา รวมทั้งการสังเกตในสภาพธรรมชาติและภายใต้สภาวะที่มีการควบคุม

Solbrig (1970) ให้ความหมายของการศึกษา ไบโอซิสเทมาติกส์ ไว้ว่า เป็นการประยุกต์สาขาวิชาพันธุศาสตร์ สถิติ และเคมี มาใช้ในการหาคำตอบของการศึกษาปัญหาทางด้านอนุกรมวิธาน เพื่อหาคำอธิบายเกี่ยวกับความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต ในแง่มุมของทฤษฎีวิวัฒนาการ

Jones & Luchinger (1987) กล่าวว่า ไบโอซิสเทมาติกส์ เป็นการประยุกต์เอาวิธีการทดลองทางพันธุศาสตร์ เซลล์วิทยา และการศึกษาประชากรสิ่งมีชีวิต เพื่อนำมาประกอบการศึกษาอนุกรมวิธาน โดยเฉพาะการศึกษาระดับชนิด (species) หรือต่ำกว่าระดับชนิด (infraspecific level)

Stace (1989) แสดงความคิดเห็นเกี่ยวกับ ไบโอซิสเทมาติกส์ ไว้ว่า เป็นการศึกษาอนุกรมวิธานที่เกี่ยวข้องกับพันธุศาสตร์ เซลล์วิทยา และนิเวศวิทยา รวมถึงการศึกษาในภาคสนามและในห้องทดลอง

ต่อศักดิ์ สิลานันท์ (2535) ได้สรุปความหมายของไบโอซิสเทมาติกส์ไว้ว่า เป็นการศึกษาปัญหาทางอนุกรมวิธานเพื่อสร้างระบบการจำแนกสิ่งมีชีวิต ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ทางสายพันธุ์ของหน่วยทางอนุกรมวิธาน (taxon) ภายในระบบการจัดจำแนกนั้นโดยใช้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทางเคมี พันธุศาสตร์ เซลล์พันธุศาสตร์ สัณฐานวิทยา สรีรวิทยา นิเวศวิทยา และการกระจายพันธุ์

นอกจากการอธิบายความหมายของไบโอซิสเทมาติกส์ ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว นักพฤกษศาสตร์หลายท่าน ยังได้เสนอแนะวิธีการและความสำคัญในการศึกษาไบโอซิสเทมาติกส์ โดยวิธีต่าง ๆ ไว้ดังต่อไปนี้

Darlington (1963) ได้อธิบายความสำคัญของไบโอซิสเทมาติกส์ ที่นำมาใช้ในทางอนุกรมวิธาน (อ้างถึงใน Briggs & Walters, 1984) ในแง่ของการอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตในธรรมชาติ ที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน อันอาจเกิดจากพันธุกรรมที่แตกต่างกัน หรือเกิดการผสมพันธุ์แบบ self-pollination ทำให้เกิดความแปรผันของลักษณะต่าง ๆ ก่อให้เกิดความไม่สมบูรณ์ในการจัดจำแนก ซึ่งการแก้ปัญหาดังกล่าวต้องอาศัยการศึกษาทางไบโอซิสเทมาติกส์ และทฤษฎีพื้นฐานต่างๆ มาอธิบายประกอบกัน

Lawrance (1967) ได้กล่าวถึงวิธีการที่ควรนำมาใช้ในการศึกษาไบโอซิสเทมาติกส์ ไว้ดังนี้

1. การศึกษาเกี่ยวกับเซลล์วิทยาโดยเฉพาะโครโมโซมของแต่ละประชากรที่เก็บตัวอย่างมา
2. การศึกษาการผสมข้ามระหว่างประชากรต่าง ๆ เพื่อศึกษาความแข็งแรง และความสามารถในการสืบพันธุ์ของลูกผสม

3. การศึกษา homology ของโครโมโซมลูกผสม เพื่อตรวจความสัมพันธ์ระหว่างประชากรว่ามีมากน้อยเพียงใด

Solbrig (1970) ได้เสนอวิธีการที่นำมาใช้ในการศึกษาไบโอซิสเทมาติกส์ ดังต่อไปนี้

1. วิธีการทางพันธุศาสตร์ เน้นการศึกษาเกี่ยวกับการผสมข้ามระหว่างประชากร และตรวจลักษณะของลูกผสมว่ามีความสัมพันธ์กับพ่อหรือแม่อย่างไร

2. วิธีการทางเซลล์วิทยา เน้นการศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมในแง่ของจำนวน รูปร่าง และพฤติกรรมของโครโมโซม ในขณะที่มีการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอซิส

3. วิธีการทางสถิติ เน้นการเก็บตัวอย่าง และการคำนวณหาความสัมพันธ์ระหว่างประชากรโดยพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ของจำนวนลักษณะทั้งหมดที่นำมาพิจารณา

4. วิธีการทางเคมี เน้นการนำเอาองค์ประกอบทางเคมีของพืช โดยใช้ primary metabolism, secondary metabolism และการตรวจสอบโปรตีน เพื่อนำมาใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างประชากร

Jones & Luchsinger (1987) ได้อธิบายถึงวิธีการศึกษาลักษณะของพืชเพื่อนำข้อมูลมาใช้ในการศึกษาทางอนุกรมวิธาน โดยอาศัยศาสตร์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง ดังต่อไปนี้

1. การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา (Morphology)
2. การศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ (Anatomy)
3. การศึกษาลักษณะเอมบริโอของพืช (Embryology)
4. การศึกษาเซลล์วิทยา (Cytology)
5. การศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Electron microscopy)
6. การศึกษาเรณูวิทยา (Palynology)
7. การศึกษาบรรพพฤกษวิทยา (Palaeobotany)
8. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี (Chemosystematics)
9. การศึกษานิเวศวิทยา (Ecological evidence)
10. การศึกษาสรีรวิทยา (Physiological evidence)

การศึกษารายละเอียดของพืชด้วยวิธีการดังกล่าว ไม่จำเป็นจะต้องนำทุกวิธีการไปใช้ในการศึกษาพืชแต่ละชนิดพร้อมกัน การเลือกใช้วิธีการศึกษาขึ้นอยู่กับความเหมาะสมกับพืชแต่ละชนิดว่าต้องการศึกษารายละเอียดในด้านใดและมากน้อยแค่ไหน เพราะพืชบางชนิดอาจใช้เพียงบางลักษณะในการนำมาใช้พิจารณาความแตกต่างว่ามีมากพอที่จะจัดจำแนกพืชให้อยู่ในหน่วยทางอนุกรมวิธานใด ๆ ได้

Stace (1989) ได้จัดจำแนกวิธีการในการศึกษาไบโอซิสเทมาติกส์ เพื่อเป็นการสะดวกและง่ายต่อการศึกษา ออกเป็นสาขาย่อยๆ ดังนี้

1. numerical taxonomy เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการประมวลผลจากลักษณะที่นำมาศึกษาโดยอาศัยเทคนิคทางสถิติ

2. chemical taxonomy หรือ chemotaxonomy หรือ chemosystematics เป็นการศึกษาเกี่ยวกับสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของพืช เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้ประกอบกับการศึกษาทางอนุกรมวิธานโดยวิธีอื่น ๆ

จากแนวความคิดดังกล่าวของ Stace ได้นำเทคนิคทางสถิติเข้ามาใช้ในการประมวลผลข้อมูลที่ได้จากลักษณะที่ศึกษาด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังนั้นในการศึกษาข้อมูล จะต้องมีการศึกษาข้อมูลในสองลักษณะ นั่นคือศึกษาลักษณะข้อมูลในเชิงคุณภาพ (qualitative character) ที่ได้มาจากการสังเกตว่ามีลักษณะอะไรบ้างที่น่าสนใจ มีความแตกต่างไปจากเดิมหรือไม่ มีความเปลี่ยนแปลงอย่างไร ควบคู่ไปกับการศึกษาลักษณะข้อมูลในเชิงปริมาณ (quantitative character) และนำข้อมูลมาประมวลผลทางสถิติโดยวิธี Numerical Taxonomy ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้ในการจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธาน โดยยืนยันความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของหน่วยอนุกรมวิธานที่ทำการศึกษา

## NUMERICAL TAXONOMY

Numerical Taxonomy ใช้ข้อมูลที่ได้จากลักษณะของโครงสร้างต่างๆ ของหน่วยอนุกรมวิธานที่ทำการศึกษา โดยผู้ที่ริเริ่มนำวิธีการจัดจำแนกโดยวิธีนี้มาใช้คือ Michel Adanson ในช่วงปลายศตวรรษที่ 18 แต่มีการตีพิมพ์หลักการและรายละเอียดในหนังสือ Principles of numerical taxonomy เป็นครั้งแรก เมื่อปี ค.ศ. 1963 โดย P. H. A. Sneath และ R. R. Sokal

Numerical Taxonomy มีชื่อเรียกที่มีความหมายเดียวกันได้อีกคือ Taxometrics (Mayr, 1966) หรือ Mathematic Taxonomy (Jardin & Sibson, 1971) หรือ Multivariate Morphometrics (Blackith & Reyment, 1971) แต่ในที่นี้จะกล่าวถึง Numerical Taxonomy ตามคำนิยามของ Sneath & Sokal (1973) ที่กล่าวว่า Numerical Taxonomy หมายถึง การจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธาน โดยวิธีการทางคณิตศาสตร์บนพื้นฐานของสถานะของลักษณะของหน่วยทางอนุกรมวิธานนั้นๆ โดยรวมถึงการศึกษาความสัมพันธ์ทางสายพันธุ์ โดยอาศัยข้อมูลจากวิธีการทางสถิติหรือคณิตศาสตร์วิธีการต่างๆ ซึ่งวิธีการดังกล่าวจะประมวลรายละเอียดของลักษณะของหน่วยทางอนุกรมวิธาน ไปเป็นค่าทางคณิตศาสตร์ หรืออาจกล่าวได้ว่า Numerical Taxonomy เป็นการจัดรูปวิธานในเชิงปริมาณ

(quantitative taxonomy) ซึ่งสามารถนำข้อมูลด้านอื่น ๆ มาใช้ในการประมวลผลร่วมด้วย เช่น serology หรือ paper chromatography เป็นต้น

Jones & Luchsinger (1987) กล่าวว่า จุดมุ่งหมายของ Numerical Taxonomy คือ การบังคับให้นักพฤกษศาสตร์ ตีความหมายของลักษณะต่าง ๆ ที่ศึกษา ให้แสดงออกมาในเชิงข้อมูลทางคณิตศาสตร์ เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางคอมพิวเตอร์

Sneath & Sokal (1973) ได้อธิบายลักษณะพื้นฐานของ Numerical Taxonomy ตามแนวคิดของ Michel Adanson ซึ่งได้ตั้งแนวความคิดที่เรียกว่า Neo-Adansonian มีลักษณะดังนี้

1. การจัดกลุ่มจะเกิดได้ดีที่สุดเมื่อหน่วยทางอนุกรมวิธานที่นำมาจัดกลุ่ม มีรายละเอียดและจำนวนของลักษณะที่ศึกษาเป็นจำนวนมาก

2. ลักษณะทุกลักษณะที่นำมาพิจารณาจะต้องมีความเหมาะสม และเป็นลักษณะที่ใช้ในการจัดรูปวิธานในธรรมชาติ

3. ความคล้ายคลึงกันทั้งหมดของค่าสังเกตแต่ละคู่ที่นำมาพิจารณา จะเป็นลักษณะเฉพาะตัวของหน่วยอนุกรมวิธานที่ทำการศึกษา

4. การตัดสินหน่วยอนุกรมวิธานใด ๆ เป็นผลเนื่องมาจากความสัมพันธ์ของลักษณะต่าง ๆ ภายในกลุ่มโครงสร้างที่ทำการศึกษา

5. ความสัมพันธ์ทางสายพันธุ์ (phylogenetic inference) ศึกษาได้จากโครงสร้างของแต่ละกลุ่มอนุกรมวิธาน และจากความสัมพันธ์ของลักษณะต่าง ๆ ซึ่งจะให้ข้อสรุปที่ชัดเจน ในเรื่องของกระบวนการและกลไกของวิวัฒนาการ

6. การจัดกลุ่มมีพื้นฐานอยู่บนความคล้ายคลึงของลักษณะต่าง ๆ โดยจัดให้ลักษณะที่คล้ายกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

Sneath & Sokal (1987) ได้อธิบายลักษณะของข้อมูลในการศึกษา Numerical Taxonomy ว่า ระดับหน่วยทางอนุกรมวิธานที่นำมาใช้ในการศึกษา อาจอยู่ในระดับใดก็ได้ ไม่ว่าจะเป็นระดับชนิด (species) สกุล (genus) วงศ์ (family) หรือระดับที่สูงกว่า แต่เมื่อนำมาศึกษาด้วย Numerical Taxonomy จะเรียกหน่วยดังกล่าวว่า Operational Taxonomic Unit (OTU) และจำนวนข้อมูลที่นำมาวิเคราะห์ควรมีจำนวนมากที่สุดเท่าที่จะนำมาใช้ได้ ทั้งนี้ไม่ควรใช้ลักษณะดังต่อไปนี้

1. ลักษณะที่ไม่แสดงถึงลักษณะประจำของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ เช่น ชื่อ จำนวนตัวอย่างแห้ง เป็นต้น

2. ลักษณะที่มีการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมซึ่งมีการแปรผันสูง และยากแก่การตัดสินว่าลักษณะใดเป็นผลมาจากสภาพแวดล้อม หรือลักษณะใดเป็นผลจากพันธุกรรม เช่น จำนวนใบใน 1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิ่ง เป็นต้น อย่างไรก็ตามผู้ศึกษาอาจรวมลักษณะที่เป็นผลมาจากสภาพแวดล้อมได้ ถ้าวัตถุประสงค์ของการศึกษาเน้นที่ผลของสภาพแวดล้อมที่มีความสัมพันธ์ต่อลักษณะที่แสดงออก

3. ลักษณะที่มีความสัมพันธ์กัน จะต้องตัดลักษณะใดลักษณะหนึ่งออก เช่น ความยาวของเส้นรอบใบรูปไล่ กับรัศมีของใบ ในกรณีเช่นนี้ต้องตัดลักษณะใดลักษณะหนึ่งออก เป็นต้น

4. ลักษณะที่มีความคงตัวใน OTU ทั้งหมดที่นำมาศึกษา เช่น ถ้าพืชที่ศึกษามี 2 กลุ่ม กลุ่มแรกมีจำนวนรยางค์ (appendage) 1 อัน และอีกกลุ่มมีรยางค์ 2 อัน ในกรณีนี้ควรตัดลักษณะจำนวนรยางค์ออก เพราะแต่ละกลุ่มมีลักษณะที่คงที่เฉพาะกลุ่มเท่านั้น เป็นต้น

Clifford & Stephen (1975) จัดประเภทของข้อมูลที่จะนำมาใช้ในการศึกษา Numerical Taxonomy สามารถจำแนกได้ 6 แบบ ดังนี้

1. Binary เป็นข้อมูลที่มีเพียง 2 สถานะ คือ มี กับ ไม่มี

2. Disorder multistate เป็นข้อมูลที่มีมากกว่า 2 สถานะ แต่ละสถานะมีช่วงของข้อมูลที่เท่ากัน เช่น สีของดอกมี 3 สี ได้แก่ สีแดง สีเหลือง และสีขาว เป็นต้น

3. Order multistate เป็นข้อมูลที่มีมากกว่า 2 สถานะ แต่ละสถานะมีช่วงของข้อมูลที่ไม่เท่ากัน เช่น ความยาวของผล ขนาดอาจมีได้ตั้งแต่ สั้นมาก สั้น ยาว ยาวมาก เป็นต้น

4. Ranked เป็นข้อมูลที่พิจารณาจากหน่วยที่จะศึกษาเพียงหน่วยเดียว แต่อยู่ในสภาพที่แตกต่างกัน มักใช้ในการศึกษาด้านนิเวศวิทยา

5. Meristic เป็นข้อมูลที่เป็นจำนวนเต็มหรือปัดให้เป็นจำนวนเต็ม เช่น จำนวนกลีบดอกใน 1 ดอก จำนวนออวุลใน 1 ช่องของรังไข่ เป็นต้น

6. Continuous เป็นข้อมูลที่มีค่าต่อเนื่อง เช่น ความยาว ความกว้าง เป็นต้น

Dunn & Everit (1982) จำแนกลักษณะดังกล่าวที่นำมาใช้ได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. Qualitative character คือ ลักษณะที่มีเพียง 2 สถานะ คือ มี หรือ ไม่มี และบางครั้งอาจมากกว่า 2 สถานะ เช่น สีของกลีบดอก เป็นต้น ลักษณะประเภทนี้ไม่สามารถนำมาศึกษาวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติได้ เนื่องจากไม่สามารถหาค่าเฉลี่ยได้

2. Quantitative character คือลักษณะที่มีความแปรผันในแต่ละ OTU ที่นำมาศึกษา เช่น ความยาวของก้านชูอับเรณู และอับเรณู เป็นต้น ลักษณะประเภทนี้สามารถนำมาศึกษาด้วยวิธีการทางสถิติได้ เพราะสามารถหาค่าเฉลี่ยได้

การศึกษา Numerical Taxonomy ของ Sneath & Sokal (1973) ได้อธิบายถึงข้อได้เปรียบของการใช้เทคนิคดังกล่าวในการแก้ปัญหาทางอนุกรมวิธาน ในรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. Numerical Taxonomy สามารถนำข้อมูลจากการศึกษาด้วยวิธีต่างๆ มาใช้ในการศึกษาได้ เช่น สัณฐานวิทยา สรีรวิทยา เคมี ลำดับเบสของ DNA ลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน เป็นต้น ซึ่งเป็นการยากที่จะนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้ในการศึกษาอนุกรมวิธานโดยวิธีธรรมดา

2. การศึกษา Numerical Taxonomy เป็นกระบวนการทางอนุกรมวิธาน ที่อาศัยเทคนิคอัตโนมัติที่มีประสิทธิภาพสูงในการจัดจำแนก ดังนั้นผู้ที่มีความชำนาญทางด้านอนุกรมวิธานไม่สูงมากก็สามารถทำการศึกษาโดยวิธีนี้ได้

3. การกำหนดสถานะของลักษณะต่าง ๆ ในรูปของตัวเลขสามารถวิเคราะห์โดยระบบการประมวลผลทางอิเลคทรอนิคส์ และให้ความหมายทางอนุกรมวิธานในการนำไปใช้สร้างคำบรรยายรูปวิธาน บัญชีรายชื่อ แผนที่ และเอกสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

4. การวิเคราะห์ข้อมูลในเชิงปริมาณทำให้มีการจัดจำแนกหน่วยทางอนุกรมวิธานที่แตกต่างกันได้ดีกว่า และสามารถตรวจสอบหน่วยทางอนุกรมวิธานได้ง่าย ทำให้ได้การจัดกลุ่มและรูปวิธานที่ดีกว่าวิธีธรรมดา

5. การจัดทำตารางข้อมูลที่แน่นอนในการศึกษา Numerical Taxonomy ได้บังคับให้ผู้ศึกษาโดยวิธีนี้ต้องใช้จำนวนและคำบรรยายลักษณะที่ดีกว่าเดิม ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นในการพัฒนาประสิทธิภาพของการศึกษาอนุกรมวิธานแบบธรรมดาให้ดียิ่งขึ้น

6. ประโยชน์พื้นฐานของ Numerical Taxonomy คือ สามารถตรวจสอบซ้ำเกี่ยวกับหลักการของอนุกรมวิธาน และความมุ่งหมายของการจัดกลุ่ม ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะเป็นผลดีต่อการศึกษาอนุกรมวิธานโดยทั่วไป และนำไปใช้ในการแก้ปัญหาบางอย่างในการศึกษาอนุกรมวิธานได้

7. การศึกษา Numerical Taxonomy ทำให้เกิดการแปลผลใหม่ของความคิดทางชีววิทยาจำนวนมาก และสามารถนำไปใช้แก้ปัญหาทางด้านชีววิทยา และการวิวัฒนาการใหม่ ๆ ได้

สำหรับวิธีการทางสถิติที่นำมาใช้ในการศึกษา Numerical Taxonomy เพื่อจัดจำแนกหน่วยทางอนุกรมวิธาน โดยใช้หลักการวิเคราะห์ความแปรปรวนพหุคูณ (Multivariate Analysis) มีหลายวิธี ได้แก่

- Principle Component Analysis (PCA)
- Factor Analysis (FA)
- Discriminant Analysis (DA)
- Cluster Analysis (CA)
- Canonical Variate Analysis (CVA)

ในการศึกษา Numerical Taxonomy ของเฟิร์นถิ้นกุรัม ได้คัดเลือกเทคนิคการวิเคราะห์ปัจจัย (Factor Analysis) การวิเคราะห์การจัดจำแนก (Discriminant Analysis) และการวิเคราะห์การจัดกลุ่ม

(Cluster Analysis) มาใช้ในการวิเคราะห์ความแปรผันภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่มของประชากร เฟิร์นลิ้นกุรัม ดังมีรายละเอียดของเทคนิคการวิเคราะห์ต่าง ๆ ดังนี้

การวิเคราะห์ปัจจัย (FACTOR ANALYSIS)

การวิเคราะห์ปัจจัย (Factor Analysis) อาจเรียกได้อีกอย่างว่า การวิเคราะห์ตัวประกอบ เป็นสาขาหนึ่งของสถิติ-วิทยาศาสตร์ ผู้ที่นำเทคนิคนี้มาใช้อย่างแพร่หลาย คือ Charles Spearman ชาวอังกฤษ โดยได้ตีพิมพ์ทฤษฎีสองตัวประกอบ (Two Factor Theory) ในปี ค.ศ.1904 และได้รับเกียรติให้เป็นบิดาแห่งการวิเคราะห์ปัจจัย (อุทุมพร จามรมาน, 2532)

การวิเคราะห์ปัจจัย คือ เทคนิคการวิเคราะห์ทางสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวแปรให้มีจำนวนลดน้อยลง โดยการสร้างกลุ่มตัวแปรใหม่จากกลุ่มตัวแปรเดิมหลาย ๆ ตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กัน (Norusis, 1985)

สุชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์ และ กรรณิการ์ สุขเกษม (2533) อธิบายความหมายของการวิเคราะห์ปัจจัย คือ วิธีการทางสถิติที่ใช้ลดจำนวนข้อมูลที่มีอยู่มาก ๆ ให้น้อยลง เพื่อให้อยู่ในสภาพที่สามารถเข้าใจและจัดการกับข้อมูลที่น้อยลงได้ง่ายขึ้น

ต่อศักดิ์ สีลานันท์ (2535) ได้ใช้เทคนิคการวิเคราะห์ปัจจัยในการศึกษาไบโอซิสเทมาติกส์ของโคลงเคลงขน ได้สรุปความหมายของการวิเคราะห์ปัจจัยไว้ว่า เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีตัวแปรหรือลักษณะของพืชตั้งแต่ 2 ลักษณะขึ้นไป โดยการสร้างตัวแปรใหม่ในรูปของสมการเชิงเส้นหลายตัวแปร โดยตัวแปรที่ปรากฏในสมการคือ ตัวแปรเริ่มต้นทั้งหมด

การวิเคราะห์ปัจจัย มีวัตถุประสงค์ ดังต่อไปนี้

1. เพื่อลดจำนวนตัวแปรให้อยู่รวมกันเป็นปัจจัย (factor) ต่างๆ และนำตัวแปรใหม่ไปใช้ในการวิเคราะห์จัดจำแนกกลุ่มได้

2. เพื่อศึกษาแบบแผนการรวมกลุ่มของตัวแปร และหาน้ำหนักของตัวแปรแต่ละตัวแปร ที่นำมาใช้ในการสร้างมาตรวัดประกอบ (composite measure)

3. เพื่อทดสอบและยืนยันความถูกต้องของมาตรวัด (confirmatory factor analysis)

เป้าหมายของการวิเคราะห์ปัจจัย เพื่อต้องการลดตัวแปรเดิมให้น้อยลงโดยการสร้างตัวแปรใหม่ที่ไม่มีความสัมพันธ์กัน ตัวแปรใหม่ที่ถูกสร้างขึ้นจะเรียกว่า factor หรือ ปัจจัย ซึ่งแต่ละ factor จะรวมตัวแปรเริ่มต้นที่มีความสัมพันธ์กันมาไว้ด้วยกัน ดังนั้น factor ใหม่ที่ได้ จะมีจำนวนน้อยกว่าหรือเท่ากับจำนวนตัวแปรเริ่มต้นเท่านั้น ส่วนจะมีจำนวน factor ใหม่มากน้อยแค่ไหน ขึ้นอยู่กับวิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์ ซึ่ง factor ใหม่ สามารถอธิบายความแปรผันของประชากรตัวอย่างได้แตกต่างกัน คือ

factor ที่ 1 สามารถอธิบายความแปรผันของประชากรตัวอย่างได้มากที่สุด

factor ที่ 2 สามารถอธิบายความแปรผันของประชากรตัวอย่างได้มากที่สุด เมื่อตัดความแปรผันที่อธิบายได้ด้วย factor ที่ 1 ออกไป

factor ที่ 3 สามารถอธิบายความแปรผันของประชากรตัวอย่างได้มากที่สุด ภายหลังจากตัดความแปรปรวนที่อธิบายได้ด้วย factor ที่ 1 และ factor ที่ 2 ออกไป

ถ้าในการวิเคราะห์ปัจจัยนั้นสามารถวิเคราะห์จำนวนปัจจัยได้มากกว่านี้ ก็มีหลักการเช่นเดียวกันนี้ในการอธิบายความหมายของ factor ต่าง ๆ ที่ปรากฏ

ลักษณะข้อมูลที่นำมาวิเคราะห์ ได้มาจากการศึกษาตัวแปรในตัวอย่างที่ทำการศึกษา ซึ่งจะต้องมีลักษณะของข้อมูลที่วัดจากตัวแปรต่าง ๆ ดังนี้

1. ตัวแปรที่มีการวัดระดับช่วง (interval scale) คือ ตัวแปรที่มีค่าคะแนนเป็นช่วง ๆ เช่น คะแนนความรู้ คะแนนทัศนคติ เป็นต้น

2. ตัวแปรระดับอัตราส่วน (ratio scale) คือ ตัวแปรที่มีค่าเป็นคะแนนมาตรฐาน ที่ให้ผลเหมือนกันหมด ไม่ว่าใครเป็นคนวัด และวัดที่ใด เช่น อายุ น้ำหนัก ส่วนสูง และความเร็ว เป็นต้น

3. ข้อมูลที่มีการวัดระดับกลุ่ม (nominal or categorial) จะต้องมีการกำหนดลักษณะตัวแปรนั้นให้เป็น 0 หรือ 1 เช่น เพศชาย = 0 และ เพศหญิง = 1 หรือ เพศชาย = 1 และ เพศหญิง = 0 เป็นต้น

การวิเคราะห์ปัจจัย มีขั้นตอนในการวิเคราะห์ข้อมูลของตัวแปรต่างๆ ดังนี้

1. การสร้างเมตริกความสัมพันธ์ระหว่างคู่ของตัวแปรทุกตัว (correlation matrix)

2. การสกัดปัจจัย (factor extraction)

3. การหมุนแกนปัจจัย (factor rotation)

4. การหาคะแนนปัจจัย (factor score) สำหรับทุกหน่วยวิเคราะห์

ขั้นตอนดังกล่าวทำการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS/PC+ จากขั้นตอนต่างๆ เหล่านี้ Linderman, Merinda and Gold (1980) ได้อธิบายวิธีการวิเคราะห์เพื่อหา factor ของข้อมูลชุดหนึ่ง ๆ ได้ 2 วิธี (อ้างถึงใน ต่อศักดิ์ สีลานันท์, 2535) คือ

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis, PCA) ความแปรปรวนที่อธิบายได้ในแต่ละ factor ได้มาจากความแปรปรวนของแต่ละตัวแปรเริ่มต้น และความแปรปรวนร่วมระหว่างตัวแปร (ซึ่งอาจมีเท่ากับ 2 หรือมากกว่า 2 ตัวแปรก็ได้) ซึ่งโดยวิธีการนี้ factor ที่ได้จะมีจำนวนเท่ากับจำนวนตัวแปรเริ่มต้น แต่ความแตกต่างระหว่าง factor กับ ตัวแปรเริ่มต้นอยู่ที่ factor แต่ละ factor ไม่มีความสัมพันธ์กัน ในขณะที่ตัวแปรเริ่มต้นมีความสัมพันธ์กัน

2. การวิเคราะห์ปัจจัยร่วม (Common Factor Analysis, CFA) ความแปรปรวนของแต่ละ factor ได้มาจากความแปรปรวนร่วมระหว่างตัวแปรเริ่มต้น ซึ่งไม่จำเป็นที่ตัวแปรร่วมทุกตัวต้องมีความสัมพันธ์กัน ดังนั้นโดยวิธีการนี้จำนวน factor จะน้อยกว่าจำนวนตัวแปรเริ่ม แต่อย่างไรก็ตาม factor แต่ละ factor ต่างก็ไม่มีความสัมพันธ์กัน

จะเห็นได้ว่าโดยหลักการของ PCA และ CFA นั้น PCA พยายามให้ความแปรปรวนของตัวแปรอย่างน้อย 1 ตัวแปร ถูกอธิบายได้มากที่สุดโดย factor เพียง 1 factor ในขณะที่ CFA จะคำนึงถึงความแปรปรวนร่วมระหว่างตัวแปรให้สามารถอธิบายโดย factor ได้มากที่สุด โดยไม่คำนึงถึงความแปรปรวนเนื่องมาจากตัวแปรแต่ละตัว ซึ่งในการศึกษาทางด้าน Numerical Taxonomy ไม่นิยมนำมาใช้ แต่มักถูกนำมาใช้ในการศึกษาด้าน behavioural science

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธีการ PCA ข้อมูลเริ่มต้นอาจอยู่ในรูปของคะแนนดิบหรือค่าสหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทุกคู่ก็ได้ นำข้อมูลดังกล่าวมาหาค่า principle component ของเมตริกซ์ค่าสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร ซึ่งจะได้ผลลัพธ์เป็นค่า ไอเกน (eigenvalue) และ เวกเตอร์ไอเกน (eigenvector) ซึ่งจะได้ค่าไอเกนเท่ากับจำนวนตัวแปรที่ใช้ในการวิเคราะห์ รายละเอียดของผลการวิเคราะห์สามารถอธิบายได้ ดังนี้

- ค่าไอเกน เป็นค่าที่แสดงความแปรปรวนของข้อมูลที่สามารถอธิบายได้โดย factor แต่ละ factor และเนื่องจากค่าไอเกนที่ได้จะมีค่าเท่ากับจำนวนตัวแปร ดังนั้นจำนวน factor ที่ได้จึงเท่ากับจำนวนตัวแปรด้วย ค่าไอเกนค่าแรกจะมีค่ามากที่สุด ซึ่งเป็นค่าแสดงความแปรปรวนที่ factor ที่ 1 สามารถอธิบายได้ ค่าไอเกนค่าที่ 2 มีค่ารองลงมาและเป็นค่าแสดงความแปรปรวนที่ factor ที่ 2 สามารถอธิบายได้ภายหลังตัดความแปรปรวนที่ factor ก่อนหน้านี้อธิบายได้ออกไปแล้ว เป็นเช่นนี้จนถึงค่าไอเกนค่าสุดท้าย จะเห็นได้ว่าโดยวิธีการนี้จำนวนตัวแปรมิได้ลดลงเลย แม้ว่าตัวแปรของข้อมูลจะถูกเปลี่ยนไปเป็น factor แล้วก็ตาม ดังนั้นค่าไอเกนจะเป็นค่าที่นำมาใช้พิจารณาในการคัดเลือก factor ที่ไม่สำคัญออกไป นั่นคือ ถ้า factor ใด มีค่าไอเกนน้อยกว่า 1 แสดงว่า factor นั้นอธิบายความแปรปรวนได้ไม่ดี ให้ตัดออกไปไม่ต้องนำมาพิจารณา ด้วยเหตุผลดังกล่าวทำให้ได้ตัวแปรใหม่ที่นำมาพิจารณามีจำนวนน้อยกว่าตัวแปรเดิม

- เวกเตอร์ไอเกน มีสมาชิกในแต่ละแถวเป็นค่าน้ำหนักของตัวแปรในแต่ละ factor ที่คำนวณได้จากค่าไอเกน คือ ค่าไอเกน 1 ค่า ใช้คำนวณหาเวกเตอร์ไอเกน 1 เวกเตอร์ ดังนั้นเวกเตอร์

ไอเกนจึงมีจำนวนสมาชิกเท่ากับค่าไอเกน เท่ากับจำนวนตัวแปร และเท่ากับจำนวน factor ด้วย ค่าน้ำหนักของตัวแปรในแต่ละ factor นำมาใช้ในการตีความหมายของ factor โดยแต่ละตัวแปรจะมีค่าสูงที่สุดใน factor ใด factor หนึ่งเท่านั้น ตัวแปรใดที่มีค่าน้ำหนักบน factor ใดสูง แสดงว่าตัวแปรดังกล่าวสามารถอธิบายได้โดย factor นั้นได้มาก ซึ่งใน factor หนึ่งๆ จะมีตัวแปรที่มีค่าน้ำหนักสูงที่สุดอยู่หลายตัวแปร ดังนั้นจึงสามารถบอกได้ว่า factor นั้น ๆ ประกอบด้วยตัวแปรอะไรบ้าง และมีความหมายว่าอย่างไร เช่น

factor ที่ 1 ประกอบด้วยตัวแปรที่มีค่าน้ำหนักสูงสุด คือ ความกว้างและความยาวของใบ แสดงว่า factor นี้ อธิบายเกี่ยวกับความแปรปรวนเกี่ยวกับ ขนาด

factor ที่ 2 ประกอบด้วยตัวแปรที่มีค่าน้ำหนักสูงสุด คือ จำนวนดอกย่อย และจำนวนออวูล แสดงว่า factor นี้ อธิบายความแปรปรวนเกี่ยวกับ จำนวน

อย่างไรก็ตาม ถ้าค่าน้ำหนักของตัวแปรหนึ่งๆ มีขนาดใกล้เคียงกันในหลายๆ factor ทำให้ยากต่อการอธิบายความหมายของ factor ดังนั้นเพื่อให้สามารถอธิบายความหมายของ factor ได้ง่ายขึ้น โดยที่ไม่ทำให้ความแปรปรวนที่แต่ละ factor อธิบายได้ไม่เปลี่ยนแปลง จึงมีการแปลงค่าน้ำหนักของตัวแปร โดยให้ค่าน้ำหนักของแต่ละตัวแปรมีค่าสูงใน factor เพียง 1 factor และมีค่าใกล้ ศูนย์ใน factor อื่นๆ เรียกวิธีการดังกล่าวว่า Multiple Factor Analysis (Sneath & Sokal, 1973) ซึ่งจะได้ผลลัพธ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ คือ communality value และ factor score มีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

- communality value เป็นค่าที่แสดงความแปรปรวนของตัวแปรแต่ละตัวที่สามารถอธิบายได้ด้วย factor ที่เลือกไว้ ค่านี้คำนวณจากผลรวมของค่าน้ำหนักของตัวแปรในแต่ละ factor ที่เลือกไว้ ยกกำลังสอง ซึ่งถ้าค่านี้มีค่ามาก แสดงว่า ความแปรปรวนของตัวแปรนั้นสามารถอธิบายได้มากด้วย factor ที่เลือกไว้ ในทางกลับกัน ถ้าค่านี้มีค่าน้อย แสดงว่า ความแปรปรวนของตัวแปรนั้นสามารถอธิบายโดย factor ที่เลือกไว้ได้ต่ำ นอกจากนี้ยังสามารถหาความแปรปรวนของตัวแปรที่สามารถอธิบายได้ในแต่ละ factor โดยคิดจากค่าน้ำหนักของตัวแปรยกกำลังสอง ถ้าค่านั้นมาก แสดงว่า factor นั้น อธิบายความแปรปรวนของตัวแปรนั้นได้มาก

- factor score เป็นค่าที่บอกถึงน้ำหนักของตัวแปรว่ามีความแปรปรวนมากน้อยแค่ไหน สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ขั้นต่อไปหรือนำมาลงจุดบนแกน factor คู่หนึ่งๆ เพื่อดูการกระจายตัวของค่าสังเกตของข้อมูล ประโยชน์ที่ได้จากการลงจุด factor score คือ สามารถตรวจสอบค่าสังเกตที่มีการกระจายที่แตกต่างไปจากค่าอื่น ๆ ได้ง่าย (Norusis, 1985)

ดังนั้น จึงอาจสรุปได้ว่า การวิเคราะห์ปัจจัย คือ เทคนิคการวิเคราะห์ทางสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวแปร หรือลักษณะของตัวอย่างที่สนใจศึกษา ตั้งแต่ 2 ลักษณะขึ้นไป ให้มีจำนวนของ

ตัวแปรลดน้อยลง โดยการสร้างตัวแปรใหม่ที่เรียกว่า factor จากกลุ่มตัวแปรเดิมที่มีความสัมพันธ์กันด้านใดด้านหนึ่ง ในรูปของสมการเชิงเส้นหลายตัวแปร และอธิบายความหมายของ factor ได้โดยพิจารณาจากตัวแปรที่เป็นองค์ประกอบของ factor นั้น

## การวิเคราะห์การจัดจำแนก (DISCRIMINANT ANALYSIS)

การวิเคราะห์จัดจำแนก เป็นเทคนิคทางสถิติที่ใช้ในการแก้ปัญหาเกี่ยวกับการจัดจำแนกประเภท โดยการสร้างสมการหลายตัวแปรขึ้น ซึ่งตัวแปรที่อยู่ในสมการคือ ความแปรปรวนที่ได้มาจากข้อมูลที่จะทำการวิเคราะห์ สมการดังกล่าวต้องเป็นสมการที่ใช้ลดความผิดพลาดในการจัดจำแนกให้มากที่สุด จึงจะทำให้การจัดกลุ่มใหม่มีความถูกต้องมากที่สุด ผู้ที่นำวิธีการนี้มาใช้เป็นคนแรก คือ Sir Ronald Fisher (Norusis, 1985)

การวิเคราะห์จำแนกประเภท มีวัตถุประสงค์ ดังนี้

1. เพื่อระบุว่าลักษณะใดเป็นตัวแปรที่สำคัญที่สุดในการจำแนกกลุ่ม
2. เพื่อประเมินความถูกต้อง ในการจัดกลุ่มประชากรจำนวนมากออกเป็นกลุ่ม ๆ ตามลักษณะที่วัด โดยการระบุความเป็นสมาชิกของแต่ละกลุ่มได้ถูกต้อง

ลักษณะข้อมูลที่ใช้ในการจัดจำแนก ประกอบด้วย ตัวแปรตามและตัวแปรอิสระ ตัวแปรตาม คือ ตัวแปรกลุ่มที่เราต้องการจำแนก อาจเป็น 2 กลุ่ม หรือมากกว่าก็ได้ ตัวแปรอิสระ คือ ตัวแปรที่เกิดจากการสังเกตความแปรปรวนของประชากรที่ต้องการศึกษา และเกี่ยวข้องกับปัญหาที่ต้องการจะจำแนกหน่วยวิเคราะห์ออกเป็นกลุ่ม ดังนั้นการเตรียมข้อมูลมาใช้ในการวิเคราะห์โดยเทคนิคการจัดจำแนกประเภท ควรมีลักษณะดังนี้

1. ข้อมูลที่ใช้ต้องเป็นสมาชิกของประชากร ตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป
2. ในแต่ละกลุ่มจะต้องสามารถจัดสมาชิกได้อย่างน้อย 2 หน่วยวิเคราะห์ (OTU)
3. จำนวน OTU ของกลุ่มประชากรตัวอย่าง จะต้องมีมากกว่าจำนวนตัวแปรที่เป็นตัวกำหนดคุณลักษณะของกลุ่ม (discriminant variables) อย่างน้อย 2 กลุ่ม
4. ตัวแปรตาม เป็นตัวแปรกลุ่ม (niminal scale) ของตัวแปรที่ต้องการจัดจำแนก ซึ่งอาจเป็น 2 กลุ่ม หรือมากกว่า
5. ตัวแปรอิสระหรือตัวแปรกำหนดคุณลักษณะของกลุ่มอาจมีได้ทั้งตัวแปรที่มีการวัดระดับช่วง หรือตัวแปรที่เป็นคะแนน (interval scale) หรือเป็นตัวแปรที่มีค่า 0 หรือ 1 (โดยการกำหนดเป็นรหัส)

6. ตัวแปรอิสระ จะต้องไม่มีความสัมพันธ์กันกับตัวแปรอื่น ๆ นั่นคือ ไม่เป็น linear combination ของอีกตัวแปรหนึ่ง และต้องมีการกระจายปกติแบบตัวแปรหลายตัว (Multivariate Normal Distribution)

7. กลุ่มตัวอย่างของประชากรที่ศึกษา จะต้องเลือกมาจากประชากรที่มีการกระจายปกติแบบตัวแปรหลายตัวแปร

8. ข้อมูลในแต่ละ OTU ที่นำมาใช้ ควรมีข้อมูลที่ครบถ้วนทุกตัวแปร เพราะถ้ามีข้อมูลบางส่วนขาดหายไป (missing value) จะทำให้เกิดความลำเอียงในการประมาณค่าได้

9. การวิเคราะห์จัดจำแนก จะต้องมีการกำหนดกลุ่มของประชากร หรือหน่วยวิเคราะห์ (OTU) ไว้ล่วงหน้า

ในการวิเคราะห์จัดจำแนก มีวิธีการพิจารณานำตัวแปรเข้ามาวิเคราะห์หาสมการจัดจำแนก แบ่งได้ 2 แบบ ดังนี้

แบบที่ 1 วิธีการที่นำเอาตัวแปรทุกตัวแปรมาวิเคราะห์หาสมการจัดจำแนก วิธีการนี้ทุกตัวแปรจะอยู่ในสมการแม้ว่าบางตัวแปร จะมีคะแนนในการจัดจำแนกต่ำ

แบบที่ 2 เป็นวิธีการพิจารณาตัวแปรที่จะนำมาใช้ในการวิเคราะห์ หรือตัดออกจากการวิเคราะห์หาสมการจัดจำแนก วิธีการนี้ทุกตัวแปรที่มีคะแนนสูง ๆ ในการจัดจำแนกจะอยู่ในสมการ ในขณะที่ตัวแปรที่มีคะแนนจัดจำแนกต่ำจะถูกตัดออกจากสมการ ขั้นตอนของวิธีการจัดจำแนกโดยวิธีการนี้ คือ ขั้นตอนแรก พิจารณาว่าตัวแปรใดที่มีค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มไม่แตกต่างกัน ให้ตัดตัวแปรดังกล่าวออก ขั้นตอนที่สอง พิจารณาว่าตัวแปรที่เหลืออยู่ตัวแปรใดมีคะแนนในการจัดจำแนกสูง ให้นำตัวแปรดังกล่าว เข้าสู่การวิเคราะห์หาสมการจัดจำแนก และทำเช่นนี้กับตัวแปรตัวต่อไปที่จะนำเข้าสู่การวิเคราะห์ ซึ่งในระหว่างที่วิเคราะห์หากตัวแปรใดมีคะแนนในการจัดจำแนกต่ำในสมการ จะถูกตัดออกจากสมการ หรืออาจใช้วิธีการนำตัวแปรที่เหลือเข้าสู่การวิเคราะห์ทั้งหมด แล้วจึงค่อยคัดเลือกตัวแปรที่มีคะแนนในการจัดจำแนกต่ำออกภายหลังก็ได้

อย่างไรก็ตามทั้งสองวิธีให้ผลลัพธ์ที่เหมือนกัน คือสมการจัดจำแนกที่มีตัวแปรที่มีอำนาจในการจัดจำแนกสูงอยู่ในสมการ

ในการพิจารณาว่าตัวแปรใดมีความสำคัญต่อสมการจัดจำแนกมากน้อยเพียงใด ให้พิจารณาจากค่าต่างๆ ที่ได้จากผลการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถอธิบายความหมายของการวิเคราะห์ ดังนี้

- ค่าสัมบูรณ์ของค่าสัมประสิทธิ์ที่เป็นคะแนนมาตรฐานของตัวแปรในสมการ พิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรใดมีค่าสูง แสดงว่าตัวแปรนั้นมีความสำคัญต่อการจัดจำแนกของสมการนั้น

- ค่าไอเกน (eigenvalue) เป็นค่าที่บอกอัตราส่วนการแปรผันของข้อมูล ที่สมการนั้นสามารถอธิบายได้โดยเปอร์เซ็นต์ความแปรผัน โดยคำนวณจากผลหารระหว่างค่าไอเกนของสมการ

นั้นกับผลรวมค่าไอเกนจากทุกสมการแล้วคูณด้วย 100 ถ้าค่าดังกล่าวสูง แสดงว่าการแปรผันระหว่างกลุ่มมากกว่าการแปรผันภายในกลุ่มประชากร

- ค่าสหสัมพันธ์คาโนนิคอล (canonical correlation) เป็นมาตราวัดอัตราความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนการจำแนกกลุ่ม ทำให้ทราบว่าสมาชิกภายในกลุ่มสามารถอธิบายความแปรผันของตัวแปรที่ปรากฏอยู่ในสมการมากน้อยเพียงใด ค่านี้ได้มาจากอัตราส่วนของผลรวมของการแปรผันระหว่างกลุ่มต่อผลรวมของการแปรผันทั้งหมด ถ้ายกกำลังสองค่าคาโนนิคอลแล้วมีค่าสูง แสดงว่าสามารถใช้สมการนั้นมาทำนายกลุ่มได้ดี

- ค่าวิลค์แลมดา (Wilks' lamda) เป็นอัตราส่วนของค่าผลรวมการแปรผันทั้งหมดยกกำลังสองต่อผลรวมยกกำลังสองของทั้งหมด เป็นค่าที่ใช้ทดสอบค่าเฉลี่ยของกลุ่มที่ได้จากสมการจัดจำแนกนั้นๆ ว่ามีค่าเท่ากันหรือไม่ ค่าวิลค์แลมดา ไม่ได้เป็นค่าทดสอบทางสถิติ แต่จะถูกเปลี่ยนเป็นค่าไคสแควร์ เมื่อประกอบกับค่า Degree of freedom (DF) และค่าความเชื่อมั่นที่ระดับหนึ่งแล้วสามารถบอกค่านัยสำคัญของสมการนั้นได้ ถ้าค่าวิลค์แลมดามีค่าน้อยกว่า 1 แสดงว่าสมการที่ได้มีความแปรผันระหว่างกลุ่มมากกว่าภายในกลุ่ม และถ้าค่าวิลค์แลมดามีค่าเท่ากับ 1 แสดงว่าไม่มีความแปรผันระหว่างกลุ่ม มีแต่ความแปรผันภายในกลุ่ม

- ค่าไคสแควร์ (Chi-square) เป็นการศึกษาความแตกต่างระหว่าง 2 กลุ่มขึ้นไป ซึ่งได้มาจากการวิเคราะห์ One-Way Analysis of Variance ถ้าค่าไคสแควร์มีนัยสำคัญ แสดงว่า ค่าเฉลี่ยของกลุ่มจากสมการนั้นแตกต่างกัน นั่นคือ ถ้า $P < 0.05$ แสดงว่าความแปรผันภายในกลุ่มมีน้อยมาก ความแปรผันส่วนใหญ่เป็นความแปรผันระหว่างกลุ่ม

อย่างไรก็ตาม ในการตัดสินว่าสมการใดสามารถใช้ในการแบ่งกลุ่มได้ดี จะต้องใช้ค่าสถิติดังกล่าวมาพิจารณาประกอบกัน โดยสรุปได้ว่า สมการที่มีค่าไอเกนและค่าสหสัมพันธ์คาโนนิคอลสูง แต่มีค่าวิลค์แลมดาต่ำ และค่าไคสแควร์มีนัยสำคัญ แสดงว่าสามารถใช้ในการทำนายกลุ่มได้ดี และถ้าการทดสอบอำนาจการจัดจำแนกซึ่งทำได้โดย การหาเปอร์เซนต์การทำนายกลุ่มของค่าสังเกตจากสมการ ถ้ามีค่ามาก แสดงว่าสมการนั้นมีอำนาจการจัดจำแนกสูง ในบางกรณีที่สมการมีนัยสำคัญ แต่มีค่าไอเกน ค่าสหสัมพันธ์คาโนนิคอลค่อนข้างต่ำ และค่าวิลค์แลมดาสูง ให้พิจารณาการทำนายกลุ่มจากสมการ ถ้ามีค่าต่ำแสดงว่าสมการที่ได้มีอำนาจในการจัดจำแนกต่ำ และไม่ควรนำสมการที่หาได้มาใช้ในการทำนายกลุ่มค่าสังเกตที่ไม่ทราบกลุ่ม เพราะอาจทำนายผิดกลุ่มได้

นอกจากนี้ยังสามารถทดสอบอำนาจการจัดจำแนกของสมการได้โดยดูจาก การกระจายของค่าสังเกตของแต่ละกลุ่ม ซึ่งคำนวณจากการแทนค่าตัวแปรในสมการด้วยค่าของตัวแปรของค่าสังเกตแต่ละค่า เมื่อได้คะแนนจัดจำแนกแล้ว นำคะแนนจัดจำแนกดังกล่าวมาหาความถี่ของช่วงคะแนนจัดจำแนก แล้วนำมาสร้างเป็นฮิสโตแกรม ถ้าการกระจายของคะแนนจัดจำแนกของแต่ละกลุ่มไม่มีส่วนใดทับเกี่ยวกัน แสดงว่าสมการดังกล่าวใช้ในการจัดจำแนกและทำนายกลุ่มค่าสังเกตได้ดี วิธี

การนี้เหมาะสำหรับกรณีที่มีกลุ่มประชากรตัวอย่างเพียง 2 กลุ่ม และมักพบเสมอว่า กลุ่มหนึ่งจะมีการกระจายของคะแนนจัดจำแนกเป็นบวก แต่อีกกลุ่มเป็นลบ ซึ่งเมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ที่เป็นคะแนนมาตรฐานของตัวแปรในสมการ ถ้าตัวแปรใดมีค่าสูงแสดงว่าลักษณะนั้นมีความแตกต่างกันมาก และเป็นลักษณะที่สำคัญต่อการจัดจำแนก สำหรับกรณีที่มีกลุ่มมากกว่า 2 กลุ่ม มักจะหาสมการจัดจำแนกจากสมการที่ 1 และ 2 (ในกรณีที่มี 3 กลุ่ม) หรือสมการที่ 1 สมการที่2 และสมการที่ 3 (ในกรณีที่มีมากกว่า 3 กลุ่ม) แล้วนำค่าคะแนนมาลงจุดบนแกนสมการดังกล่าว จากนั้นพิจารณาว่าคะแนนการจัดจำแนกของแต่ละกลุ่มมีการกระจายอย่างไร แกนที่ 1 แยกสมการใดออกจากกันบ้าง เช่นเดียวกับแกนสมการที่ 2 หรือสมการที่ 3 ถ้าไม่มีคะแนนจัดจำแนกของกลุ่มใดแยกออกจากกันอย่างเด่นชัด แสดงว่าสมการจัดจำแนกที่หาได้มีอำนาจในการจัดจำแนกต่ำ แต่ถ้าพบว่าคะแนนจัดจำแนกแต่ละกลุ่มมีการกระจายแยกกันอย่างเด่นชัด หรือมีส่วนคาบเกี่ยวกันบ้าง ให้ดูว่าแต่ละกลุ่มแยกกันบนแกนสมการใด และตัวแปรใดที่มีผลต่อการแยกกลุ่ม ซึ่งมักพบเสมอว่าจะมีตัวแปรเพียงไม่กี่ตัวที่มีความสำคัญต่อการจัดจำแนกในแต่ละสมการ

กล่าวโดยสรุป การวิเคราะห์จัดจำแนกเป็นเทคนิคที่ใช้หาว่าแต่ละกลุ่มมีการแยกกันอย่างไร ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้อาจจะถูกนำไปใช้ในการทำนายกลุ่มของค่าสังเกตที่ไม่ทราบกลุ่มได้อย่างถูกต้อง ทั้งนี้ความถูกต้องของการทำนายกลุ่มขึ้นอยู่กับความเชื่อถือได้ของสมการจัดจำแนกที่ได้มา

<u>การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม (CLUSTER ANALYSIS)</u>

การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางสถิติที่ใช้ในการจัดค่าสังเกตที่มีลักษณะสัมพันธ์กัน หรือมีคุณลักษณะที่คล้ายกันเข้ารวมกลุ่มเดียวกัน โดยพิจารณาค่าของตัวแปรในค่าสังเกตทีละคู่ ถ้าผลรวมของผลต่างกำลังสองของตัวแปรเดียวกันระหว่างค่าสังเกตทั้งสองมีค่าน้อยกว่าค่าสังเกตคู่อื่นๆ จะรวมค่าสังเกตทั้งสองข้างต้นเป็นกลุ่มเดียวกัน แล้วพิจารณาค่าสังเกตคู่ต่อไป

Norusis (1985) กล่าวว่า การวิเคราะห์การจัดกลุ่มและการวิเคราะห์การจัดจำแนกมีความคล้ายกัน เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์เพื่อจัดกลุ่มของค่าสังเกต ให้อยู่ในกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง แต่การวิเคราะห์ทั้งสองมีแนวความคิดที่แตกต่างกัน คือ การวิเคราะห์จัดจำแนกจะสร้างสมการจัดจำแนกจากค่าสังเกตที่ทราบกลุ่มแน่นอน จากนั้นจึงนำสมการที่ได้ไปทำนายกลุ่มของค่าสังเกตว่ามีความถูกต้องเพียงใด แต่การวิเคราะห์จัดกลุ่ม จะไม่คำนึงถึงกลุ่มของค่าสังเกต คือไม่ต้องจัดกลุ่มของค่าสังเกตก่อนการวิเคราะห์ แต่จะวิเคราะห์เพื่อรวมกลุ่มของค่าสังเกตเป็นกลุ่มๆ โดยเปรียบเทียบค่าตัวแปรของค่าสังเกต ผลลัพธ์ที่ได้คือ การแบ่งค่าสังเกตออกเป็นกลุ่มๆ ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้ไม่สามารถนำไปใช้ทำนายกลุ่มของค่าสังเกตชุดใหม่นี้ได้

ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า การวิเคราะห์การจัดจำแนกเป็นการวิเคราะห์เพื่อใช้ในการทำนายกลุ่มของค่าสังเกต ส่วนการวิเคราะห์การจัดกลุ่มเป็นการวิเคราะห์ที่มุ่งตรวจสอบว่าค่าสังเกตเป็นสมาชิกของกลุ่มเดียวกันหรือไม่

เทคนิคการวิเคราะห์การจัดกลุ่ม มีวัตถุประสงค์ 2 ประการ คือ

1. เพื่อวิเคราะห์จัดกลุ่มค่าสังเกต โดยพิจารณาจากอัตราความคล้ายกันหรือความห่างกัน (ค่าสังเกตใดที่มีความคล้ายกันมากหรือมีความห่างกันน้อย จะถูกนำมารวมเป็นกลุ่มเดียวกัน)

2. เพื่อวิเคราะห์จัดกลุ่มตัวแปร (ตัวแปรใดที่มีความคล้ายกันหรือมีความสัมพันธ์กันสูงและในทางบวก จะถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน)

ข้อมูลที่เหมาะสมในการนำมาวิเคราะห์การจัดกลุ่ม ต้องมีระดับการวัดเป็นระดับช่วงขึ้นไป หรือมีค่าเป็น 0 หรือ 1 และหากเป็นตัวแปรกลุ่ม (เช่น อาชีพ เพศ) ก็ต้องแปลงให้เป็นตัวแปรหุ่น (การกำหนดรหัส) เช่นเดียวกับข้อมูลในการวิเคราะห์ปัจจัย

หลักการสำคัญของการวิเคราะห์การจัดกลุ่ม คือ การวัดความคล้ายกันของค่าสังเกต โดยดูจากความห่างกันของค่าสังเกตหรือดูจากความคล้ายกัน (similarity) สิ่งที่คล้ายกันจะมีความห่างน้อย

การหาระยะห่างระหว่างค่าสังเกตทุกคู่ หาได้จากผลรวมของ $(X_{pi}-X_{pj})^2$ เมื่อ p = ตัวแปรที่ 1...p, i และ j = ค่าตัวแปรที่ i และ j โดยที่ i ไม่เท่ากับ j จากนั้นเปรียบเทียบว่าระยะห่างของคู่ค่าสังเกตใดมีค่าน้อยที่สุด ให้รวมค่าสังเกตคู่นั้นเป็นกลุ่มเดียวกัน ในขั้นนี้ค่าสังเกตจะเหลือ n-1 ค่า จากนั้นหาค่าระยะห่างระหว่างค่าสังเกตใหม่ แล้วทำการเปรียบเทียบระยะห่างเหมือนข้างต้น ดังนั้นค่าสังเกตจะลดลงครั้งละ 1 ค่า จนกระทั่งไม่สามารถรวมกลุ่มค่าสังเกตที่มีความคล้ายกันได้ต่อไป

ผลลัพธ์ที่ได้มักนำเสนอในรูปเดนโดรแกรม (dendrogram) ซึ่งเป็นแผนภาพแสดงการรวมกลุ่มของค่าสังเกตแต่ละค่าเข้าเป็นกลุ่ม ๆ โดยมีค่าระยะห่างไว้เปรียบเทียบว่า ค่าสังเกตแต่ละค่ามีความเหมือนกันอย่างไร ถ้ามีค่าระยะห่างน้อยแสดงว่าเหมือนกันมาก จากเดนโดรแกรมที่ได้ เมื่อกำหนดเส้นที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งบนค่าระยะห่าง อาจพบว่ามีการแบ่งกลุ่มค่าสังเกตค่อนข้างเด่นชัด เรียกเส้นที่กำหนดขึ้นมานี้ว่า เส้นฟีนอน (phenon line) และเดนโดรแกรมหนึ่ง ๆ อาจมีเส้นฟีนอนได้หลาย ๆ เส้น โดยที่แต่ละเส้นจะอยู่ในตำแหน่งที่มีค่าระยะห่างน้อยกว่าเส้นแรก ๆ อย่างไรก็ตาม จำนวนเส้นฟีนอนในเดนโดรแกรม จะมีกี่เส้นนั้นขึ้นอยู่กับว่าในเดนโดรแกรมนั้นควรมีกลุ่มของค่าสังเกตกี่กลุ่ม ซึ่งผู้ศึกษาจะเป็นผู้ตัดสินเอง นอกจากนี้อาจนำเสนอผลลัพธ์ใน รูปอิซิเคิล (icicle) อย่างไรก็ตามมักเสนอผลการวิเคราะห์ในแบบแรกเพราะดูเข้าใจง่ายกว่า

เทคนิคการศึกษา numerical taxonomy วิธีการต่างๆ ที่กล่าวมาทั้งหมดนำมาใช้ประกอบกันในการวิเคราะห์ความแปรผันและใช้ตัดสินความไม่ชัดเจนของพืชกลุ่มต่าง ๆ ในรายละเอียด ดังนี้

ปรีชา ประเทพา (2533) ทำการศึกษานิเวศน์พันธุศาสตร์ของพืชตระกูลถั่วแปบช้าง (*Afgekia* Craib) ในประเทศไทย โดยทำการศึกษากับพืชในสกุลนี้ที่มีเพียง 2 ชนิด คือ ถั่วแปบช้าง (*Afgekia sericea* Craib) และ กันภัย (*Afgekia mahidolae* Burtt & Chermsirivathana) ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ด้านวิวัฒนาการของพืชทั้งสองชนิด โดยการศึกษาวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยา เซลล์พันธุศาสตร์ รวมถึงลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการ จากผลการศึกษาการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยารวม 20 ลักษณะ โดยใช้วิธีการจัดจำแนก พบว่ามี 16 ลักษณะที่สามารถใช้ในการจัดจำแนกพืชทั้งสองชนิดได้ ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของละอองเรณูมีความคล้ายคลึงกันมาก ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและด้านพันธุศาสตร์เป็นหลักฐานแสดงให้เห็นว่า พืชทั้งสองชนิดที่อยู่ในสกุลถั่วแปบช้าง มีสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้เคียงกัน และข้อมูลจากการศึกษาทางนิเวศสรีรวิทยา ชี้ให้เห็นว่าถั่วแปบช้างและกันภัยได้ผ่านการปรับตัวให้เหมาะสมต่อสภาพแวดล้อมของแต่ละถิ่นอาศัยมาแล้วในอดีต

ต่อศักดิ์ สีลานันท์ (2535) ทำการศึกษาไบโอซิสเทมาติกส์ของโคลงเคลงขน (*Melastoma villosum* Lodd.) ในประเทศไทย ด้วยวิธีการทาง Numerical Taxonomy และ Isozyme Electrophoresis จำนวนประชากรที่ใช้ในการศึกษามีทั้งหมด 6 ประชากร ซึ่งกระจายพันธุ์อยู่ในภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย การศึกษาด้วยวิธีการวิเคราะห์ทาง Numerical Taxonomy ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์พหุคูณ 3 เทคนิค คือ การวิเคราะห์ปัจจัย การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม และการวิเคราะห์การจัดจำแนก โดยใช้ลักษณะของต้น ใบ ดอก ขนาดละอองเรณู ขนาดของเมล็ด ในการวิเคราะห์พบว่าการแปรผันภายในและระหว่างประชากรของโคลงเคลงขนทั้ง 6 ประชากร ยังไม่มากพอที่จะทำให้สามารถแยกโคลงเคลงขนแต่ละประชากรออกเป็นระดับที่ต่ำกว่าชนิด หรือเป็นชนิดใหม่ได้ ส่วนการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์ระบบเปอร์ออกซิเดสและเอสเทอเรสของโคลงเคลงขนทั้ง 6 ประชากร พบว่า มีการแปรผันทางพันธุกรรมของต้นพืชภายในประชากรเดียวกันมาก ปัจจัยที่ทำให้เกิดการแปรผันทางพันธุกรรมภายในประชากรสูง น่าจะเป็นผลมาจากการผสมข้ามประชากร โดยมีแมลงเป็นตัวช่วย ซึ่งจะทำให้การแปรผันระหว่างประชากรน้อยลง

Small, Crompton & Brookes (1981) ได้ศึกษาอนุกรมวิธานของพืชวงศ์ถั่ว tribe Trigonelleae ประกอบด้วยพืชกลุ่มย่อย *Medicago*, *Melilotus*, *Trigonella* และ *Factorovskya* การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาอย่างละเอียดได้แบ่ง *Trigonella* ออกเป็น 2 section ได้แก่ *Trigonella* sect. *Trigonella* กับ *Trigonella* sect. *Bucerates* และจากการศึกษา Numerical Taxonomy โดยวิธี

การวิเคราะห์แบบ Cluster Analysis ของลักษณะสัณฐานวิทยา สามารถอธิบายได้ว่า *Medicago*, *Melilotus* และ *Trigonella* มีความสัมพันธ์กันในธรรมชาติ แต่ไม่สามารถแบ่งกลุ่มแยกออกมาได้อย่างชัดเจน ผลการวิเคราะห์พืชดังกล่าวทั้ง 3 กลุ่ม ด้วยวิธีการวิเคราะห์แบบ Discriminant Analysis เพื่อทดสอบความแปรผันในกลุ่มประชากรดังกล่าว ได้ผลการวิเคราะห์บ่งชี้ให้ทราบว่าควรจะจัดพืชทั้งสามกลุ่มอยู่ในสกุลเดียวกัน แต่การศึกษาลักษณะที่แตกต่างกันของลักษณะสัณฐานวิทยาทำให้มีการจัดกลุ่มพืช tribe Trigonelleae ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ *Medicago*, *Factorovskya* และ *Trigonella* sect. *Bucerates*

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ *Melilotus* และ *Trigonella* sect. *Trigonella*

ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการแบ่งกลุ่มดังกล่าวคือ ลักษณะของก้านชูเกสรตัวผู้ ลักษณะกลีบดอกส่วนที่เป็น wing กับ keel, ลักษณะของ standard petal ที่มีลักษณะคล้ายกลุ่มลายเส้นปรากฏมากกว่า 3 กลุ่ม ลักษณะการเชื่อมกันของ staminal lobe ลักษณะความแปรผันดังกล่าวสามารถบ่งบอกวิวัฒนาการของพืช ซึ่งอาจเกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ ดังที่เกิดในกลุ่ม *Medicago* ได้ด้วย

Baum (1983) ทำการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาของ Hordeum จำนวน 5 ชนิด ในกลุ่มของ *Hordeum vulgare* ด้วยเทคนิคทางคอมพิวเตอร์ โดยวิธี Discriminant Analysis สรุปได้ว่า จากข้อมูลการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาทำให้สามารถจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธานของพืชดังกล่าวออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

กลุ่มแรก ได้แก่ *H. spontaneum*, *H. districhum* และ *H. vulgare*

กลุ่มที่สอง ได้แก่ *H. agriocrithon* ซึ่งเป็นชนิดที่เกิดจากการ hybridization

กลุ่มที่สาม ได้แก่ *H. lagunculiforme* ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความไม่ชัดเจนในการตัดสิน จากการศึกษาเพิ่มเติม มีหลักฐานยืนยันว่าพืชชนิดนี้น่าจะเป็นบรรพบุรุษของกลุ่มดังกล่าว

Baum & Bailey (1983) ทำการตรวจสอบความแปรผันของ *Hordeum vulgare* (Sensu lato) โดยการศึกษาลักษณะและวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยา ควบคู่ไปกับ *H. spontaneum* C. Koch. เพื่อศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการที่จะจัดรวมพืชทั้งสองชนิดให้เป็นชนิดเดียวกัน ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี Discriminant Analysis สรุปได้ว่า ถึงแม้ *H. spontaneum* จะมีลักษณะสัณฐานวิทยาที่มีความแปรผันสูง แต่ยังไม่มากพอที่จะจัดรวมให้เป็นชนิดเดียวหรือเป็นระดับที่ต่ำกว่า *H. vulgare* ได้

Baum & Bailey (1984) ทำการศึกษาเพื่อกำหนดชนิดให้กับพืชสกุล *Hordeum* กลุ่ม old world ใน section *Horduastrum* ซึ่งเป็นข้อถกเถียงกันมาก ได้ทำการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาด้วยวิธีการทาง Discriminant Analysis 3 วิธี คือ Linear Discriminant Analysis, Canonical Analysis of Discriminant และ Nearest Neighbor Discriminanat Analysis ผลการวิเคราะห์ทำให้แบ่งพืชออก

เป็น 5 ชนิด ได้แก่ *H. marinum sensu stricto*, *H. geniculatum* All., *H. glaucum* Steudel, *H. murinum sensu stricto* และ *H. leporinum* Link. ในการจัดจำแนกได้จัดทำรูปอนุกรมวิธาน พร้อมคำอธิบายลักษณะของแต่ละชนิด

Ringius & Chmielewski (1987) ทำการศึกษาความแปรผันภายใน และระหว่างกลุ่มประชากรของ *Trillium erectum* ที่เจริญอยู่ตามธรรมชาติใน Ontario จำนวน 6 ประชากร โดยศึกษาลักษณะความสมมาตรของดอก ความยาวของกลีบเลี้ยงและกลีบดอก การแผ่กว้างของยอดที่เจริญขึ้นมาจากพื้นดิน พบว่าลักษณะความแปรผันของ vegetative character ขึ้นอยู่กับขนาดของพืช ทำให้ผลการวิเคราะห์ที่ได้แสดงผลมีความสัมพันธ์กันระหว่างกลุ่มประชากร ที่สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจน และทำให้การจัดกลุ่มของประชากรมีความชัดเจนระหว่างกลุ่ม นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อความแปรผันระหว่างกลุ่มปัจจัยนั้น คือ ลักษณะความสัมพันธ์ต่อพื้นที่ที่เจริญเติบโต พบว่า ประชากรที่เจริญอยู่บน Paleozoic limestone มีขนาดเล็กกว่าประชากรที่เจริญอยู่บน Precambrian rocks แต่ความสัมพันธ์ดังกล่าวยังไม่ปรากฏเด่นชัดมากพอที่จะใช้เป็นเกณฑ์ทางอนุกรมวิธานได้

Heard & Sample (1988) ทำการศึกษาลักษณะ species complex ของ *Solidago rigida* โดยวิธี Multivariate Morphometric Analysis และการนับจำนวนโครโมโซม จากการศึกษาแบ่งตัวอย่างแห้งที่มีอยู่ออกเป็น 3 กลุ่ม ตามแหล่งที่เจริญของตัวอย่างแห้ง อาศัยลักษณะสัณฐานวิทยามาใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติ โดยลักษณะสัณฐานวิทยาที่สำคัญ ได้แก่ pubescence, phyllary, disc corolla lobe เป็นต้น จากการวิเคราะห์ทำให้เกิดการจัดกลุ่มในระดับที่ต่ำกว่าชนิด 3 กลุ่ม คือ *Solidago rigida* ssp. *rigida*, *S. rigida* ssp. *grabata* และ *S. rigida* ssp. *humillis* ซึ่งเมื่อทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมของแต่ละชนิด *Solidago rigida* ssp. *rigida* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 36 (tetraploid) ส่วน *Solidago rigida* ssp. *grabata* และ *Solidago rigida* ssp. *humillis* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 18 (diploid) จากผลการศึกษาดังกล่าวทำให้มีการจัดกลุ่มพืชดังกล่าวเป็น *Solidago rigida* ssp. *glabata* และ *S. rigida* ssp. *humillis*

Palmer & Parker (1991) ทำการศึกษาอนุกรมวิธานของ subalpine fir (*Abies larsiocarpa* (Hook.) Nutt.) กับ balsam fir (*Abies balsamea* (L.) Mill.) ซึ่งเก็บตัวอย่างมาจาก Washington to Yukon Territory และ east to northern Ontario. จากการสังเกตลักษณะในธรรมชาติพบว่าพืชทั้งสองชนิดมีความสัมพันธ์กันโดยดูจากลักษณะของ cone และ needle morphology ความแปรผันของ subalpine fir ที่พบในภาคเหนือ เป็นความแปรผันเริ่มต้นภายในกลุ่ม และมีแนวโน้มมากยิ่งขึ้นเมื่อได้รับแรงกดดันจากสภาวะแวดล้อมในธรรมชาติ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของประชากรทำ

ให้มีการแบ่งพืชตามลักษณะภูมิประเทศ ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มประชากร coastal and subalpine fir และประชากร northern and interior subalpine fir ผลการศึกษาเรณูวิทยา ได้ผลสรุปว่ามีความเหมือนกันของประชากร northern and southern Interior populations เช่นเดียวกับ ประชากรที่อยู่ใน Rocky mountain จะเหมือนกับประชากรที่อยู่ใน northern and interior populations เหตุผลเหล่านี้ทำให้ง่ายต่อการศึกษาความแปรผันของ subalpine fir ซึ่งเป็นประชากรที่เก็บมาจาก eastern Coast และ Cascade mountain of Washington และ British Columbia และกลุ่มประชากรที่อยู่ทางตะวันออกของ The Rocky Mountain erest. ทำให้มีการตั้งชื่อประชากรเหล่านี้ใหม่ว่า *Abies lasiocapa* (Hook.) Nutt. var. *bifolia* (Murray) Palmer & Parker ประชากร Balsam fir มีข้อแตกต่างจาก interior subalpine fir ในลักษณะของ needle morphology และมีลักษณะที่แตกต่างจาก Coastal populations ในลักษณะของ cone morphology ผลการศึกษาดังกล่าวสนับสนุนการจัดจำแนกชนิดของ fir กลุ่มต่าง ๆ

<u>การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา (MORPHOLOGY STUDY)</u>

Jones and Luchinger (1987) ได้อธิบายความสำคัญของลักษณะสัณฐานวิทยาต่อการศึกษาอนุกรมวิธานว่า เป็นลักษณะเบื้องต้นที่สำคัญที่สุดในการจัดอนุกรมวิธานของพืช เนื่องจากเป็นลักษณะที่สังเกตง่าย และเป็นลักษณะที่เหมาะสมในการอำนวยความสะดวกในการทำรูปวิธานต่าง ๆ

ลักษณะสัณฐานวิทยาที่นำมาใช้ในการศึกษาอนุกรมวิธาน เป็นลักษณะที่เป็น vegetative character และ reproductive character ซึ่งลักษณะต่างๆ เหล่านี้ จะมีการวิวัฒนาการและความแปรผันที่แตกต่างกันไป ในบางลักษณะเป็นผลมาจากความแปรผันทางพันธุกรรม ซึ่งเป็นลักษณะที่ส่งผลให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันไปด้วย ดังนั้นคุณสมบัติที่จำเป็นในการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา คือ ต้องเป็นผู้สังเกตอย่างถี่ถ้วนในธรรมชาติ

จากการศึกษารูปวิธานที่ใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มของเฟิร์น พบว่าลักษณะสัณฐานวิทยาที่มีความสำคัญในการศึกษาอนุกรมวิธาน มีหลายลักษณะ (Boonkerd, 1996) ดังนี้

1. ลักษณะราก (root) ซึ่งส่วนมากเป็นรากแบบ adventitious root และอาจมีบางชนิดไม่มีรากที่ชัดเจน ในกลุ่มของ filmy fern

2. ลักษณะลำต้น (rhizome)ซึ่งมีหลายลักษณะ เช่น ลำต้นทอดเลื้อยยาว (long-creeping rhizome), ลำต้นทอดเลื้อยสั้น (short-creeping rhizome), ลำต้นเลื้อย (climbing), ลำต้นสูง (trunk), ลำต้นตั้ง (erect), ลำต้นเป็นกระจุก (compact) เป็นต้น

3. ลักษณะของขน (hair) ในเฟิร์นจำนวนมากจะพบขนขึ้นปกคลุมแผ่นใบ ลำต้น หรือส่วนอื่นๆ มากน้อยแตกต่างกันไป ลักษณะของขนที่นำมาใช้ในการจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธาน ได้แก่ unicellular hair, multicellular hair, caduous or permanent hair, stellate hair เป็นต้น นอกจากนี้จะต้องศึกษาลักษณะความยาว ความอ่อนนุ่มของขน ควบคู่กันไปด้วย

4. ลักษณะของสเกล (scale) เป็นลักษณะที่มีความแปรผันในรูปทรง ขนาด สี และลักษณะขอบของสเกลซึ่งอาจเรียบ หรือมีขนยื่นยาวออกมา ตลอดจนตำแหน่งของสเกลบนโครงสร้างต่างๆ เช่น ลำต้น ก้านใบ หรือแผ่นใบ เป็นต้น นอกจากนี้ยังต้องศึกษาลักษณะของสเกลว่า ประกอบด้วยเซลล์เรียงตัวเป็นแบบ clathrate หรือ peltate อีกลักษณะที่มีความสำคัญและต้องสังเกตคือ ลักษณะการเรียงตัวของสเกลบนโครงสร้างต่าง ๆ โดยเฉพาะลำต้นว่าสเกลมีการเรียงตัวแบบแผ่กาง (patent) หรือทาบติด (appressed)

5. ลักษณะของใบ (frond) ใบเฟิร์นแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ใบที่สร้างอับสปอร์ (fertile frond)และใบที่ไม่สร้างอับสปอร์ โดยใบทั้งสองชนิดอาจมีลักษณะเหมือนกัน (monomorphic) หรือแตกต่างกัน (dimorphic) ขึ้นอยู่กับชนิดของเฟิร์น ใบประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ก้านใบกับแผ่นใบ ก้านใบอาจมีขนหรือสเกลปกคลุม มีความยาวและขนาดแตกต่างกันไป ลักษณะแผ่นใบซึ่งมีทั้งใบเดี่ยวและใบประกอบ มีรูปทรง ขนาด สี ขอบใบ ปลายใบ และโคนใบที่แตกต่างกัน แผ่นใบของเฟิร์นบางชนิดอาจมีขนหรือมีสเกลปกคลุม และมีเส้นใบได้หลายรูปแบบ เช่น เป็นเส้นเดี่ยว (simple), แยกสาขาเป็นคู่ (fork) หรือสานเป็นร่างแห (reticulate) ตลอดจนศึกษาลักษณะของ areole ว่ามีเส้นใบย่อยอยู่ภายในหรือไม่ เป็นต้น

6. ลักษณะกลุ่มอับสปอร์ (sorus) ในเฟิร์นบางชนิดกลุ่มอับสปอร์อาจถูกปกคลุมด้วย (indusium) หรือเฟิร์นบางชนิดอาจถูกปกคลุมด้วย สเกลหรือขนแทนก็ได้ เนื้อเยื่อปกคลุมมีรูปร่างหลายแบบ เช่น กลม (round), รูปไต (reniform), รูปโล่ (peltate) หรืออาจมีรูปร่างเหมือนกับกลุ่มอับสปอร์ที่ปกคลุม ลักษณะกลุ่มอับสปอร์และตำแหน่งของกลุ่มอับสปอร์เป็นลักษณะสำคัญที่ใช้ในการศึกษาอนุกรมวิธานของเฟิร์น กลุ่มอับสปอร์มีหลายลักษณะ เช่น กลม, เป็นเส้น, รูปถ้วย, หรือรูปไต เป็นต้น ตำแหน่งของกลุ่มอับสปอร์อาจจะอยู่ที่ปลายสุดของเส้นใบ อยู่ทับเส้นใบ หรืออยู่ในตำแหน่งรอยต่อของเส้นใบ หรือขนานกับเส้นใบ ในบางชนิดกลุ่มอับสปอร์จะฝังอยู่ที่ปลายแผ่นใบ บางชนิดกลุ่มอับสปอร์อาจจะขนาน หรือเรียงตัวยาวไปตามขอบใบ บางชนิดอาจขนานหรือเรียงตัวยาวไปตามเส้นกลางใบ ในบางชนิดกลุ่มอับสปอร์อาจปกคลุมแผ่นใบด้านหลัง (acrosticoid) เป็นบริเวณกว้าง ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะเป็นลักษณะเฉพาะของเฟิร์นบางกลุ่มเท่านั้น นอกจากนี้ในบางกรณีที่ต้องการรายละเอียดที่สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น อาจมีการศึกษาลักษณะของอับสปอร์และลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์ควบคู่กันไปด้วย

จะเห็นได้ว่าลักษณะสัณฐานวิทยาทั้งหมดที่กล่าวมา เป็นลักษณะของเฟิร์นที่สามารถสังเกตได้ง่ายในธรรมชาติ หรืออาจทำการศึกษาเปรียบเทียบโดยใช้เครื่องมือและวิธีการแบบง่าย ๆ ก็ได้ผลชัดเจน ลักษณะดังกล่าวถือว่าเป็นลักษณะที่เหมาะสมในการนำมาใช้ทำรูปวิธานที่ดี

การศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ (ANATOMY STUDY)

การศึกษากายวิภาคของพืช หมายถึง การศึกษาเกี่ยวกับลักษณะโครงสร้างภายในของพืช ซึ่งจัดได้ว่าเป็นวิชาพื้นฐานที่นำมาใช้ในการเปรียบเทียบจัดกลุ่มอนุกรมวิธานของพืช

Jones & Luchsinger (1987) ได้ยกตัวอย่างลักษณะทางกายวิภาคที่นำมาใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มพืชชั้นสูง ได้แก่ tracheids, secondary xylem, vessel elements , nodal anatomy (Dickson, 1975), vascularization (Eyde, 1975), seive-element plastids (Behnke, 1977), Leaf anatomy (Brown, 1975) และได้อธิบายเกี่ยวกับความแปรผันของลักษณะ epidermal hairs หรือ trichomes อาจใช้ในการจัดกลุ่มระดับ วงศ์ สกุล และชนิดได้ เช่น การจัดจำแนกชนิดของพืชในสกุล *Vernonia* (Faust and Jones,1973) ได้ศึกษารายละเอียดโครงสร้างของ trichomes เกี่ยวกับขนาด รูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์ของขน เป็นต้น ดังนั้นการกระจายของ trichomes ในแต่ละ taxa จึงเป็นลักษณะที่สำคัญในการจัดรูปวิธาน นอกจากลักษณะดังกล่าวแล้ว ลักษณะการจัดเรียงตัวของ guard cells กับ subsidiary cells ยังสามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานได้

Cutler (1965) ทำการศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของพืชสกุล *Thurnia* Hook..f. ที่ขึ้นกระจายพันธุ์อยู่ในทวีปอเมริกาใต้ ซึ่งมีความยุ่งยากเป็นอย่างยิ่งในการจัดจำแนกพืชชนิดนี้ให้อยู่ในวงศ์ Juncaceae หรือ Rapateaceae หรือ วงศ์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียงกัน ด้วยเหตุผลดังกล่าวเขาได้พยายามหาลักษณะทางกายวิภาค เพื่อนำมาเป็นลักษณะเฉพาะของพืช เช่น ลักษณะกลุ่มท่อลำเลียงของใบ ซึ่งเป็นลักษณะเด่นที่ทำให้สามารถจัดพืชสกุล *Thurnia* ให้อยู่ในวงศ์ Thurniaceae ซึ่งเป็นลักษณะที่แตกต่างจากวงศ์ Juncaceae และ Rapateaceae อย่างชัดเจน

Forman (1966) ทำการศึกษาพืชชนิดหนึ่งที่พบเฉพาะในแถบแอฟริกาตะวันตก พืชดังกล่าวมีลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายกับพืชในสกุล *Galearia* Zoll. & Mor. และ *Microdesmis* Hook.. f. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae แต่จากการศึกษาลักษณะกายวิภาค และลักษณะละอองเรณูของพืชดังกล่าว โดยเฉพาะลักษณะกายวิภาคของใบ และลำต้น พบว่ามีลักษณะแตกต่างจากพืชในวงศ์ Euphorbiaceae ทำให้มีการจัดจำแนกพืชดังกล่าวให้อยู่ในวงศ์ใหม่ ชื่อวงศ์ Panadaceae

Devol & Lin (1978) ศึกษาลักษณะกายวิภาคของเฟิร์นเพื่อใช้ในการทำรูปวิธานของเฟิร์นในไต้หวัน ลักษณะที่สนใจและนำมาใช้ในการศึกษา คือ ก้านใบ ใช้ในการทำรูปวิธาน โดยใช้ลักษณะต่าง ๆ เช่น

- the number and shape of vascular bundles
- distribution of the sclerenchyma
- the configuration of xylem strands in the stipe
- the presence and absence of grooves
- aeration structures
- hairs or scales

จากการศึกษาพบว่าลักษณะดังกล่าวนำมาใช้ในการจัดรูปวิธานของพืชกลุ่มเฟิร์นที่พบในไต้หวัน ได้เป็นอย่างดี

Mickel (1979) ศึกษาปัญหาที่พบในการจัดรูปวิธานของเฟิร์นในสกุล *Cheilanthes* ซึ่งเป็นเฟิร์นที่มีชนิดเชิงซ้อนภายในสกุลเป็นจำนวนมาก และยังมีความไม่ชัดเจนในการหาขอบเขตเพื่อใช้ในการจัดจำแนกสกุล ดังนั้นจึงมีการศึกษาเฟิร์นที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน 3 สกุล คือ *Cheilanthes Notholaena* และ *Pellaea* โดยศึกษาจากตัวอย่างที่ขึ้นอยู่ในอเมริกาเหนือ รวมทั้งตัวอย่างพรรณไม้และตัวอย่างที่มีชื่อพ้องกัน จากการศึกษาพบว่า *Cheilanthes* และ *Notholaena* มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันหลายลักษณะ ได้แก่ลักษณะขอบใบ ก้านใบ ลักษณะกายวิภาคของแผ่นใบ ลักษณะขน ลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์ และ จำนวนโครโมโซม ซึ่งลักษณะเหล่านี้มักมีความแปรผันภายในและระหว่างกลุ่มประชากร ดังนั้นจึงเห็นสมควรให้จัดรวมสกุล *Cheilanthes* และสกุล *Notholaena* ไว้ด้วยกัน โดยจัดเฟิร์นดังกล่าวเป็นสกุล *Cheilanthes*

Kato (1985) ได้ทำการศึกษาทบทวนการจัดรูปวิธานของเฟิร์นในวงศ์ Davalliaceae ในระดับสกุล โดยอาศัยการเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยา และกายวิภาคของลำต้น, dermal appendages, leaf architecture, ลักษณะเส้นใบและความสัมพันธ์กับตำแหน่งของการเกิดกลุ่มอับสปอร์ และลักษณะของ indusium ได้ผลการศึกษานำมาจัดทำรูปวิธานที่ใช้ในการจำแนกสกุลของเฟิร์นวงศ์ Davalliaceae ดังนี้ 1. *Araiostegia*, 2. *Davallia*, 3. *Davallodes*, 4. *Gymnogramitis*, 5. *Leucostegia*, 6. *Pachypleuria*, 7. *Parasorus*, 8. *Scyphularia* และ 9. *Trogostolon* โดยจัดสกุล *Davallia* ประกอบด้วย 3 sect. คือ sect. *Cordisquama*, sect. *Davallia* และ sect. *Wibelia* และได้จัดเฟิร์นในสกุล *Humata* Cav. มารวมอยู่ในสกุล *Davallia* sect. *Wibelia* ส่วนเฟิร์นชนิดที่มีลักษณะคล้ายสกุล *Humata* ให้จัดอยู่ในสกุล *Pachypleuria* ส่วนสกุลที่มีความ primitive และมี

ลักษณะแยกเด่นชัดมากที่สุด คือ *Leucostegia* การศึกษาสกุล *Araiostegia* พบว่ามีความแตกต่างจากสกุล *Gymnogramitis* ในรายละเอียดของโครงสร้างของกลุ่มท่อลำเลียง และกลุ่มอับสปอร์ นอกจากนี้ยังพบว่าเฟิร์นสกุล *Araiostegia* มีลักษณะคล้ายกับเฟิร์น *Davallia* sect. *Cordisquama* ในขณะที่สกุล *Seyphularia* จะมีลักษณะคล้ายกับ *Davallia* sect. *Davallia* และ สกุล *Trogostolon* จะมีลักษณะคล้ายกับ *Davallia* sect. *Wibelia* จากการศึกษาพบว่าลักษณะที่มีความสำคัญมากลักษณะหนึ่ง ในการจัดจำแนกอนุกรมวิธานของเฟิร์นวงศ์นี้ คือ ลักษณะ dermal appendages

Bidin & Walter (1985) ทำการศึกษาและจัดจำแนกชนิดของเฟิร์นในสกุล *Adiantum* โดยอาศัยลักษณะของ xylem strands ที่มีการศึกษาตั้งแต่พืชมีอายุน้อยๆ ซึ่งเป็นการเจริญของท่อลำเลียงเป็นแบบท่อเดี่ยว จนมีความซับซ้อนมากยิ่งขึ้นเป็นลักษณะ intricate form สามารถจัดจำแนกลักษณะของ xylem stranda ออกได้เป็น 8 รูปแบบ ซึ่งเป็นลักษณะที่นำมาใช้ในการจัดจำแนกอนุกรมวิธานของเฟิร์นสกุล *Adiantum* ได้

Hovenkamp (1986) ทำการศึกษาเฟิร์นในสกุล *Pyrrosia* โดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาควบคู่กับการศึกษาลักษณะกายวิภาคของลำต้น และใบ ของเฟิร์นในสกุลดังกล่าว ทำให้สามารถจัดจำแนกเฟิร์นในสกุล *Pyrrosia* ได้เป็น 51 ชนิด พร้อมทั้งได้จัดทำรูปวิธาน และคำอธิบายประกอบลักษณะของเฟิร์นแต่ละชนิดด้วย

Khare & Shanker (1991) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและลักษณะกายวิภาคของก้านใบของเฟิร์นที่อยู่ในวงศ์ Pteridaceae จำนวน 8 ชนิด โดยได้ผลการศึกษาดังนี้ *Actinopteris radiata*, *Coniogramma fraxinea*, *Gymnopteris vestita*, *Lindsaea ensifolia*, *Microlepia speluncea* และ *Sphenomeris chinensis* มีลักษณะกลุ่มท่อลำเลียงเป็นกลุ่มท่อลำเลียงเดียว ที่เชื่อมต่อมาจากกลุ่มท่อลำเลียงของลำต้น และเป็นลักษณะที่ไม่เปลี่ยนแปลง ในขณะที่ *Lindsaea cultrata* และ *Onychium contiguum* จะพบลักษณะกลุ่มท่อลำเลียงมี 2 กลุ่มเชื่อมต่อมาจากกลุ่มท่อลำเลียงของลำต้น และจะเชื่อมเป็นกลุ่มท่อลำเลียงเดียวกันในตำแหน่งตรงกลางความยาวของก้านใบ โดยจะเป็นกลุ่มท่อลำเลียงเดียวไปจนถึงแผ่นใบ รายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะโครงสร้างของก้านใบดังกล่าว ได้นำไปใช้ในการจัดจำแนกหน่วยทางอนุกรมวิธาน และใช้ในการแสดงความสัมพันธ์ที่ชัดเจนในทางอนุกรมวิธาน

การศึกษาโครงสร้างที่ใช้ในการสืบพันธุ์

การศึกษาโครงสร้างที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ของเฟิร์น เป็นการศึกษาลักษณะของโครงสร้างบางลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ของพืชในกลุ่มเฟิร์น ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวประกอบด้วย อับสปอร์ (sporangium) และ สปอร์ (Spore)

การศึกษาลักษณะอับสปอร์ หมายถึง การศึกษาลักษณะโครงสร้างทั้งหมดของอับสปอร์ ซึ่งลักษณะอับสปอร์ของเฟิร์น มี 2 แบบ คือ Eusporangiate และ Leptosporangiate อับสปอร์ประกอบด้วย ก้านชูอับสปอร์ (stalk) และ อับสปอร์ (capsule) ลักษณะของอับสปอร์มีรูปร่างแบบรูปกระบอง (club-shaped) มีผนังที่ประกอบด้วยเซลล์บางเรียงต่อกัน 1 ชั้น เป็นผนังอับสปอร์ และมีแถวของเซลล์ผนังหนา 1 แถว เรียกว่า annulus ซึ่งในอับสปอร์ของเฟิร์นแต่ละชนิดจะมี annulus cell จำนวนไม่เท่ากัน นอกจากนี้ยังมีเซลล์ที่เรียงตัวอยู่ในแถวเดียวกับ annulus cell ที่เป็นเซลล์ผนังบางซึ่งจะแยกออกจากกันเมื่ออับสปอร์แก่เต็มที่ เรียกว่า lip cells เมื่ออับสปอร์แตกที่ตำแหน่ง lip cell จะทำให้สปอร์มีการกระจายพันธุ์ออกไป

การศึกษาลักษณะสปอร์ หมายถึง การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์ โดยพิจารณาจากผลการศึกษาทั้ง Light Microscope (LM) และ Scaning Electron Microscope (SEM) ประกอบกันในรายละเอียดของขนาด รูปร่าง ลวดลาย สมมาตร และ ขั้ว เป็นต้น ลักษณะสปอร์ของกลุ่มเฟิร์นที่พบจะเป็นสปอร์แบบ tetrad ซึ่งแต่ละสปอร์จะเกิดจากการแบ่งนิวเคลียสแบบ meiosis ของ spore mother cell ลักษณะของสปอร์ที่พบอาจเป็นแบบ homosporous หรือแบบ heterosporous ขึ้นอยู่กับชนิดของเฟิร์น สปอร์ของเฟิร์น มี 2 รูปแบบ (Walker, 1976) คือ

1. Monolete or Monosulcate; are boat-shaped, have one long germinal furrow and one germinal aperture.

2. Trilete or Tricolpate; are globose symmetrical, typically have three germinal apertures.

นอกเหนือจากรูปร่างแล้วลักษณะลวดลายบนผนังของสปอร์ก็มีได้มากมายหลายแบบ เช่นอาจมีลักษณะคล้ายเข็ม คล้ายเสา เป็นแท่ง เป็นปุ่ม หรือมีลวดลายเป็นเส้นประสานกันสวยงาม หรืออาจมีลักษณะเป็นเหลี่ยม เป็นสันขึ้นมาบนผนังของสปอร์ก็ได้ ลักษณะต่าง ๆ เหล่านี้เป็นลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มทางอนุกรมวิธาน

การศึกษาลักษณะสปอร์เพื่อนำมาใช้ในทางอนุกรมวิธาน มักใช้ควบคู่กับการศึกษาลักษณะอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น ลักษณะสัณฐานวิทยา ลักษณะกายวิภาค เป็นต้น ถ้าเป็นการศึกษาลักษณะของสปอร์เพียงอย่างเดียวในการศึกษาตัวอย่างที่อยู่ในสกุลเดียวกันอาจทำให้มีการแยกชนิดได้ไม่ชัดเจน

ทั้งนี้เนื่องจากความสัมพันธ์กันของแต่ละชนิดในสกุลเดียวกัน แต่จะใช้ได้ผลดีในการจำแนกกลุ่มในระดับวงศ์ ลักษณะของสปอร์สามารถแสดงความสัมพันธ์ภายในวงศ์เดียวกันและสามารถบ่งชี้ให้เห็นลักษณะที่แตกต่างจากวงศ์ข้างเคียงได้

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์เพื่อนำมาใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มของเฟิร์น มีการศึกษา ดังนี้

Gastony & Tryon (1976) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเฟิร์นในสกุลต่าง ๆของวงศ์ Cyatheaceae โดยวิธี SEM และ TEM ได้ลักษณะของสปอร์ดังนี้ สกุล *Lophosoria* และ *Mataxya* พบว่าลักษณะของสปอร์เป็นลักษณะเฉพาะตัวที่แตกต่างจากกลุ่มอื่น ส่วนสปอร์ในสกุล *Sphaeropteris* ได้พัฒนารูปแบบของ perine เป็นลักษณะบ่งบอกที่สำคัญ โดยลักษณะของ perine เป็นแบบ hair-like ส่วนชั้น exine จะปรากฏลักษณะที่ไม่มีลวดลาย ลักษณะสปอร์ในสกุล *Alsophylia* จะพบสปอร์เป็นแบบ basically ridged perine และชั้น exine ไม่มีลวดลาย ลักษณะ perine เป็นแบบ hair-like ส่วนชั้น exine มี pitted ลักษณะของสปอร์ในสกุล *Nephelea* มีลักษณะคล้ายกับสปอร์ของสกุล *Alsophylia* ในลักษณะของ ridged perine และชั้น exine ไม่มีลวดลาย นอกจากนี้ยังมีการศึกษาจำนวนสปอร์ในแต่ละอับสปอร์ ของสกุล *Sphaeropteris* และสกุล *Alsophila* ด้วย จากการศึกษาสรุปได้ว่าการศึกษาข้อมูลของสปอร์สามารถนำไปใช้ในการศึกษาอนุกรมวิธานได้เป็นอย่างดี

Pearman (1976) ทำการศึกษาสปอร์ของเฟิร์นในสกุล *Cystopteris* Bernh. โดยใช้ SEM พบว่าลักษณะสปอร์ที่ทำการศึกษาสามารถนำมาใช้ในการจัดรูปวิธานได้อย่างมีนัยสำคัญ สปอร์มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน ลักษณะสปอร์ที่สำคัญที่นำมาใช้ในการจัดจำแนก คือ spore ornamentation พบลักษณะที่แตกต่างกัน 5 ลักษณะ นำมาใช้เป็นลักษณะในการจัดจำแนกเป็น subgenera และในระดับที่ชัดเจนในสกุลเดียวกันได้

Seong (1976) ได้ทำการศึกษา SEM ของเฟิร์น *Pyrrosia adnascens, P. linearifolia, P. lingua, P. mollis, P. polydactylis* และ *P. sheareri* พบว่าสปอร์มีลักษณะ monolete หรือ bilateral ลักษณะของสปอร์ของ Pyrrosia แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในด้านขนาด และความหนาแน่นของการกระจายของ verrucae หรือ tubercules ที่อยู่บนผิวที่มีความแตกต่างกัน ลักษณะสปอร์ของแต่ละชนิดที่ศึกษาจาก SEM พบว่าลักษณะสปอร์ที่ปรากฏเพียงอย่างเดียว ก็สามารถใช้ในการจัดจำแนกชนิดของเฟิร์นในสกุล Pyrrosia ได้

Baxendale & Baxter (1977) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ลักษณะกายวิภาค และลักษณะสปอร์ ของใบเฟิร์นที่สร้างสปอร์ที่เก็บตัวอย่างมาจาก Coal-balls of the Desmoinesian Stage of Iowa (U.S.A.) พบว่าเฟิร์นดังกล่าวมีลักษณะ ใบยาว มีก้านใบสั้น อับสปอร์มีลักษณะของ annulus แบบ sub-apical band สปอร์มีลักษณะ monolete, ridged, golden-brown spore จากการศึกษาดังกล่าวพบว่าลักษณะของสปอร์ที่พบเป็นลักษณะของสปอร์ของเฟิร์นในสกุล *Schizaea* โดยได้ทำการเปรียบเทียบกับตัวอย่างแห้งที่มีอยู่ สรุปผลการศึกษาได้ว่าเฟิร์นที่พบเป็นเฟิร์นที่มีลักษณะอยู่ในกลุ่ม Leptosporangiate วงศ์ Schizaeaceae

Hennipman (1977) ทำการศึกษาทบทวนเฟิร์นในสกุล *Bolbitis* ซึ่งเป็นกลุ่มเฟิร์นที่มีการสร้างสปอร์แบบ acrostichoid ได้ทำการศึกษาจากลักษณะสัณฐานวิทยา ลักษณะกายวิภาค ลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์ ลักษณะ karyology และลักษณะ gametophyte ควบคู่กับการศึกษาลักษณะ geography ผลการศึกษาทำให้สามารถจัดจำแนกชนิดของเฟิร์นสกุลดังกล่าวออกได้ 44 ชนิด พร้อมทั้งวาดภาพประกอบและถ่ายรูปของสปอร์ประกอบคำบรรยาย

Sorsa (1980) ทำการศึกษาทบทวนเฟิร์นในสกุล *Gymnocarpium* โดยอาศัยลักษณะ exospore และ perispore โดยใช้ LM และ SEM จากตัวอย่าง 8 ชนิด ทำให้สามารถแบ่งกลุ่มเฟิร์นออกเป็นระดับ species และ subspecies ได้เป็นชนิดใหม่ คือ *Gymnocarpium dryopteris* ssp. *disjunctum*, *G. jessoense* ssp. *jessoense*, *G. jessoense* ssp. *parvulum*, และ *G. robertianum*

Large & Braggins (1991) ทำการศึกษาสปอร์ของเฟิร์นและพืชกลุ่มใกล้เคียงกับเฟิร์น ทั้งชนิดที่เป็นเฟิร์นโบราณและเป็นเฟิร์นยุคใหม่ ซึ่งเจริญอยู่บนเกาะ New Zealand ในการศึกษาครั้งนี้มีเฟิร์นทั้งหมด 25 วงศ์ 65 สกุล 211 ชนิด และ 3 ชนิดย่อย (subspecies) พบเฟิร์นที่มีสปอร์แบบ heterosporous จำนวน 7 ชนิด ส่วนที่เหลือเป็นสปอร์แบบ homosporous ลักษณะสปอร์แบบ monolete พบในเฟิร์นทั้งหมด 37 สกุล รวม 109 ชนิด และลักษณะสปอร์แบบ trilete พบในเฟิร์น30 สกุล จำนวน 104 ชนิด โดยในจำนวนดังกล่าวได้รวมเอาลักษณะสปอร์ของ *Isoetes* และ *Lindsaea* มาไว้ด้วยกันในลักษณะสปอร์ทั้งสองแบบ เนื่องจาก *Isoetes* มีลักษณะสปอร์ได้ 2 แบบ คือ megaspore เป็นแบบ trilete และ microspore เป็นแบบ monolete ส่วน Lindsaea พบทั้งชนิดที่มี monolete spore และ trilete spore การศึกษาสปอร์โดย LM และ SEM ได้รายละเอียดอื่น ๆ ที่นำมาใช้ในการจัดจำแนกชนิดได้อีก เช่น ขนาด ลวดลาย และความหนาของชั้น perine และชั้น exine ของสปอร์มาใช้ในการตัดสินแยกชนิดได้ดียิ่งขึ้น นอกจากลักษณะดังกล่าวแล้วยังได้ศึกษาถึงรายละเอียดของปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อ ขนาด และลักษณะของสปอร์ อีกด้วย นอกจากนี้

ข้อมูลการศึกษาลักษณะของสปอร์ ยังใช้ในการแก้ปัญหาความไม่ชัดเจนของชนิดในสกุล *Isoetes*, *Lindsaea* และ *Cyathea* ได้อย่างดีด้วย

การวิจัยในครั้งนี้ เป็นการศึกษาไบโอซิสเทมาติกส์ของประชากรเฟิร์นลิ้นกุรัม *Pyrrosia eberhardtii* (Christ) Ching ที่พบในประเทศไทย เนื่องจากเฟิร์นลิ้นกุรัมที่เจริญในธรรมชาติ มักจะมีลักษณะสัณฐานวิทยาที่มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดในลักษณะของรูปร่างใบ โคนใบ ปลายใบ และขนาดของลักษณะต่าง ๆ ที่มีความแปรผันของประชากรทั้งในและระหว่างกลุ่มประชากรในพื้นที่ต่าง ๆ ซึ่งจะเห็นได้ว่าลักษณะต่าง ๆ ที่กล่าวถึงนั้นมีความแปรผันเป็นอย่างมาก และลักษณะเหล่านี้ได้ปรากฏในตัวอย่างที่พบในประเทศไทยและที่ทำการศึกษาด้วย จากความแปรผันดังกล่าว พบว่ามีลักษณะและขนาดบางอย่างมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนภายในกลุ่มประชากร จึงตั้งข้อสังเกตว่า น่าจะมีความแตกต่างในหลาย ๆ ลักษณะ เกิดขึ้นในประชากรของเฟิร์นลิ้นกุรัม ดังนั้นจึงสมควรเป็นอย่างยิ่งที่จะมีการตรวจสอบลักษณะดังกล่าว

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการตรวจสอบการแปรผันที่เกิดขึ้นภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่มประชากรเฟิร์นลิ้นกุรัมที่พบในประเทศไทย ว่ามากพอที่จะจัดจำแนกในระดับที่ต่ำกว่าชนิดหรือเป็นชนิดใหม่ได้หรือไม่ และเพื่อคัดเลือกลักษณะที่ชัดเจนนำมาใช้ในรูปวิธานจัดจำแนกชนิด โดยใช้วิธีการทาง biosystematics ด้วยเทคนิคทาง numerical taxonomy ในการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและลักษณะกายวิภาคของต้น ใบ และโครงสร้างที่ใช้ในการสืบพันธุ์ ของตัวอย่างประชากรเฟิร์นลิ้นกุรัมที่กระจายพันธุ์อยู่ในประเทศไทย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย