หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

อภิปรายผลการศึกษา

5.1 หลักฐานทางสัณฐานวิทยา

5.1.1 สัณฐานวิทยาของเรณูพืชสกุลถั่วแปบช้าง (Afgekia Craib)

จากผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเรณูของถั่วแปบช้าง (A. sericea) และกันภัย (A. mahidolae) พบว่าลักษณะเรณูของถั่วแปบช้างและกันภัย มีความแตกต่างกัน คือ ค่า equatorial diameter ค่า polar field index ขนาด และรูปร่าง โดยค่า equatorial diametrer ค่า polar field index แตกต่างกันทางสถิติ ที่หาค่าเฉลี่ยจาก 25 ตัวอย่าง แต่จำนวนตัวอย่างเพียงเท่านี้ไม่อาจใช้เป็นข้อมูลจำแนกพืชสองชนิดนี้ได้ เนื่องจากขนาดของเรณูของพืชนั้นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ง่าย(ค่า equatorial diameter และค่า polar axis นำไปใช้ในการหาขนาดและรูปร่างของเรณู) ซึ่งลักษณะเรณูที่แตกต่างกันระหว่างถั่วแปบช้างที่มีรูปร่างแบบ oblate spheroidal และเรณูของกันภัยที่มีรูปร่างแบบ prolate spheroidal นั้น รูปร่างของเรณูสามารถเปลี่ยนแปลงได้ง่ายระหว่างรูปร่างแบบ oblate spheroidal-prolate spheroidal โดยขึ้นอยู่กับความชื้นของอากาศ (กันยา สันทนะโชติ, 2524) และเมื่อพิจารณาขนาดของของพืชสกุลถั่วแปบช้างซึ่งพบว่าเรณูของถั่วแปบช้าง มีขนาดใหญ่กว่าเรณูของกันภัย โดยมีขนาดของเรณู 40.4 และ 37.9 ไมครอน ตามลำดับ นั้น อาจมีสาเหตุเนื่องจากลักษณะสภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน โดยสภาพภูมิอากาศของถิ่นอาศัยของถั่วแปบช้าง ในปีที่เก็บตัวอย่าง(พ.ศ.2532) เพื่อศึกษานั้นจะมีสภาพภูมิอากาศดีกว่าถิ่นอาศัยของกันภัย โดยถิ่นอาศัยของกันภัยมีลักษณะของสภาพภูมิอากาศแห้งแล้งมาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ เจษฎา เหลืองแจ่ม (2519) ที่ได้ศึกษาเรณูของสนสองใบ พบว่าเรณูของสนสองใบแม้ว่าจะเก็บจากแหล่งเดียวกัน แต่ต่างปีกันนั้น มีขนาดแตกต่างกันโดยปีที่มีสภาพดินฟ้าอากาศ ดีกว่าเรณูจะมีขนาดใหญ่กว่า และ สมิต บุญเสริมสุข (2530) ได้ศึกษาเรณูของพืชวงศ์ Rhizophoraceae ของไทย พบว่าพรรณไม้ในสกุลที่ขึ้นอยู่ในป่าบกมีขนาดเรณูเล็กกว่าพรรณไม้ในสกุลที่ขึ้นอยู่ในป่าเลน ดังนั้น สามารถตั้งข้อสังเกตได้ว่า ความแตกต่างของสัณฐานวิทยาของเรณูของพืชสกุลถั่วแปบช้าง บางลักษณะดังกล่าวเป็นผลเนื่องจากสภาพนิเวศวิทยา ที่แตกต่างกัน

ในแต่ละถิ่นอาศัย และลักษณะสัณฐานวิทยาของเรณูส่วนใหญ่มีความคล้ายคลึงกันมากกว่า แสดงให้เห็นว่าพืชสกุลถั่วแปบช้างมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม และจากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแคน(SEM) พบว่าเรณูของถั่วแปบช้างและกันภัยนั้น มีลักษณะที่แตกต่างกันที่เป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละชนิด คือ ลวดลายของผนังชั้นนอกที่เป็นแบบ rugulate reticulate ทั้งสองชนิดนั้น เรณูของถั่วแปบช้างจะมีลวดลายผนังชั้นนอกเป็นแบบตาข่าย ที่ละเอียด(micro reticulate) กว่าเรณูของกันภัย สามารถใช้ลักษณะนี้แยกระหว่างพืชทั้งสองชนิดนี้ได้ ซึ่งเรณูของพืชแต่ละชนิดจะมีลักษณะแตกต่างกัน สามารถนำคุณลักษณะนี้ไปใช้ในการจัดจำแนก(classification) ชนิดของพืชได้ (Erdtman,1966) งานวิจัยทำนองเดียวกันนี้ Elisens (1986) ได้ศึกษาสัณฐานวิทยาของเรณู เพื่อหาความสัมพันธ์ในการจัดหมวดหมู่ของพืชหลายสกุล อาทิเช่น สกุล Antirrhinum Lophospernum Mabrya และ Maurandya เป็นต้น พบว่า พืชในสกุลเดียวกันจะมีขนาดเรณูใกล้เคียงกัน มีลักษณะของช่องเปิด และลวดลายของผนังชั้นนอกที่เหมือนกัน แตกต่างกันเพียงค่า polar diameter และค่า equatorial diameter และสามารถใช้ ลักษณะของเรณูบ่งบอกถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างพืชต่างสกุลได้อีกด้วย

5.1.2 การวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาพืชสกุลถั่วแปบช้างโดยการวิเคราะห์การจัดจำแนกประเภท (Discriminant Analysis)

จากผลการวิเคราะห์การจำแนกประเภทระหว่างถั่วแปบช้าง (A. sericea) กับกันภัย (A. mahidolae) นั้น พบว่าลักษณะสัณฐานวิทยาที่แสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจนว่า สามารถแยกถั่วแปบช้างกับกันภัยออกจากกันได้ มีถึง 12 ลักษณะซึ่งเป็นลักษณะแปรผันต่อเนื่อง คะแนนมาตรฐานที่ปรับแล้วแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างการจัดกลุ่มพืชสองชนิดนี้ในลักษณะเชิงบวก และเชิงลบ ซึ่งหมายถึงลักษณะที่มีคะแนนมาตรฐานเป็นบวกจะเป็นลักษณะของถั่วแปบช้าง ได้แก่ ความยาวของใบย่อยใบสุดท้าย จำนวนคู่ของใบย่อย ความยาวช่อดอก จำนวนฝักในหนึ่งช่อดอก และความกว้างของ wing ซึ่งลักษณะเหล่านี้มีค่าสัมประสิทธิ์ในสมการจำแนกประเภทมาตรฐาน 0.71 0.64 0.58 0.30 และ 0.25 ตามลำดับ ค่าคะแนนมาตรฐานที่มีค่าสูง แสดงถึงลักษณะนั้น ๆ ของถั่วแปบช้างแตกต่างไปจากลักษณะเดียวกันนั้นของกันภัย เช่น ความยาวของใบย่อยใบสุดท้ายของถั่วแปบช้างจะยาวกว่าความยาวของใบย่อยใบสุดท้ายของกันภัยเห็นได้ชัดเจนมาก(คะแนนมาตรฐาน 0.71) ในทางตรงกันข้ามคะแนนมาตรฐานที่มีค่าเป็นลบจะเป็นลักษณะของกันภัย เช่น ความกว้างของใบย่อยใบสุดท้าย ที่มีค่าคะแนนมาตรฐาน -0.94 แตกต่างจากความกว้างของใบย่อยใบสุดท้ายของถั่วแปบช้างที่มีความกว้างของใบย่อยใบสุดท้ายน้อยกว่ากันภัย

(ตารางที่ 10 หน้า 73) ซึ่งสอดคล้องกับรูปร่างใบของพืชทั้งสองชนิด ค่าคะแนนมาตรฐานที่มีค่าไม่มากนัก(ค่าลบหรือบวก อยู่ระหว่าง 0.1-0.4)แสดงให้เห็นว่าลักษณะนั้น ๆของพืชทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันไม่มากนักเห็นได้จากค่าเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกัน จากสมการจำแนกประเภทพบว่ามีนัยสำคัญที่ระดับสูงมาก (significance = 0.0) ตัวแปรจำแนกทั้ง 12 ตัวแปรนี้ในสมการนี้สามารถคาดประมาณกลุ่มของถั่วแปบช้างและกันภัยได้ถูกต้องถึงร้อยละ 100 ซึ่งถือว่าสามารถคาดประมาณความถูกต้องของแต่ละกลุ่ม ในระดับสูงสุด (สุปรียา ควรเดชะคุปต์, สุพิน ประจวบเหมาะ และ สงสุทธ แฉล้มวงษ์, 2528;อุบลนีย์ นุหัง, รุ่งนภา นุหัง และโชติแสง ใต้ชัยภูมิ, 2528) ค่าสหสัมพันธ์ canonical สูงเท่ากับ 0.97 ซึ่งสอดคล้องกับค่า Wilks' Lambda ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำคือ 0.07 ซึ่งแสดงว่าสมการนี้มีอำนาจในการแบ่งกลุ่มได้สูง (สุชาติ ประสิทธิรัฐสินธุ์ และฉัตดาวัลย์ รอดมณี, 2528; สุปรียา ควรเดชะคุปต์ และคณะ (2528) อุบลนีย์ นุหังและคณะ (2528)และจาก histogram ได้จากการวิเคราะห์กลุ่ม(All-group stacked histogram) ที่พบว่าประชากรของถั่วแปบช้างแยกจากประชากรของกันภัยอย่างชัดเจน โดยมีค่าเฉลี่ยของกลุ่มแต่ละกลุ่มประชากรแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจนนั้น แสดงให้เห็นว่าลักษณะสัณฐานวิทยาทั้ง 12 ลักษณะนี้ใช้ในการจำแนกพืชทั้งสองชนิดได้ นอกจากลักษณะความแปรผันไม่ต่อเนื่องที่ Burtt และ Chermsirivathana (1971) ได้ใช้ในการจัดจำแนกพืชทั้งสองชนิดนี้ ได้แก่สีของดอก ซึ่งดอกถั่วแปบช้าง standard มีสีเหลืองชัด มีจุดสีชมพู 2 จุด ที่ฐานทั้ง 2 ข้าง และมีจุดสีเหลืองอยู่ระหว่างกลาง wing มีสีชมพู ส่วนสีของดอกกันภัยจะมีสีที่เข้มกว่า คือ standard มีสีม่วง ที่มีจุดสีเหลืองอยู่ตรงกลาง wing มีสีม่วง ส่วน keel มีสีขาวทั้งถั่วแปบช้างและกันภัย ซึ่งลักษณะของดอกที่แตกต่างกันนี้ อาจมีสาเหตุเนื่องจากการปรับตัวให้เหมาะสมต่อสิ่งมีชีวิตที่ช่วยผสมเกสร (pollinator) ในแต่ละถิ่นอาศัยของพืช (Elisens,1989) นอกจาก พืชทั้งสองชนิดจะมีสีดอกแตกต่างกันแล้วยังมีลักษณะสัณฐานวิทยาบางอย่างที่แตกต่างกันอีก ได้แก่ถั่วแปบช้าง ไม่มีขนที่บริเวณปลายของ style ตรงกันข้ามกันภัยที่มีขนบริเวณดังกล่าว และ จำนวน wing appendage ของถั่วแปบช้าง มี 2 อัน ส่วนกันภัยมีเพียง 1 อัน รวมลักษณะแปรผันไม่ต่อเนื่องที่กล่าวถึงในตอนหลัง 3 ลักษณะและลักษณะดังกล่าวนี้ไม่ได้ถูกนำเข้าร่วมในการวิเคราะห์เนื่องจากมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนที่สามารถใช้แยกชนิดของพืชในสกุลนี้ได้ ซึ่งถือว่าเป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ(qualitative data) แต่ลักษณะเหล่านี้อาจเป็นผลที่เกิดขึ้นจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันของแต่ละถิ่นอาศัย เมื่อพืชชนิดเดียวกันมีการกระจายพันธุ์ไปอยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน (ecological distribution) จนกระทั่งสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ โดยเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง หรือลักษณะสัณฐานวิทยาบางอย่างให้เหมาะสม

เมื่อเวลาผ่านไปนานนับล้านปี พืชชนิดเดียวกันนี้ก็สามารถนำมาจัดจำแนกให้เป็นคนละชนิดได้ (Milner และ Hiesey,1965) ซึ่งลักษณะทางนิเวศวิทยาของถิ่นอาศัยของถั่วแปบช้างและกันภัย จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่ามีความแตกต่างกันทั้งลักษณะของสภาพภูมิอากาศ และปริมาณแร่ธาตุในดิน ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้ น่าจะเป็นเหตุผลบางประการที่สนับสนุนการเกิดความแตกต่างของลักษณะสัณฐานวิทยาดังกล่าวของพืชสกุลนี้ อาทิเช่นขนาดของเรณู ดังที่ Muller (1969) กล่าวว่า ปัจจัยทางด้านธาตุอาหาร เป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่ทำให้ขนาดของเรณูมีความแปรผันตามระบบนิเวศวิทยาที่แตกต่างกัน (อ้างถึงใน สมิต บุญเสริมสุข ,2530) DeHond และ Campbell (1989) ได้ศึกษาในทำนองเดียวกันนี้ในพืชสกุล Betula พบว่า Betula cordifolia แยกจาก Betula populifolia ได้อย่างชัดเจน โดยพบว่ามีลักษณะสัณฐานวิทยาที่ใช้แยกพืชทั้งสองชนิดนั้นจำนวน 10 ลักษณะ และผลจากการศึกษาโดยใช้วิธีวิเคราะห์การจัดจำแนก นั้น ได้ค่า canonical correlation = 0.96 ทำให้ DeHond และ Campbell สรุปว่า พืชทั้งสองชนิดนี้สามารถใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาทั้ง 10 ลักษณะแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน

5.2 หลักฐานทางพันธุศาสตร์

5.2.1 การศึกษาจำนวนโครโมโซมและการจับคู่กันของโครโมโซมของพืชสกุลถั่วแปบช้าง

ผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชสกุลถั่วแปบช้าง จากเซลล์ปลายราก และเซลล์ไมโครสปอร์โรไซต์ พบว่าถั่วแปบช้าง (A. sericea) และกันภัย (A. mahidolae) มีจำนวนโครโมโซมในโซมาติกเซลล์เท่ากันคือ 2n = 16 โครโมโซมมีขนาดเล็กใกล้เคียงกันทั้งสองชนิด และ พฤติกรรมการจับคู่กันของโครโมโซมในระยะเมทาเฟสแรกพบ 8 ไบเวเลนท์ ทั้ง 2 ชนิด และพบว่ามีไบเวเลนท์แบบวงแหวนมากกว่าแบบแท่ง โดย ถั่วแปบช้างมี meiotic figure เป็น 7.14 ring II + 0.89 rod II และ กันภัยมี meiotic figure เป็น 7 ring II + 1 rod II ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าพืชสกุลถั่วแปบช้าง มีโครโมโซมแบบ metacentric และ submetacentric มากกว่าโครโมโซมแบบ acrocentric ซึ่ง กันยารัตน์ ไชยสุต (2532) ได้อธิบายถึงการคาดคะเนชนิดของโครโมโซมได้โดยดูจำนวนของไบเวเลนท์แบบวงแหวน (ring bivalent) และแบบแท่ง (rod bivalent) เพราะไบเวเลนท์แบบวงแหวนนั้นเกิดมาจากการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันโดยโครโมโซมที่มาจับคู่กันนั้นมีเซนโทรเมียร์อยู่ตรงกลางโครโมโซม (median centromere) หรือค่อนไปทางแขนข้างใดข้างหนึ่ง (submedian centromere) ทำให้เกิด crossing-over ได้หลายแห่ง และเมื่อมีการเคลื่อนที่ (terminalization) ของ chiasmata รูปของโครโมโซมจึงเป็นไบเวเลนท์ แบบวงแหวน

ส่วนไบเวเลนท์แบบแท่งเกิดจาก acrocentric chromosme ซึ่งเป็นโครโมโซม ที่มีเซนโทร-เมียร์อยู่เกือบปลายแขนข้างสั้น มาจับคู่กันมี crossing-over เกิดได้เฉพาะแขนข้างยาวของโครโมโซม ทำให้รูปร่างของไบเวเลนท์ในระยะเมทาเฟสแรกเป็นรูปแท่ง

เนื่องจากผลการศึกษา meiotic configuration ของพืชทั้งสองชนิดพบว่ามีจำนวนไบเวเลนท์แบบวงแหวนและแบบแท่งแตกต่างกัน โดยในไมโครสปอร์โรไซต์ของถั่วแปบช้าง พบไบเวเลนท์รูปวงแหวน 5-8 อัน และพบไบเวเลนท์รูปแท่ง 0-3 อัน หรือในไมโครสปอร์โรไซต์ของกันภัย พบไบเวเลนท์รูปวงแหวน 6-8 อัน และพบไบเวเลนท์รูปแท่ง 0-2 อัน มีสาเหตุจากโครโมโซมแบบ submeta centric ที่จับคู่กันเป็นไบเวเลนท์รูปวงแหวนนั้น ปลายแขนข้างสั้นหลังจากที่เกิด terminalization แล้ว ในระยะเมทาเฟสแรกที่ศึกษา meiotic configuration นั้นอาจพบว่าได้เกิดการแยกกันของโครโมโซม (disjunction) ไปแล้ว ทำให้เห็นไบเวเลนท์ดังกล่าวเป็นแบบไบเวเลนท์รูปแท่ง

เนื่องจากถั่วแปบช้าง และกันภัยเป็นพันธุ์ไม้ป่าที่พบเฉพาะในประเทศไทยเท่านั้น และยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับการศึกษาจำนวนโครโมโซม จึงไม่มีข้อมูลเปรียบเทียบจำนวนโครโมโซมของพืชสกุลนี้กับถิ่นอาศัยอื่น ๆ หรือบริเวณอื่น ๆ ของภูมิภาคต่างของโลกอย่างไร ก็ตามได้มีรายงานการศึกษาจำนวนโครโมโซมในพืชสกุล Millettia ซึ่งพืชสกุลนี้มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับพืชสกุลถั่วแปบช้างมาก (Craib, 1925) โดย Toxopeus(1952) และ Atchison(1951) อ้างถึงใน Darlington และ Wylie (1955) ได้ศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชในสกุล Millettia พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 16, 20 และมี basic number (x) = 8 และ 10 ในพืชสกุลถั่วแปบช้างที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 16 และมีการจับคู่กันของโครโมโซมที่พบ 8 ไบเวเลนท์ ทำให้สามารถสรุปได้ว่า พืชสกุลถั่วแปบช้างมี basic number(x)= 8

จากการเตรียมเซลล์ ปลายรากโดยวิธี Feulgen squash เมื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมนั้น เตรียมเซลล์ในระยะเมทาเฟสไม่ได้เซลล์ที่ดี ที่สามารถศึกษารูปร่างโครโมโซมได้ จึงได้อาศัยการคาดคะเนชนิดของโครโมโซมจากรูปร่างของไบเวเลนท์ ดังที่ได้กล่าวไปแล้ว และเนื่องจากผลจากการศึกษาการจับคู่กันของโครโมโซมหรือ meiotic configuration ของพืชสกุลนี้จะมี meiotic configuration เป็นแบบ regular คือโครโมโซมที่เหมือนกันจับคู่เป็นไบเวเลนท์ทั้งหมด ทำให้โครโมโซมที่เหมือนกันในระยะแอนาเฟสแรก (first anaphase) แยกไปยังขั้วเซลล์แต่ละข้างมีจำนวนเท่ากัน ผลที่ได้คือเซลล์สืบพันธุ์ที่มีจำนวนโครโมโซม n = 8 ซึ่งลดลงครึ่งหนึ่งของเอิร์มไลน์เซลล์ ซึ่งเซลล์สืบพันธุ์ชนิดนี้สามารถเจริญพันธุ์ต่อไปได้ตามปกติ กล่าวคือมีความสมบูรณ์พันธุ์(fertility) สูง และถ้าละอองเรณูมีการเจริญพันธุ์ต่ำ ไม่น่าจะมี

สาเหตุเนื่องจากโครโมโซมแต่จะสามารถยืนยันได้ถ้ามีการศึกษาถึงการแบ่งเซลล์ในระยะแอนาเฟสแรก เทโลเฟสสอง(second telophase) หรือ ในระยะ microspore quartet จำนวน 100 - 200 เซลล์

5.2.2 <u>การศึกษาการมีชีวิต ของละอองเรณู และการงอกหลอดละอองเรณูของพืชสกุลถั่วแปบช้าง</u>

ผลการศึกษา การจับคู่ของโครโมโซมหรือ meiotic configuration ของถั่วแปบช้างและกันภัยที่พบว่าเป็นแบบ regular และเซลล์สืบพันธุ์ที่ได้จะสามารถเจริญพันธุ์ได้ตามปกติ นั้นสอดคล้องกับผลการศึกษาการมีชีวิตของละอองเรณูทั้งสองวิธี ที่พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ แต่การศึกษาของ Gwyn และ Stelly (1989) ได้มีข้อสรุปว่าในการตรวจสอบความมีชีวิต หรือการเจริญพันธุ์ของละอองเรณู โดยใช้วิธีตรวจสอบด้วยการย้อมด้วยสีต่าง ๆ เหล่านี้ ไม่อาจจะบ่งบอกได้ว่าละอองเรณูที่มีชีวิตนั้น จะมีหน้าที่และความสามารถในการปฏิสนธิอย่างมีประสิทธิภาพ แต่สามารถบ่งบอกได้ ถ้าใช้วิธี FCR (fluorochrome reaction method) แยกระหว่างละอองเรณูที่ไม่มีประสิทธิภาพในความสามารถในการปฏิสนธิ กับละอองเรณูที่มีประสิทธิภาพในความสามารถในการปฏิสนธิ และจากผลการศึกษาของ Gwyn และ Stelly นี้ สามารถตั้งข้อสังเกตได้ว่า ละอองเรณูของพืชสกุลถั่วแปบช้างที่ตรวจสอบความมีชีวิตโดยใช้วิธีการย้อมสี นี้ ไม่สามารถบ่งบอกถึงความสามารถในการปฏิสนธิ ได้ เนื่องจากในธรรมชาติพืชสกุลนี้มีการติดผลน้อยมาก (0 - 5 ผล)เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนดอกย่อยในหนึ่งช่อดอก(55 - 200 ดอก) และจากผลการศึกษาการงอกหลอดละอองเรณู โดยใช้สูตรอาหาร 3 สูตร ซึ่งพบว่าไม่มีการงอกหลอดละอองเรณู นั้น อาจมีสาเหตุเนื่องจากสูตรอาหารไม่เหมาะสมสำหรับการงอกหลอดละอองเรณูของถั่วแปบช้าง และกันภัย แต่การศึกษาของ ดำรงค์ สินไชย (2531) พบว่าละอองเรณูของแตงโมพันธุ์ชูการ์เบบี้ ที่เป็นดิพลอยด์(2x) สามารถงอกหลอดละอองเรณูได้เมื่อใช้สูตรอาหารสูตรเดียวกันกับที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ สูตรที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ + ผงวุ้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกหลอดละอองเรณูสูงถึง 86.35 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ผงวุ้น และกรดบอริค ซึ่งพบว่าละอองเรณูของพืชสกุลถั่วแปบช้างไม่มีการงอกหลอดละอองเรณู นั้น การศึกษาของ Nagami (1972) พบว่าละอองเรณูของพืชสกุล <u>Chrysanthenum</u> สามารถงอกหลอดละอองเรณูได้ในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย 1) น้ำตาลซูโครส 25 เปอร์เซ็นต์ ผงวุ้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ 2) น้ำตาลซูโครส 25 เปอร์เซ็นต์ ผงวุ้น 1.5 เปอร์เซ็นต์, กรดบอริก (boric acid) 250 ppm โดยสูตรที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การงอกหลอดละออกเรณูมากกว่าสูตรที่ 1 แต่จากผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการงอกหลอดละอองเรณูของพืชสกุลถั่วแปบช้าง

ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส น่าจะน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ หรือน้อยกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสูตรอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 15 - 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าละอองเรณูเมื่อทิ้งไว้ประมาณ 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เซลล์จะเกิดพลาสโมไลซิส(plasmolysis) และการที่ละอองเรณูไม่งอกหลอดละอองเรณูนั้นไม่น่าจะมีสาเหตุ จากละอองเรณูยังไม่เจริญเต็มที่ เนื่องจากการทดลองนี้ได้ใช้ละอองเรณูจากดอกตูมที่จะบานในวันรุ่งขึ้น และใช้ละอองเรณูจากดอกที่บานแล้วในวันที่ทำการทดลอง และสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของหลอดละอองเรณูของพืชสกุลนี้ อาจจะเป็นสูตรที่ได้จากผลการศึกษาของ DeHond และ Campbell (1989) ที่ได้ศึกษาการงอกหลอดละอองเรณู ของพืชสกุล Betula ซึ่งพบว่าละอองเรณูของพืชสกุลนี้ สามารถงอกหลอดละอองเรณูได้ในสูตรอาหารที่ไม่มีซูโครสเป็นองค์ประกอบ คือสูตรอาหารที่ประกอบด้วย โปตัสเซียมไนเตรท 0.01 เปอร์เซ็นต์ + กรดบอริค 0.01 เปอร์เซ็นต์ + แคลเซียมไนเตรท 0.05 เปอร์เซ็นต์ + แมกนีเซียมซัลเฟต 0.025 เปอร์เซ็นต์ + น้ำกลั่น อย่างไรก็ตาม ผลจากการศึกษาการงอกหลอดละอองเรณูของพืชสกุลถั่วแปบช้างในครั้งนี้และจากการสังเกตจำนวนของการติดผลในระยะที่ผลยังมีสีเขียวอยู่นั้น สามารถตั้งข้อสังเกตได้ว่าละอองเรณูของพืชสกุลถั่วแปบช้าง มีความสามารถในการงอกหลอดละอองเรณูได้ในอัตราที่ต่ำมาก จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้มีการติดผลในสภาพธรรมชาติเกิดขึ้นได้น้อย เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนดอกย่อยในแต่ละช่อดอก

5.2.3 แบบแผนไอโซไซม์เปอร์ออกซิเดสของพืชสกุลถั่วแปบช้าง

จากการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์เปอร์ออกซิเดส และข้อมูลที่ได้จากการแปลผลเพื่อชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมนั้น แสดงให้เห็นว่าถั่วแปบช้าง (A. sericea) และกันภัย (A. mahidolae) แม้ว่าจะมีแบบแผนไอโซไซม์เฉพาะแต่ละชนิดที่สามารถใช้แบบแผนไอโซไซม์แยกระหว่างถั่วแปบช้างและกันภัย ได้เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Sheen,(1970); Anderson,(1982) และ Quiros,(1980) แต่รูปแบบของแบบแผนไอโซไซม์เปอร์ออกซิเดสก็มีรูปแบบที่คล้ายคลึงกัน กล่าวคือสามารถแบ่งกลุ่มแถบที่ปรากฏได้ 3 กลุ่ม เช่นเดียวกัน และในแต่ละกลุ่มของแถบที่ปรากฏมีค่า Rf อยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกันมาก และจำนวนแถบของแต่ละกลุ่มแถบ นั้น มีจำนวนใกล้เคียงกัน กล่าวคือ ในกลุ่มแถบเคลื่อนที่ช้าของแบบแผนไอโซไซม์ ของถั่วแปบช้าง จะมี 2 หรือ 3 แถบ ขณะที่กันภัยพบ 2 แถบ ค่า Rf ของกลุ่มแถบนี้ อยู่ระหว่าง 0.17-0.23 ในกลุ่มแถบเคลื่อนที่ปานกลาง แบบแผนไอโซไซม์ของกันภัยจะปรากฏ 3 แถบ ขณะที่ ถั่วแปบช้างพบเพียง 2 แถบและแถบ 2 แถบที่พบใน ถั่วแปบช้าง และกันภัยนั้น มีค่า Rf ค่าเดียวกัน คือ 0.34 และ 0.360 ในกลุ่มแถบที่เคลื่อนที่เร็วแบบแผนไอโซไซม์ของ

ถั่วแบปช้าง พบ 3 แถบ ส่วนกันภัย พบ 1 หรือ 3 แถบ แถบที่มีค่า Rf 0.64 และ 0.66 จะเป็น 2 แถบที่พบทั้งใน ถั่วแปบช้างและกันภัย

การแปลผล ในแง่อนุกรมวิธานเพื่อแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของพืชจากแบบแผนของไอโซไซม์ที่ปรากฏบนเจล (gel) นั้น มีข้อสรุปว่า พืชที่มีเอนไซม์ให้แถบสีบนเจลอยู่ใกล้ชิดกัน มีค่า Rf ใกล้เคียงกัน จะมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกัน (Crawford, 1983, 1985) อาทิเช่น การศึกษาของ Gottlieb (1982) ในพืชสกุล Clarkia พบว่า Clarkia xantiana และ C. dudleyana มีแบบแผนไอโซไซม์ phosphoglucose isomerase (PGI) คล้ายคลึงกัน และมีช่วงของค่า Rf ของแถบบนเจล แต่ละกลุ่มใกล้เคียงกัน หรือการศึกษาของ Chou และ Chang (1988) ในพืชสกุล Miscanthus 2 ชนิดคือ M. floridulus M. transmorrisonensis ซึ่งพบว่าได้ผลเช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาถึงความแปรผันของแบบแผนไอโซไซม์เปอร์ออกซิเดสของถั่วแปบช้าง และกันภัย พบว่าประชากรของถั่วแปบช้าง จากสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช มี 3 รูปแบบ ขณะที่ประชากรแห่งที่ 1 ของกันภัยมี 2 รูปแบบ เช่นเดียวกันกับประชากรแห่งที่ 2 และมี 1 รูปแบบที่เป็นอย่างเดียวกัน คือ รูปแบบที่ 2 (ภาพที่ 6 , 7 และ 8) ซึ่งความแปรผันที่พบในประชากรของถั่วแปบช้าง และกันภัยนั้น อาจมีสาเหตุเนื่องจากความแตกต่างของจีโนไทป์ (Warwick และ Marriage, 1982) และสามารถตั้งข้อสังเกตได้ว่าพืชทั้งสองชนิดนี้มีความแปรผันทางพันธุกรรมของไอโซไซม์เปอร์ออกซิเดส ทั้งภายในประชากรเดียวกัน และประชากรที่ต่างกันด้วย

เมื่อเปรียบเทียบแบบแผนของไอโซไซม์เปอร์ออกซิเดสระหว่าง ตัวอย่างที่เก็บมาจากถิ่นอาศัยธรรมชาติ ดังที่ได้กล่าวไปแล้วนั้นกับตัวอย่างที่เก็บจากห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม พบว่า แบบแผนของไอโซไซม์เปอร์เปอร์ออกซิเดส ของถั่วแปบช้าง ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยพบว่ามีจำนวนแถบของแต่ละกลุ่มแถบที่ได้จัดแบ่งไว้นั้นแตกต่างกัน แต่กลุ่มแถบแต่ละกลุ่มนั้นมีค่า Rf อยู่ในช่วงเดียวกัน และจากผลการศึกษานี้ ตั้งข้อสังเกตได้ว่า ตัวอย่างที่เก็บจากห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม (5 ตัวอย่าง) ได้จากเมล็ดที่มีจีโนไทป์แตกต่างไปจากประชากรในธรรมชาติ (18 ตัวอย่าง) และความแตกต่างของแบบแผนไอโซไซม์ที่ปรากฏไม่น่าจะมีสาเหตุมาจากอายุของการเก็บเกี่ยวตัวอย่างใบที่นำมาศึกษา (2 เดือน) ซึ่งอายุใบที่เหมาะสมใช้ในการศึกษาควรมีอายุตั้งแต่ 1 เดือนขึ้นไป การศึกษาไอโซไซม์จากต้นกล้า (seedling) อาจจะใช้ต้นกล้าที่มีอายุเพียง 5-7 วันหรือต้นกล้าที่แตกใบจริงหรือมียอดอ่อน เมื่อให้พืชอยู่ในระยะที่มีการเจริญเติบโตที่เหมาะสมและสามารถตรวจหาเอนไซม์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ชวนพิศ อรุณรังสิกุล, 2531)

แบบแผนของไอโซไซม์เปอร์เปอร์ออกซิเดสของกันภัย จากตัวอย่างที่เก็บมาจากถิ่นอาศัยธรรมชาติ(22 ตัวอย่าง) เมื่อเปรียบเทียบกับแบบแผนของไอโซไซม์ของตัวอย่างใบที่เก็บมาจากห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม(9 ตัวอย่าง) พบว่า ประชากรแห่งที่ 1 มีแบบแผนของไอโซไซม์เปอร์ออกซิเดสเป็นอย่างเดียวกันกับตัวอย่างในจากห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม(ภาพที่ 7 และ11) แต่ในกลุ่มแถบที่เคลื่อนที่ปานกลาง ของตัวอย่างจากห้องควบคุมสภาวะแวดล้อมไม่ปรากฏแถบ มีจำนวน 5 ตัวอย่าง อาจจะมีสาเหตุเนื่องจาก มีความแตกต่างของจีโนไทป์ กับอีก 4 ตัวอย่าง ซึ่ง 4 ตัวอย่างหลังนี้มีแบบแผนของไอโซไซม์เหมือนกันประชากรแห่งที่ 1 และประชากรแห่งที่ 2 บางตัวอย่าง

5.2.4 <u>แบบแผนไอโซไซม์เอสเทอเรสของพืชสกุลถั่วแปบช้าง</u>

จากการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์เอสเทอเรสของพืชสกุลถั่วแปบช้าง พบว่าถั่วแปบช้าง (<u>A. sericea</u>) มีแบบแผนของไอโซไซม์แตกต่างไปจากแบบแผนไอโซไซน์ของกันภัย (<u>A. mahidolae</u>) ที่สามารถแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน ทั้งตัวอย่างที่เก็บมาจากถิ่นอาศัยธรรมชาติ และ ห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม และแบบแผนของไอโซไซม์ของตัวอย่างที่เก็บจากถิ่นอาศัยธรรมชาติ จะมีจำนวนแถบมากกว่า ตัวอย่าง ที่เก็บจากห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม ซึ่ง Wilkinson, Mulchi และ Aycock (1985) ได้ให้เหตุผลว่า เนื่องจากห้องควบคุมสภาพแวดล้อมมีเงื่อนไขของสภาพแวดล้อมไม่แปรปรวน ดังเช่นในถิ่นอาศัยธรรมชาติที่มีสภาพแวดล้อมแปรปรวนอยู่ตลอดเวลา หรืออาจจะมีสาเหตุมาจากความแตกต่าง ของจีโนไทป์ ดังที่กล่าวไปแล้ว หรือการศึกษาของ Scandalios (1974) ที่พบว่าอาจมีสาเหตุเนื่องจากความแตกต่างของช่วงพัฒนาการ(development stage) ที่แตกต่างกัน ทำให้จำนวนแถบที่ปรากฏแตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาถึงความแปรผันของแบบแผนของไอโซไซม์เอสเทอเรส พบว่า ถั่วแปบช้างมีแบบแผนไอโซไซม์แตกต่างกัน 2 แบบแผน และไม่พบความแปรผันของแบบแผนไอโซไซม์ ในตัวอย่างจากห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม ส่วนในประชากรแห่งที่ 1 ของกันภัยนั้นพบความแปรผันของแบบแผนของไอโซไซม์เอสเทอเรส 4 รูปแบบ ส่วนในประชากรแห่งที่ 2 ไม่พบความแปรผันของแบบแผนไอโซไซม์ ส่วนตัวอย่างจากห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม ก็ไม่พบความแปรผันเช่นเดียวกันกับประชากรแห่งที่ 2 อย่างไรก็ตามแบบแผนไอโซไซม์เอสเทอเรส ของถั่วแปบช้างและกันภัยนั้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างจากประชากรธรรมชาติ กับตัวอย่างจากห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม พบว่ากลุ่มของแถบ 2 กลุ่ม (กลุ่มเคลื่อนที่ปานกลาง และกลุ่มเคลื่อนที่เร็ว) มีค่า Rf อยู่ในช่วงเดียวกัน ส่วนกลุ่มแถบที่เคลื่อนที่ช้า บริเวณดังกล่าวเป็นปื้นไม่สามารถแยก

แถบต่าง ๆ ได้ ซึ่งสาเหตุก็เกิดลักษณะดังกล่าวนี้ อาจมีสาเหตุเนื่องจากใช้กำลังไฟฟ้าสูงเกินไป ในการทำอิเลคโตรโฟรีซิส ทำให้เกิดการแพร่กระจายของโมเลกุล และผลของการแยกสาร จะไม่ดีเท่าที่ควร (สุจิตรา จางตระกูล และคณะ, 2530) แต่ลักษณะดังกล่าวไม่เกิดขึ้นกับไอโซไซม์เปอร์ออกซิเดส

จากผลการศึกษาแบบแผนของไอโซไซม์เปอร์ออกซิเดส และเอสเทอเรสของถั่วแปบช้างและกันภัยนั้น สามารถสรุปได้ว่าพืชทั้งสองชนิด มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม เมื่อแปลผลในทางอนุกรมวิธานเป็นข้อมูลสนับสนุน ซึ่งเอนไซม์บางตัวประกอบด้วยหน่วยย่อย ซึ่งทำให้เอนไซม์ชนิดนั้นมีโครงสร้างหลายโครงสร้าง โดยแต่ละโครงสร้างมีคุณสมบัติทางกายภาพแตกต่างกัน แต่สามารถเร่งปฏิกิริยาที่มีสับสเตรท (substrate) เดียวกันได้ (Markert และ Moller ,1959) การศึกษาไอโซไซม์ที่อาศัยเทคนิค อิเลคโตรโฟรีซิส เป็นวิธีที่สามารถแสดงความคล้ายคลึง หรือความแตกต่างทางด้านพันธุกรรมได้ดี (Reeves and Bischoft, 1968 อ้างถึงใน อดิรัฐ ปิยัมบุตร, 2530) เพราะเอนไซม์หรือสารประกอบโปรตีนในสิ่งมีชีวิตจะถูกควบคุมโดยหน่วยควบคุมทางพันธุกรรม คือ ยีน(gene) สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่มีต้นกำเนิดร่วมกันทางพันธุกรรม จะมีเอนไซม์ หรือสารประกอบโปรตีนที่คงที่ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเอนไซม์ที่ได้จากการศึกษาโดยวิธีอิเลคโตรโฟรีซิสจึงเชื่อมโยงไปถึงความแตกต่างหรือความคล้ายคลึงกันของกลุ่มของยีน (gene pool) เพราะถ้ายีนเปลี่ยนแปลงไป หรือสิ่งมีชีวิตแต่ละตัวที่มี ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ชนิดเดียวกันเปลี่ยนแปลงไป เอนไซม์ที่ตรวจพบจะปรากฏออกมาแตกต่างกัน อาทิเช่น ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ของพืชที่เป็นดิพลอยส์สปีชีส์ (diploid species) เกิดการเปลี่ยนแปลงแบบการเพิ่มจำนวนของตำแหน่งยีน (gene duplication) ที่เป็นยีนโครงสร้าง (structural gene) ทำให้จำนวนไอโซไซม์เพิ่มขึ้นจากเดิม (Gottlieb, 1982) ดังนั้นการศึกษาถึงความแตกต่าง หรือความคล้ายคลึงกันของเอนไซม์ จึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตในระดับชนิดได้ อย่างไรก็ตาม ได้มีข้อเสนอแนะของ Gottlieb (1981) เกี่ยวกับการแปลผลของแบบแผนไอโซไซม์ว่าเป็นเรื่องที่ซับซ้อน

5.3 หลักฐานทางสรีรวิทยา

5.3.1 การศึกษาสรีรวิทยาของพืชสกุลถั่วแปบช้าง

จากผลการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ a, b และ (a+b) ของกันภัย (A. mahidolae) มีค่าเฉลี่ยปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าถั่วแปบช้าง (A. sericea) โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 ทั้งตัวอย่างจากถิ่นอาศัยธรรมชาติ และห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม

Brougham (1960) ได้กล่าวว่าวัตถุที่มีความสำคัญที่สุด ในขบวนการสังเคราะห์แสง คือ คลอโรฟิลล์ และสามารถใช้ปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบเป็นตัวบ่งชี้ถึงความสามารถในการสร้างสารประกอบอินทรีย์ต่าง ๆ ภายในเซลล์ และความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ อาจมีสาเหตุเนื่องจากพืชมีจีโนไทป์แตกต่างกัน สภาพแวดล้อมที่มีธาตุอาหารต่าง ๆ แตกต่างกัน หรือการถูกรบกวนจากศัตรูพืชตลอดจน อุณหภูมิที่แตกต่างกัน และ Troughton (1975) ได้กล่าวว่า ได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายเกี่ยวกับอัตราการสังเคราะห์แสง และได้ลงความเห็นว่า อัตราการสังเคราะห์แสงจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ และในสังคมพืชธรรมชาติหลาย ๆ กลุ่ม ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่มีอยู่ในใบ ก็เพียงพอที่จะดูดซับพลังงานแสงที่สามารถนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง

ในการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ของพืชสกุลถั่วแปบช้าง ครั้งนี้ ได้กำหนดเกณฑ์ว่าเก็บตัวอย่างใบประกอบใบที่ห้านับจากยอดลงมาเพื่อขจัดข้อโต้แย้งที่ว่า ปริมาณหรือสัดส่วนของคลอโรฟิลล์ a หรือ b นั้นจะแปรผันตามปัจจัยอย่างหนึ่ง คือตำแหน่งใบ (Troughton, 1975)

การกระจายพันธุ์ของถั่วแปบช้าง (A. sericea) และกันภัย (A. mahidolae) เป็นการกระจายพันธุ์ในพื้นที่ที่มีระบบนิเวศที่แตกต่างกัน (ecological distribution) โดยบริเวณที่เป็นถิ่นอาศัยของถั่วแปบช้าง ซึ่งอยู่บริเวณที่ราบสูงโคราชนั้น จะมีการกระจายพันธุ์ที่บริเวณพื้นราบที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลประมาณ 120-220 เมตร และในบริเวณที่เป็นภูเขาหรือไหล่เขาที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 340-600 เมตร ส่วนการกระจายพันธุ์ของกันภัยนั้น จะกระจายพันธุ์เป็นบริเวณแคบ ๆ บริเวณภูเขาหินปูน ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 194-245 เมตร จากผลการศึกษา ปริมาณคลอโรฟิลล์ ซึ่งพบว่ากันภัยมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าถั่วแปบช้างนั้น ผลการศึกษาครั้งนี้จะขัดแย้งกับผลการศึกษาของ Chandra และ Todaria (1984) ที่ได้ศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ในพืชสกุล Berberis 5 ชนิดที่กระจายอยู่ตามสภาพภูมิประเทศที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 550-3500 เมตร จากการเก็บตัวอย่างของใบที่ 4 และ 5 จากถิ่นอาศัยธรรมชาติมาวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ ซึ่งพบว่า พืชสกุลนี้สองชนิด ที่มีถิ่นอาศัยที่สูงจากระดับน้ำทะเล 550-1200 เมตร จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์น้อยกว่าอีกสามชนิดที่มีถิ่นอาศัยบริเวณที่มีถิ่นอาศัยที่สูงจากระดับน้ำทะเล 1800-3500 เมตร แต่การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ ของถั่วแปบช้างและกันภัยนั้น จะสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Todaria, Thapliyal และ Purohit (1980);Castrillo (1983) ซึ่งพบว่า พืชที่ปลูกในบริเวณที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลสูงกว่า ทั้งที่เป็นพืชชนิดเดียวกันหรือคนละชนิด จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ a, b และ (a+b) น้อยกว่า พืชที่ปลูกใบบริเวณที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลต่ำกว่า จากผลการศึกษาที่พบความแตก

ต่างกันของปริมาณคลอโรฟิลล์ในพืชที่มีถิ่นอาศัยที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลต่าง ๆ กัน นั้น Henrici (1918) ; Monfort (1948) ; Bjorkman และ Holmgren (1958) อ้างถึงใน Todaria et al. 1980) ได้สรุปผลการศึกษาในทำนองเดียวกันว่า ความแตกต่างของปริมาณรงควัตถุต่าง ๆ (คลอโรฟิลล์,คาร์โรทีนอยด์)ที่พบในพืชชนิดต่าง ๆ นั้น สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงศักยภาพในการปรับตัวของพืชชนิดต่าง ๆ ได้ และจากผลการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ที่เก็บตัวอย่างใบจากพืชที่ปลูกในห้องควบคุมสภาวะแวดล้อมเมื่ออายุได้ 1 เดือน โดยเก็บตัวอย่างใบที่ 5 เช่นเดียวกับตัวอย่างจากถิ่นอาศัยธรรมชาติของพืชทั้งสองชนิดนั้น ผลการศึกษาจะแตกต่างจากผลการศึกษาของ Abulrahman และ Winstead (1977) ที่ศึกษาเปรียบเทียบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ของ Xanthium strumarium ที่เก็บตัวอย่างเมล็ดจาก 6 ประชากรมาปลูกในห้องควบคุมสภาวะแวดล้อมซึ่งพบว่า พืชที่มีถิ่นอาศัยเดิมที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลสูงกว่าจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ จำนวนคลอโรพลาสต์ จำนวนกรานา (grana) ในหนึ่งคลอโรพลาสต์ จำนวนไทลาคอยด์(thylakoid) มากกว่าพืชที่มีถิ่นอาศัยเดิมที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลต่ำกว่า

จากผลการศึกษาของ Abdulrahman และ Winstead (1977) นี้ สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น ที่จะใช้อธิบายการเกิดวิวัฒนาการของพืชที่มีการกระจายพันธุ์ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน โดยพืชเหล่านั้นจะมีความแตกต่างของลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการ เช่นระยะของการออกดอก ซึ่ง Thaveesakdi Boonkerd (1987) พบว่า Primula farinosa จาก2 ประชากรมีระยะเวลาการออกดอกแตกต่างกัน หรือ Milner และ Hiesey (1964) พบว่าพืชที่อยู่ในถิ่นอาศัยต่างกันมีอัตราการสังเคราะห์แสงที่แตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาปริมาณคลอโรฟิลล์ ซึ่ง Troughton (1975) ได้รายงานว่าอัตราการสังเคราะห์แสงจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ลดลงจากเดิม นั้น จากข้อมูลเหล่านี้ทำให้สามารถตั้งข้อสังเกตได้ว่า กันภัย (A. mahidolae) ซึ่งมีความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์มากกว่าถั่วแปบช้าง (A. sericea) นั้น จะมีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงกว่าถั่วแปบช้าง ซึ่งข้อสันนิษฐานนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาปริมาณ soluble โปรตีน โดย soluble โปรตีนที่มีอยู่ในเซลล์ของพืชที่เป็นเอนไซม์ อาทิเช่น glucose-6-phosphate dehydrogenase glutamate dehydrogenase pyrroline-5-carboxylate reductase ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้มีความสำคัญต่อขบวนการเมตาโบลิซึมในพืช (Corcuera,Hintz และPahlichm,1989) รวมถึงน้ำหนักแห้งใบ ความยาวลำต้นของกันภัยที่มีค่าเฉลี่ยมากกว่าถั่วแปบช้าง เช่นเดียวกันกับค่า RGR และค่า NAR ซึ่งเป็นค่าที่ Gregory (1918) อ้างถึงใน Hunt (1982) ได้เสนอว่าเป็นค่าแสดงถึงความสามารถในการเจริญเติบโตของพืชแต่ละชนิด ซึ่งพบว่า ค่าเฉลี่ย RGR และ

NAR ของกันภัย จะมากกว่าถั่วแปบช้าง และการเจริญเติบโตของถั่วแปบช้าง ที่ปลูกในดินจากอำเภอไทรโยค จะมีอัตราการเจริญเติบโตได้ดีกว่าถั่วแปบช้าง ที่ปลูกในดินจากถิ่นอาศัยของถั่วแปบช้าง หรือ ชุดทดลอง SK จะมีอัตราการเจริญเติบโตที่กว่า SS เช่นเดียวกันกับ กันภัยที่ปลูกในดินจากถิ่นอาศัยของกันภัยเอง (MK) จะมีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่า กันภัยที่ปลูกในดินจากสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช (MS) จากข้อมูลนี้สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ดิน จากทั้งสองบริเวณ ที่พบว่าดินจากอำเภอไทรโยคมีธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชคือ ไนโตรเจน (N) และโปตัสเซียม (K) มีค่าเฉลี่ยมากกว่าดินจากสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช ส่วนธาตุฟอสฟอรัส (P) จะมีค่าเฉลี่ยมากกว่า และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01

ข้อสังเกตอีกประการหนึ่งคือ การเจริญเติบโตของกันภัย ซึ่งมีระยะเวลาการเจริญเติบโต (growing season) สั้นกว่าถั่วแปบช้าง โดยถั่วแปบช้าง ออกดอกประมาณเดือนพฤษภาคม ถึง กุมภาพันธ์ (10 เดือน) และมีระยะเวลาติดผลระหว่างเดือน กรกฎาคม ถึง กุมภาพันธ์ ส่วนกันภัยนั้นออกดอกประมาณเดือน พฤษภาคม ถึง พฤศจิกายน (7 เดือน) และมีระยะเวลาการติดผลระหว่างเดือน กรกฎาคม ถึง พฤศจิกายน หลังจากระยะเวลาการติดผลแล้วพืชทั้งสองชนิดในสภาพธรรมชาติ ใบและลำต้น จะแห้งตายซึ่งเป็นช่วงที่จะเข้าสู่ฤดูร้อน จากข้อสังเกตนี้จะสอดคล้องกับการศึกษาของ Mc Naughton (1967) ซึ่งพบว่าพืชที่เป็น "ecological races" ที่มีถิ่นอาศัยในสภาพแวดล้อมต่างกันนั้น พืชที่มีระยะเวลาการเจริญเติบโตสั้นกว่า จะมีการเจริญเติบโตดีกว่า มีผลผลิตมวลรวมมากกว่าพืชที่มีระยะเวลาการเจริญเติบโตที่ยาวนานกว่า Abdulrahman และ Winstead (1977) ยังพบว่าประชากรของพืชที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์มากจะมีระยะเวลาการเจริญเติบโตสั้นกว่าประชากรของพืชที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์น้อยกว่า ซึ่ง Abdulrahman และ Winstead ได้อธิบายถึงเหตุผลว่า ประชากรตามธรรมชาติของพืชที่มีถิ่นอาศัยที่มีระยะเวลาการเจริญเติบโตสั้น พืชจะมีกลไกที่จะเพิ่มผลผลิตมวลรวมให้มากกว่าเพื่อชดเชยกับระยะเวลาการเจริญเติบโตที่สั้นกว่าปกติ ดังนั้น กันภัยซึ่งมีระยะเวลาการเจริญเติบโตสั้นกว่าถั่วแปบช้าง จึงมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่ามีผลผลิตมวลรวม ปริมาณคลอโรฟิลล์ ปริมาณ soluble โปรตีน มากกว่าถั่วแปบช้าง