

การจำแนกพืชสกุล *Caulokaempferia* K. Larsen (วงศ์ขิง) โดยการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจากข้อมูลทางชีววิทยาระดับโมเลกุล (Classification of the genus *Caulokaempferia* K. Larsen (Zingiberaceae) based on the molecular phylogenetic analysis)

ดวงกมล ทองอร่าม (Duangkamol Thong-a-ram)¹

วุฒิพงษ์ มหาคำ (Wuttipong Mahakham)¹

คทาวุธ นามดี (Katawut Namdee)²

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชในวงศ์ย่อย Zingiberoideae จากลำดับนิวคลีโอไทด์ในไรโบโซมอลดีเอ็นเอ บริเวณ Internal transcribed spacer (ITS-1, 5.8S และ ITS-2) ด้วยวิธี Maximum Parsimony โดยใช้โปรแกรม PAUP* 4.0b10 เพื่อใช้ระบุตำแหน่งทางอนุกรมวิธานที่แน่นอนของพืชในสกุล *Caulokaempferia* จัดพืชสกุล *Caulokaempferia* เป็น polyphyletic group ที่มี *C. violacea* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ *Boesenbergia rotunda* ในขณะที่ *C. appendiculata*, *C. coenobialis*, *C. saxicola* และ *C. sp.* อยู่ในเคลดเดียวกันของสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ได้ การเพิ่ม *C. appendiculata* เข้าในกลุ่มแตกขาที่วิเคราะห์ในการวิจัยนี้ไม่สามารถจัด *Caulokaempferia* เข้าไว้ในเผ่าใดได้ แต่ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นความเป็นไปได้ที่กลุ่มของ *Caulokaempferia* ชนิดที่มีดอกสีเหลือง อาจจัดเป็นเผ่าใหม่

Abstract

The phylogenetic analysis of the subfamily Zingiberoideae was revised, using nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS-1, 5.8S, and ITS-2) sequences in attempt to clarify the taxonomic position of the genus *Caulokaempferia*. The Maximum Parsimony analysis conducted using PAUP* 4.0b10 resulted in *Caulokaempferia* being polyphyletic group with *C. violacea* allied to *Boesenbergia rotunda*, whereas *C. appendiculata*, *C. coenobialis*, *C. saxicola* and *C. sp.* are placed within the same clade. The addition of *C. appendiculata* failed to resolve the placement of the genus into any tribe. It interestingly guides to the possibility of placing the yellow-flowered group of species to a new tribe.

คำสำคัญ: *Caulokaempferia* พืชวงศ์ขิง สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ Internal transcribed spacer

Keywords: *Caulokaempferia*, Zingiberaceae, phylogeny, internal transcribed spacer

¹อาจารย์ ศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญยิ่งในการศึกษาชีววิทยาอย่างเป็นระบบ ทั้งในการศึกษาชีววิทยาพื้นฐานและชีววิทยาประยุกต์ ตัวอย่างเช่น สิ่งมีชีวิตที่จัดอยู่ในตำแหน่งทางอนุกรมวิธานเดียวกันต้องมีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกันมากกว่าสิ่งมีชีวิตที่ถูกจัดอยู่คนละกลุ่ม และการทำนายหน้าที่ของโปรตีนจากลำดับดีเอ็นเอของยีนนั้นจะกระทำได้อย่างถูกต้องมากยิ่งขึ้นหากว่าเป็นการทำนายจากข้อมูลเกี่ยวกับหน้าที่ของยีนที่สนใจในสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งที่มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดกับสิ่งมีชีวิตที่ศึกษาซึ่งได้มีการรายงานไว้แล้วมากกว่าที่จะพิจารณาจากความคล้ายคลึงของลำดับดีเอ็นเอในยีนนั้นเพียงอย่างเดียว และเนื่องจากลักษณะของสิ่งมีชีวิตเป็นผลจากการแสดงออกของยีนในสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น ๆ การศึกษาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอจากสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ จึงเป็นข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์หาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างสิ่งมีชีวิตกลุ่มที่ศึกษาได้

การใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในไรโบโซม - มอลดีเอ็นเอ (ribosomal DNA (rDNA)) บริเวณ Internal transcribed spacer (ITS) และ plastid *matK* ในการศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการและใช้ข้อมูลดังกล่าวในการจำแนกพืชในวงศ์ขิงทำให้จำแนกพืชวงศ์นี้ได้เป็น 4 วงศ์ย่อย (Kress et al., 2002) ได้แก่ วงศ์ย่อย Siphonochiloideae มี 1 เผ่า *Siphonochileae* และ 1 สกุล *Siphonochilus* วงศ์ย่อย Tamijioideae มี 1 เผ่า *Tamijieae* และ 1 สกุล *Tamijia* วงศ์ย่อย Alpinioideae มีสมาชิก 2 เผ่า คือเผ่า *Alpinieae* มี 16 สกุล และเผ่า *Riedelieae* มี 4 สกุล ซึ่งสกุล *Siliquamomum* มีตำแหน่งทางอนุกรมวิธานที่ไม่แน่นอน (*incertae sedis*) และวงศ์ย่อย Zingiberoideae มีสมาชิก 2 เผ่า ได้แก่ เผ่า *Zingibereae* มี 25 สกุล และเผ่า *Globbeae* มี 4 สกุล วงศ์ย่อย Zingiberoideae มีพืชสกุล *Caulokaempferia* ที่มีตำแหน่งทางอนุกรมวิธานที่

ไม่แน่นอน ไม่สามารถจัดไว้ในเผ่า *Zingibereae* หรือ *Globbeae* ได้ พืชสกุล *Caulokaempferia* (เปราะภู) เป็นพืชสกุลที่มีการจำแนกออกมาจากสกุล *Kaempferia* (Larsen, 1964) มีการแพร่กระจายในบริเวณทวีปเอเชียเขตร้อนชื้น (Larsen and Jenjittikul, 2004) ในประเทศไทยมีพืชสกุล *Caulokaempferia* ทั้งหมด 11 ชนิด (Larsen, 2002; Larsen and Jenjittikul, 2004; Pichansoonthon and Mookamul, 2004; Sukkathan and Triboun, 2004) ในบริเวณเทือกเขาทางตอนเหนือและที่ราบสูงโคราช งานวิจัยของ Kress et al. (2002) ใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอจากพืชสกุล *Caulokaempferia* 3 ชนิด ซึ่งเป็นชนิดที่มีดอกสีเหลืองเท่านั้น ทั้ง 3 ชนิดจัดเป็น monophyletic group กันในสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ได้ Ngamriabsakul et al. (2004) วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์จากดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ ได้แก่ *trnL-F* ร่วมกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ rDNA ITS ในการสร้างสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชสกุล *Caulokaempferia* โดยใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอจากพืช *C. violacea* ซึ่งเป็นชนิดที่มีดอกสีม่วง พบว่าพืชสกุลนี้มีสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดกับสกุล *Boesenbergia* ซึ่งเป็นความใกล้ชิดทางวิวัฒนาการที่ไม่สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ของ Kress et al. (2002) การวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์จะให้ผลที่น่าเชื่อถือมากขึ้นหากมีจำนวนแทกซา (taxa) ที่นำมาวิเคราะห์จำนวนมาก เนื่องจากการมีตำแหน่งที่ให้ข้อมูล (informative characters) ในการวิเคราะห์มากขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชในวงศ์ย่อย Zingiberoideae และใช้ผลการวิเคราะห์ในการระบุตำแหน่งทางอนุกรมวิธานของพืชในสกุล *Caulokaempferia* โดยงานวิจัยนี้ใช้ข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ rDNA ITS จากพืชสกุล *Caulokaempferia* 5 ชนิด เป็นชนิดที่มีดอกสีม่วง 1 ชนิด และชนิดที่มีดอกสีเหลือง 4 ชนิด

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. ตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างพืชสกุล *Caulokaempferia* จากบริเวณต่างๆ ที่มีรายงานการสำรวจพบจำนวน 9 ชนิด ตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ในรายงานวิจัยนี้ได้แก่ *C. appendiculata* เก็บตัวอย่างพืชสำหรับการสกัดดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -70°C จนกว่าจะใช้งาน

2. ลำดับ rDNA ITS ที่ใช้รวมวิเคราะห์

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ rDNA ITS ของพืชในวงศ์ย่อย Zingiberoideae 47 แทกซา (45 ชนิด) และพืชในสกุล *Caulokaempferia* 4 แทกซา (4 ชนิด) ที่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อหาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเป็นข้อมูลจากฐานข้อมูล GenBank มี accession number ดังแสดงในตารางที่ 1

3. การเลือก outgroup

ใช้พืชในสกุล *Siphonochilus* เป็น outgroup เนื่องจากการคงไว้ของนิวคลีโอไทด์ 12 ลำดับด้านปลาย 3' ของยีน *matK* ในคลอโรพลาสต์ ในขณะที่นิวคลีโอไทด์ 12 ลำดับนี้เกิดการขาดหายไป (deletion) ในพืชวงศ์ขิงสกุลอื่นทั้งหมด พืชสกุล *Siphonochilus* จึงจัดเป็น basal lineage ของพืชวงศ์ขิง (Kress et al., 2002) ลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ rDNA ITS ของพืชสกุล *Siphonochilus* 3 แทกซา (3 ชนิด) ที่ใช้เป็น outgroup เป็นข้อมูลจากฐานข้อมูล GenBank มี accession number ดังแสดงในตารางที่ 1

4. การสังเคราะห์ rDNA ITS ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR: Polymerase chain reaction) และการหาลำดับนิวคลีโอไทด์

สกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อส่วนใบของพืชด้วยวิธี CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide) ดัดแปลงจากวิธีของ Doyle and Doyle (1987) ใช้ดีเอ็นเอที่สกัดได้เป็นต้นแบบสำหรับการสังเคราะห์ rDNA โดยเทคนิคพีซีอาร์ โพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยาได้แก่ ITS1 และ ITS4 ซึ่งมีลำดับดังนี้ (Urbatsch et al., 2000 และ White et al., 1990 อ้างถึงใน Lee et al., 2002)

ITS1: 5'GTCCACTGAACCTTATCATTTAG-3'

ITS4: 'TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'

กำหนดขั้นตอน pre-denaturation ที่ 94°C เป็นเวลา 4 นาที แล้วให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ในขั้นตอน denaturation, annealing และ polymerization จำนวน 45 รอบ โดยกำหนดขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C เป็นเวลา 1 นาที ขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 1 นาที และขั้นตอน polymerization ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 2 นาที ขั้นตอนสุดท้ายได้แก่ final polymerization กำหนดที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 4 นาที ทำการตรวจสอบผลการสังเคราะห์ rDNA ITS บนอะกาโรสเจลด้วยวิธีเจลอิลเล็กโตรโฟรีซิสเทียบกับ 100 bp DNA marker โดยผลที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ที่ต้องการคือดีเอ็นเอที่มีขนาดเท่ากับ rDNA ITS คือประมาณ 700 bp ตกตะกอนตัวอย่างดีเอ็นเอจากปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่มีขนาดถูกต้องด้วยเอทานอล ส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอเทคโนโลยี (ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

5. การวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

ทำการเรียงเทียบ (alignment) ลำดับนิวคลีโอไทด์จากบริเวณ rDNA ITS เฉพาะส่วนของ ITS1, 5.8S และ ITS2 ของพืช 55 แทกซาโดยใช้โปรแกรม ClustalX (Thomson et al., 1997) โดยตั้งค่าพารามิเตอร์ในการทำ pairwise alignment ดังนี้ ค่า gap opening penalty เท่ากับ 10.00 และ gap extension penalty เท่ากับ 0.10 ตั้งค่าพารามิเตอร์ในการทำ multiple alignment ดังนี้ ค่า gap opening penalty เท่ากับ 15.00 และ gap extension penalty เท่ากับ 0.30 ไฟล์ที่ได้ใช้เป็น input file สำหรับการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ปรับแต่งผลการเรียงเทียบที่ได้ด้วยโปรแกรม BioEdit (Hall, 2005) นำผลการปรับเปลี่ยนจาก BioEdit ไปแก้ไข input file สำหรับการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

ด้วยโปรแกรม PAUP*4.0b10 (Swofford, 2000) ทำการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยวิธี Maximum Parsimony หาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยวิธี Heuristic search แบบ Stepwise-addition จำนวน 100 ครั้ง จากนั้นเลือก Consensus tree ที่ 50% majority rule วิเคราะห์หาค่า Bootstrap จำนวน 100 ซ้ำของการสุ่มดึงลำดับนิวคลีโอไทด์ออกในการวิเคราะห์แต่ละครั้ง ค่า Bootstrap มีความสัมพันธ์กับความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ค่า Bootstrap 85-100% แสดงถึงความเชื่อมั่นระดับสูง ค่า Bootstrap 71-84% แสดงถึงความเชื่อมั่นระดับปานกลาง ค่า Bootstrap 50-70% แสดงถึงความเชื่อมั่นระดับต่ำของสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ได้ (Richardson et al., 2000)

ผลการวิจัย

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ rDNA ITS จำนวน 55 แทกซา ที่นำมาเรียงเทียบโดยโปรแกรม ClustalX มีความยาวอยู่ในช่วง 704-743 คาร์แรกเตอร์ (character) การปรับแต่งผลการเรียงเทียบด้วยโปรแกรม BioEdit ทำให้เหลือความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 55 แทกซา ใน input file สำหรับการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยโปรแกรม PAUP*4.0b10 เพียง 621 คาร์แรกเตอร์ โดยนับ gap ที่เกิดขึ้นเป็นคาร์แรกเตอร์ที่หายไปเนื่องจากการขาดหายไป (deletion) หรือการแทรกเข้ามา (insertion) ของนิวคลีโอไทด์ และให้นำหน้าหั่นคะแนนทุกคาร์แรกเตอร์เท่ากัน ในคาร์แรกเตอร์ที่ใช้วิเคราะห์ทั้งหมด 621 คาร์แรกเตอร์ เป็นคาร์แรกเตอร์ที่เหมือนกันในทุกแทกซา (constant characters) เท่ากับ 280 คาร์แรกเตอร์ (45.09%) เป็นคาร์แรกเตอร์ที่มีความผันแปรในแต่ละแทกซา (variable characters) เป็นจำนวน 60 คาร์แรกเตอร์ (12.88%) จำนวนคาร์แรกเตอร์ทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์ (informative characters) แบบ Maximum Parsimony เท่ากับ 261 คาร์แรกเตอร์ (42.03%) ค่า consistency index (CI) เท่ากับ 0.5005

ค่า retention index (RI) เท่ากับ 0.7058 ค่า Rescaled consistency index (RC) เท่ากับ 0.3533 ได้แผนภูมิแสดงสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ที่เกิดจากความแตกต่างของแทกซาที่มีจำนวนครั้งของการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด (most parsimonious trees) ทั้งหมด 3 สายสัมพันธ์ ภาพที่ 1 แสดงสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการซึ่งเป็น Consensus tree ที่ 50% majority rule

จากแผนภูมิแสดงสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (ภาพที่ 1) พบว่า แทกซาที่เป็น outgroup และแทกซาที่เป็น ingroup แยกออกจากกันด้วยค่า Bootstrap 100% ในกลุ่มแทกซาที่เป็น ingroup จำนวน 52 แทกซา พืชในสกุล *Caulokaempferia* 4 ชนิดจัดอยู่ในเคลดเดียวกัน และแยกออกจากพืชอื่นในวงศ์ย่อย Zingiberoideae 47 แทกซาที่เหลือ และ *C. violacea* 1 แทกซา โดยมีค่า Bootstrap 100% ซึ่งเป็นค่า Bootstrap ที่แสดงว่าการจัดแยกออกมาของเคลดดังกล่าวมีความเชื่อมั่นอยู่ในระดับสูง พืชสกุล *Caulokaempferia* ทั้ง 4 ชนิดนี้ได้แก่ *C. appendiculata*, *C. coenobialis*, *C. saxicola* และ *C. sp.* อย่างไรก็ตาม จากสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการพบว่า พืชในสกุล *Caulokaempferia* ทั้ง 5 ชนิดที่ใช้ศึกษาในงานวิจัยนี้แสดงความเป็น polyphyletic group โดยมี *C. violacea* แสดงความใกล้ชิดทางวิวัฒนาการกับ *Boesenbergia rotunda* ที่ความเชื่อมั่นในระดับสูง มีค่า Bootstrap 100%

สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ได้จากการศึกษา ยังไม่สามารถจัดพืชในสกุล *Caulokaempferia* ไว้ในตำแหน่งอนุกรมวิธานที่แน่นอนได้ เนื่องจากพืชในสกุลนี้ไม่ได้แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดกับทั้งพืชในเผ่า Zingibereae หรือพืชในเผ่า Globbeae

ภายในกลุ่มของพืชในวงศ์ย่อย Zingiberoideae นั้น พืชในเผ่า Globbeae จัดอยู่ในเคลดเดียวกันจึงเป็นกลุ่ม monophyletic และถึงแม้ว่าพืชเผ่าดังกล่าวจะมีความใกล้ชิดกับพืชในเผ่า Zingibereae จำนวน 30 ชนิดมากกว่าพืชในเผ่า Zingibereae สกุล *Camptandra*, *Curcuma*, *Hitchenia*, *Pyrgophyllum*, *Smithatris* และ

Stahlianthus การแยกของ 3 เคลดนี้ (A, B และ C ในภาพที่ 1) มีค่า Bootstrap ที่ต่ำกว่า 50% จึงถือว่ามีความเชื่อมั่นในระดับที่ต่ำ ในรายงานอื่น (Kress et al., 2002) ซึ่งวิเคราะห์ข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ rDNA ITS และ *matK* ร่วมกัน แม้พืชสองเผ่านี้จัดแยกออกจากกัน แต่การแยกออกของเคลดเป็นการแยกด้วยความเชื่อมั่นในระดับต่ำเช่นกัน

สรุปและวิจารณ์ผล

ในรายงานที่มีมาก่อนเกี่ยวกับการศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยใช้ข้อมูลชีววิทยาระดับโมเลกุลของพืชในสกุล *Caulokaempferia* พบความไม่สอดคล้องของสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชสกุลนี้กับพืชสกุลอื่น ในรายงานของ Kress et al. (2002) พืชสกุล *Caulokaempferia* มีการจัดแยกออกเป็นกลุ่ม monophyletic ในขณะที่ Ngamriabsakul et al. (2004) รายงานความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกันระหว่าง *Caulokaempferia* กับ *Boesenbergia* ความไม่สอดคล้องของผลการศึกษานี้ไม่สามารถนำไปสู่ข้อสรุปที่ชัดเจนได้ เนื่องจากทั้งสองงานวิจัยใช้พืชสกุล *Caulokaempferia* คนละชนิดกัน Kress et al. (2002) ศึกษา *Caulokaempferia* 3 ชนิด ซึ่งเป็นชนิดที่มีดอกสีเหลืองเท่านั้น ส่วน Ngamriabsakul et al. (2004) ศึกษาชนิดที่มีดอกสีม่วง 1 ชนิด ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้เพิ่มจำนวนแทกซาของพืชสกุล *Caulokaempferia* เข้าในการวิเคราะห์ และวิเคราะห์ข้อมูลจากชนิดที่มีดอกสีเหลืองและดอกสีม่วงร่วมกัน พืชสกุล *Caulokaempferia* ที่ใช้ในการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจำนวน 5 ชนิด มี 4 ชนิดที่มีดอกสีเหลือง ได้แก่ *C. appendiculata*, *C. coenobialis*, *C. saxicola* และ *C. sp.* และมี 1 ชนิดที่มีดอกสีม่วง ได้แก่ *C. violacea* สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ได้จากการวิเคราะห์จัด *Caulokaempferia* ชนิดที่มีดอกสีเหลืองไว้ในเคลดเดียวกัน แยกออกจากพืชอื่นในวงศ์ย่อย Zingiberoideae ในขณะที่ชนิดที่มีดอกสีม่วงถูกจัดแยกออกไปจากกลุ่มดอกสีเหลือง

ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่ *Caulokaempferia* ชนิดที่มีดอกสีเหลืองจะได้รับการเสนอให้จัดเป็นเผ่าใหม่ ข้อมูลที่จะช่วยสนับสนุนข้อเสนอนี้จะได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลของพืชสกุลนี้จำนวนมากชนิดขึ้นเพื่อยืนยันสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชกลุ่มนี้ ซึ่งเป็นงานที่กำลังอยู่ในระหว่างการดำเนินงานของกลุ่มวิจัยเดียวกันนี้

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนโครงการจากศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น รหัสโครงการ ATRC_R4716 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศ.ดร.ประนอม จันทโรทัย และคุณปราโมทย์ ไตรบุญ สำหรับความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างและระบุชนิดพืช

เอกสารอ้างอิง

- Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin** 19: 11-15.
- Hall, T. 2005. **BioEdit: Biological sequence alignment editor for Win95/98/NT/2K/XP**. Version 7.0.4. Ibis Therapeutics, Carlsbad, California.
- Kress, W. J., Prince, L. M. and Williams, K. J. 2002. The phylogeny and a new classification of the Gingers (Zingiberaceae): Evidence from molecular data. **American Journal of Botany** 89(11): 1682-1696.
- Larsen, K. 1964. Studies on Zingiberaceae IV: *Caulokaempferia*, a new genus. **Botaniska Tidsskrift** 60(3): 165-179.
- Larsen, K. 2002. Three new species of *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) from Thailand with a discussion of the generic diversity. **Nordic Journal of Botany** 22(4): 409-418.

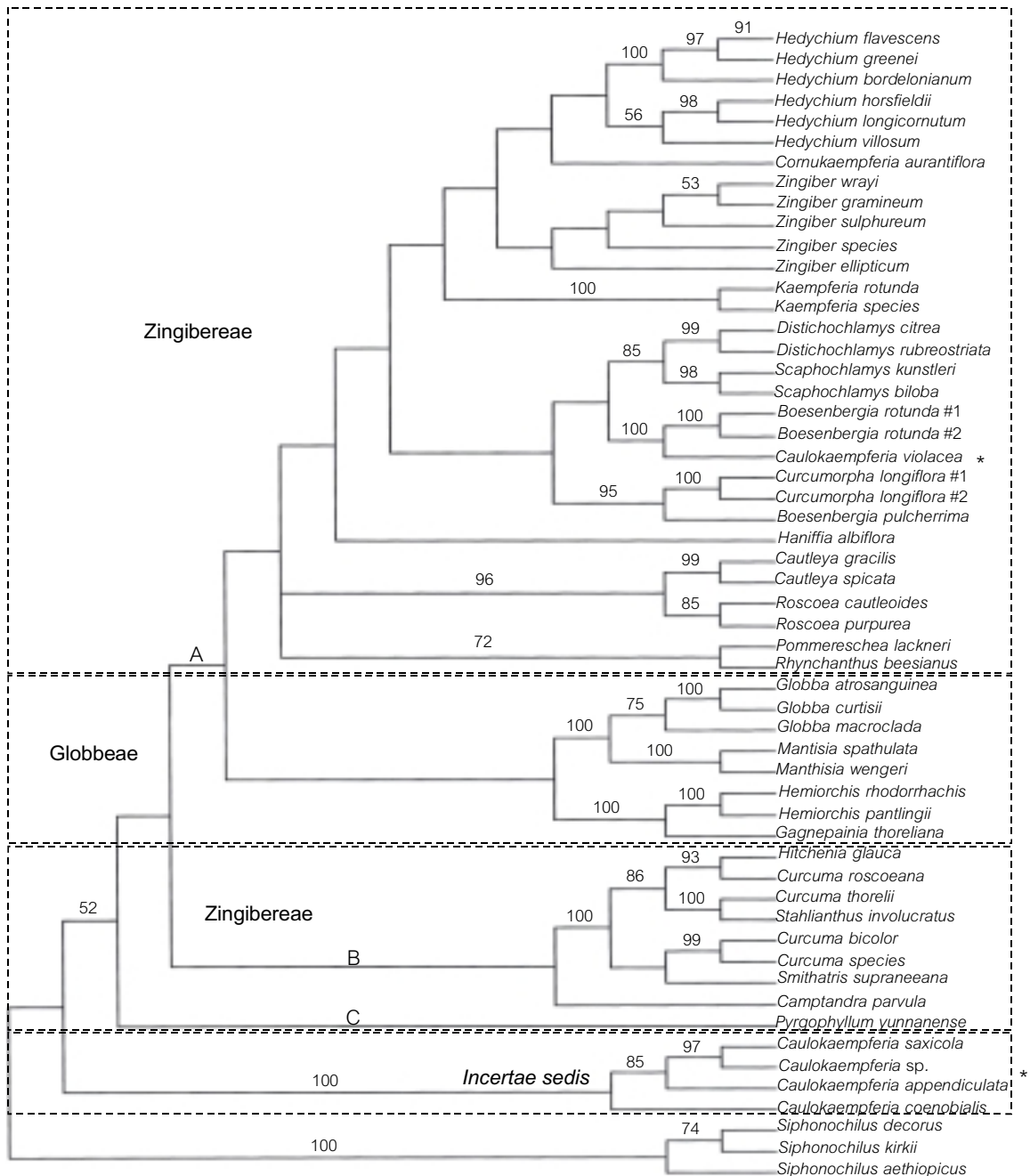
- Larsen, K. and Jenjittikul, T. 2004. A new species of *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) from Laos. **Edinburgh Journal of Botany** 60(3): 509-512.
- Lee, J., Baldwin, B. G. and Gottlieb, L. D. 2002. Phylogeny of *Stephanomeria* and related genera (Compositae-Lactuceae) based on analysis of 18S-26S nuclear rDNA ITS and ETS sequences. **American Journal of Botany** 89(1): 160-168.
- Ngamriabsakul, C., Newman, M. F. and Cronk, Q. C. B. 2004. The phylogeny of tribe *Zingibereae* (Zingiberaceae) based on ITS (nrDNA) and *trnL-F* (cpDNA) sequences. **Edinburgh Journal of Botany** 60(3): 483-507.
- Picheansoonthon, C. and Mookamul, P. 2004. Two new *Caulokaempferia* taxa (Zingiberaceae) from northeastern Thailand. **Folia Malaysiana** 5(2): 69-80.
- Richardson, J. E., Fay, M. F., Cronk, Q. C. B., Bowman, D. and Chase, M. W. 2000. A phylogenetic analysis of Rhamnaceae using *rbcl* and *trnL-F* plastid DNA sequences. **American Journal of Botany** 87: 1309-1324.
- Suksathan, P. and Triboun, P. 2004. A new species of *Caulokaempferia* (Zingiberaceae) from Thailand. **Edinburgh Journal of Botany** 60(3): 513-516.
- Swofford, D.L. 2000. **PAUP*, Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods)**, Version 4. Sinauer associates, Sunderland, Massachusetts.
- Thomson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D. G. 1997. The Clustal_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research** 25: 4876-4882.

ตารางที่ 1 Accession number ของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ rDNA ITS ของพืชในวงศ์ย่อย Zingiberoideae พืชในสกุล *Caulokaempferia* และพืชในสกุล *Siphonochilus* จากฐานข้อมูล GenBank

	พืช	GenBank accession number
วงศ์ย่อย Zingiberoideae		
เผ่า Zingibereae		
	<i>Boesenbergia pulcherrima</i>	AF478725
	<i>Boesenbergia rotunda</i> #1	AF478726
	<i>Boesenbergia rotunda</i> #2	AF478727
	<i>Camptandra parvula</i>	AF478730
	<i>Cautleya gracilis</i>	AF478734
	<i>Cautleya spicata</i>	AF478735
	<i>Curcuma bicolor</i>	AF478737
	<i>Curcuma roscoeana</i>	AF478739
	<i>Curcuma species</i>	AF478740
	<i>Curcuma thorelii</i>	AF478741
	<i>Curcumorpha longiflora</i> #1	AF478742
	<i>Curcumorpha longiflora</i> #2	AF478743
	<i>Cornukaempferia aurantiflora</i>	AF478736
	<i>Distichochlamys citrea</i>	AF478744

ตารางที่ 1 Accession number ของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ rDNA ITS ของพืชในวงศ์ย่อย Zingiberoideae พืชในสกุล *Caulokaempferia* และพืชในสกุล *Siphonochilus* จากฐานข้อมูล GenBank (ต่อ)

	พืช	GenBank accession number
	<i>Distichochlamys rubreostriata</i>	AF478745
	<i>Haniffia albiflora</i>	AF478756
	<i>Hedychium bordelonianum</i>	AF478757
	<i>Hedychium flavescens</i>	AF478758
	<i>Hedychium greenii</i>	AF478759
	<i>Hedychium horsfieldii</i>	AF478760
	<i>Hedychium longicornutum</i>	AF478761
	<i>Hedychium villosum</i>	AF478762
	<i>Hitchenia glauca</i>	AF478765
	<i>Kaempferia rotunda</i>	AF478767
	<i>Kaempferia species</i>	AF478768
	<i>Pommereschea lackneri</i>	AF478776
	<i>Pyrgophyllum yunnanense</i>	AF478777
	<i>Rhynchanthus beesianus</i>	AF478784
	<i>Roscoea cautleoides</i>	AF478786
	<i>Roscoea purpurea</i>	AF478787
	<i>Scaphochlamys biloba</i>	AF478788
	<i>Scaphochlamys kunstleri</i>	AF478789
	<i>Zingiber ellipticum</i>	AF478799
	<i>Zingiber gramineum</i>	AF478800
	<i>Zingiber species</i>	AF478803
	<i>Zingiber sulphureum</i>	AF478801
	<i>Zingiber wrayi</i>	AF478802
	<i>Smithatris supraneeana</i>	AF478795
	<i>Stahlianthus involucratus</i>	AF478796
เผ่า Globbeae	<i>Gagnepainia thoreliana</i>	AF478752
	<i>Globba atrosanguinea</i>	AF478753
	<i>Globba curtisii</i>	AF478754
	<i>Globba macroclada</i>	AF478755
	<i>Hemiorchis pantlingii</i>	AF478764
	<i>Hemiorchis rhodorrhachis</i>	AF478763
	<i>Mantisia spathulata</i>	AF478769
	<i>Manthisia wengeri</i>	AF478770
สกุล <i>Caulokaempferia</i>	<i>C. coenobialis</i>	AF478731
	<i>C. saxicola</i>	AF478732
	<i>C. violacea</i>	AY424748
	<i>C. sp.</i>	AF478733
สกุล <i>Siphonochilus</i>	<i>S. aethiopicus</i>	AF478792
	<i>S. decorus</i>	AF478793
	<i>S. kirkii</i>	AF478794



ภาพที่ 1 Consensus tree ที่ 50% majority rule ของสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่เกิดจากความแตกต่างของ
 แทกซาเป็นจำนวนลำดับน้อยที่สุดทั้งหมด 3 สายสัมพันธ์ ตัวเลขบนแต่ละเคลดแสดงค่า Bootstrap
 (ค่า Bootstrap ที่น้อยกว่า 50% ไม่ได้แสดงไว้ในสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการนี้)

* แสดงตำแหน่งของพืชสกุล *Caulokaempferia*