

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความแปรผันของพืชในธรรมชาติอาจเกิดจากสภาพแวดล้อม(environment variation) พันธุกรรม (genetic variation) หรือพัฒนาการของพืชเอง (development variation) ก็ได้ อันเป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดความหลากหลายและความซับซ้อนของพันธุ์พืชชนิดต่างๆ ซึ่งนอกจากจะเป็นพื้นฐานของวิวัฒนาการแล้วยังอาจก่อให้เกิดปัญหาในการจัดกลุ่มหรือการจำแนกชนิดของพืชได้ (Jones และ Luchsinger, 1987) นักชีววิทยาจึงได้นำวิธีการศึกษาด้านชีวอนุกรมวิธานมาใช้ในการแก้ปัญหาทางด้านอนุกรมวิธานโดยใช้ข้อมูลทั้งทางด้านสัณฐานวิทยา (morphology) ด้านกายวิภาคศาสตร์ (anatomy) เซลล์วิทยา (cytology) พันธุศาสตร์ (genetics) เรณูวิทยา (palynology) สรีรวิทยา (physiology) นิเวศวิทยา (ecology) บรรพพฤกษวิทยา (palaeobotany) และองค์ประกอบทางเคมี (chemosystematics) มาประมวลผลด้วยวิธีการทางสถิติทำให้สามารถจัดจำแนกหรือกำหนดสถานะทางอนุกรมวิธานของสิ่งมีชีวิตได้

ในปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคการศึกษาด้านชีวอนุกรมวิธานมาใช้ในการแก้ปัญหาทางด้านอนุกรมวิธานของสิ่งมีชีวิตอย่างแพร่หลาย สรุปได้ดังนี้

ปรีชา ประเทพา (2533) ศึกษาวิเคราะห์พันธุศาสตร์ของถั่วแปบช้าง (*Afgekia sericea* Craib) และกันภัย (*Afgekia mahidolae* Burt & Chermisrivatthana) เพื่อหาความสัมพันธ์ด้านวิวัฒนาการของพืชทั้งสองชนิดนี้โดยการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยา ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการและลักษณะทางเซลล์พันธุศาสตร์ พบว่าสามารถใช้ลักษณะสัณฐานวิทยา 16 ลักษณะในการจัดจำแนกพืชทั้งสองชนิดนี้ได้ โดยข้อมูลด้านสัณฐานวิทยาและด้านเซลล์พันธุศาสตร์แสดงให้เห็นว่าพืชสองชนิดนี้มีสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้เคียงกัน ส่วนข้อมูลด้านสรีรวิทยาแสดงให้เห็นว่าในอดีตพืชทั้งสองชนิดนี้ได้ผ่านการปรับตัวให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมของแต่ละถิ่นอาศัยมาแล้ว

ต่อศักดิ์ สีลานันท์ (2535) ทำการศึกษาไปโอซิสเทมาติกส์ของโคลงเคลงขน *Melastoma villosum* Lodd. ในประเทศไทยโดยใช้วิธี numerical taxonomy ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของลำต้น ใบ ดอก เรณู และเมล็ด ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ปัจจัย การวิเคราะห์จัดกลุ่มและการวิเคราะห์จัดจำแนกพบว่าความแปรผันภายในประชากรและระหว่างประชากร

โคลงเคลงชนซึ่งพบกระจายอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยยังไม่มากพอที่จะแยกประชากรโคลงเคลงชนเป็นระดับต่ำกว่าชนิดหรือเป็นชนิดใหม่ได้ ส่วนการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์ peroxidase กับ esterase ของประชากรโคลงเคลงชน พบว่ามีความแปรผันทางพันธุกรรมภายในประชากรเดียวกันมาก ซึ่งน่าจะเกิดจากการผสมข้ามประชากรโดยแมลง ทำให้ความแปรผันระหว่างประชากรน้อยลง

รสริน พลวัฒน์ (2539) ศึกษาไบโอซิสเทมาติกส์ของประชากรเฟิร์นลันกูร์ม *Pyrrhosia eberhardtii* (Christ) Ching ในประเทศไทย โดยใช้วิธี numerical taxonomy ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของใบ ลำต้น สเกล ลักษณะกายวิภาคของใบ ลำต้นและโครงสร้างที่ใช้ในการสืบพันธุ์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ปัจจัย การวิเคราะห์จัดกลุ่มและการวิเคราะห์จัดจำแนก พบว่าความแปรผันภายในและระหว่างประชากรเฟิร์นลันกูร์มยังไม่มากพอที่จะแยกเฟิร์นชนิดนี้ออกเป็นระดับต่ำกว่าชนิดหรือชนิดใหม่ได้

Hanks และ Fryxell (1979) พบว่า *Herissantia tiubae* มีลักษณะสัณฐานวิทยาเหมือนพืชที่อยู่ในสกุลเดียวกัน แต่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับพืชในสกุล *Gaya* คือ $2n = 12$ ทั้งๆที่พืชในสกุล *Herissantia* มีจำนวนโครโมโซม $2n = 14$ จึงเกิดปัญหาว่าควรจัดพืชชนิดนี้ไว้ในสกุลใด เมื่อนำลักษณะเรณู 9 ลักษณะจากพืชทั้ง 2 สกุล จำนวน 10 ชนิด มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์จัดกลุ่มก็พบว่า *H. tiubae* มีความใกล้ชิดกับพืชในสกุลเดียวกันมากกว่า จึงสรุปให้พืชชนิดนี้อยู่ในสกุลเดิม

Robbins, Dickinson และ Rhodes (1979) ศึกษาลักษณะเรณูของพืชในสกุล *Ambrosia* โดยใช้ลักษณะ 6 ลักษณะ ซึ่งได้จากภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์จัดจำแนกพบว่าสามารถทำนายกลุ่มประชากรของเรณูจากสมการได้และนำสมการมาทำนายกลุ่มประชากรของเรณูที่ได้จากตัวอย่างแห้งได้ถูกต้อง จึงสรุปได้ว่าสามารถใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของเรณูตรวจหาชนิดของพืชสกุลนี้ได้

Doebley และ Iltis (1980) พบว่าการใช้ลักษณะดอกเพศเมียเป็นเกณฑ์ในการแบ่งพืชสกุล *Zea* จำนวน 4 ชนิดนั้น มีการเปลี่ยนแปลงได้ง่ายถ้ามีการปรับปรุงพันธุ์ เขาจึงใช้ลักษณะของดอกเพศผู้ 10 ลักษณะมาศึกษาโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์จัดจำแนกพบว่าสามารถแบ่งพืชสกุลนี้ออกเป็น 2 กลุ่ม โดยมีหน่วยอนุกรมวิธานเป็น section

Reynold และ Crawford (1980) ใช้เทคนิคการวิเคราะห์จัดกลุ่มตรวจสอบความแปรผันของพืชชนิดซับซ้อนคือ *Chenopodium atrovirens.-.desiccatum.-.pratericola*

โดยใช้ลักษณะ 14 ลักษณะ พบว่าพีชชนิดนี้มีอยู่ 3 กลุ่มและไม่สามารถใช้ลักษณะเพียงลักษณะเดียวแยกพีช 3 ชนิดนี้ออกจากกันได้ แต่ถ้าใช้ลักษณะมากกว่า 2 ลักษณะประกอบการกระจายพันธุ์ของแต่ละชนิดก็จะสามารถระบุชื่อชนิดได้

Small, Crompton และ Brookes (1981) ศึกษาอนุกรมวิธานของพีชวงศ์ Leguminosae Tribe Trigonelleae โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาามาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์จัดกลุ่มพบว่าพีชกลุ่มย่อย *Medicago*, *Melilotus* และ *Trigonella* มีความสัมพันธ์กันแต่ไม่สามารถแบ่งกลุ่มได้อย่างเด่นชัด เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์จัดจำแนกพบว่าควรจัดพีชทั้งสามกลุ่มนี้อยู่ในสกุลเดียวกัน ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาพบว่าลักษณะสำคัญที่ใช้ในการแบ่งกลุ่มคือลักษณะก้านชูเกสรเพศผู้ลักษณะกลีบดอกและลักษณะการเชื่อมกันของ staminal lobe ทำให้มีการจัดจำแนกพีช tribe นี้ ออกเป็น 2 กลุ่มคือ

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

Bucerates

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

Baum (1983) ศึกษาอนุกรมวิธานของพีชสกุล *Hordeum* 5 ชนิด โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาามาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์จัดจำแนกพบว่าสามารถจำแนกออกเป็น 3 กลุ่มคือ

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ *H. spontaneum*, *H. districhum* และ *H. vulgare*

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ *H. agriocrithon*

กลุ่มที่ 3 ได้แก่ *H. lagunculiforme*

Baum และ Bailey (1983) ศึกษาความแปรผันของลักษณะสัณฐานวิทยาของพีชสกุล *Hordeum* 2 ชนิด คือ *H. vulgare sensu lato* และ *H. spontaneum* C. Koch โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์จัดจำแนก พบว่าแม้ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *H. spontaneum* จะมีความแปรผันสูงแต่ก็ยังไม่มากพอที่จะจัดรวมเป็นชนิดเดียวกับ *H. vulgare* หรือเป็นระดับต่ำกว่าชนิดได้

Baum และ Bailey (1984) ศึกษาพีชสกุล *Hordeum* ใน section *Horduastrum* โดยใช้เทคนิค linear discriminant analysis, canonical analysis of discriminant และ nearest neighbor discriminant analysis วิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาพบว่าสามารถจัดจำแนกพีชกลุ่มนี้ออกเป็น 5 ชนิด คือ *H. marinum sensu stricto*, *H. geniculatum* All., *H. glaucum* Steudel, *H. murinum sensu stricto* และ *H. leporinum* Link.

Standley (1987) ใช้เทคนิคทาง numerical taxonomy มาวิเคราะห์จัดกลุ่มพืชที่มีความซับซ้อนในทวีปอเมริกาเหนือ 2 ชนิด คือ *Carex lenticularis* Michx กับ *C. nigra* (Linn.) Reich ซึ่งเดิมเข้าใจว่ามีอยู่ 5 varieties และ 2 varieties ตามลำดับ โดยใช้ลักษณะ 44 ลักษณะ จาก 101 ตัวอย่างของ *C. lenticularis* Michx และ 89 ตัวอย่างของ *C. nigra* (Linn.) Reich พบว่าไม่มีกลุ่มย่อยในพืชทั้งสองชนิดนี้

Heard และ Semple (1988) ได้ตรวจสอบสถานะหน่วยทางอนุกรมวิธานของ *Solidago rigida* Linn. ซึ่งเป็นพืชที่มีความซับซ้อนเนื่องจากการกระจายพันธุ์กว้างขวางในอเมริกา ทำให้มีลักษณะแตกต่างกันไปตามแต่ละพื้นที่ พบว่าเมื่อนำลักษณะทางสัณฐานวิทยา 18 ลักษณะจากตัวอย่างพืชทั้งหมดมาวิเคราะห์จัดกลุ่ม สามารถแบ่งพืชออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม A ไม่มีขนปกคลุม involucral scale กับกลุ่ม B มีขนปกคลุม involucral scale โดยกลุ่ม B ยังแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย B1 ซึ่งมีขนปกคลุมหนาแน่นกับกลุ่มย่อย B2 ซึ่งมีขนปกคลุมประปรายเมื่อนำข้อมูลเดิมมาวิเคราะห์จัดจำแนกพบว่ามีความถูกต้องของการทำนายกลุ่มจากสมการมากกว่า 95% แสดงให้เห็นว่าพืชทั้ง 3 กลุ่มแม้จะแยกกันเป็นหน่วยอนุกรมวิธานแต่ก็มีความใกล้ชิดกันอยู่ และเมื่อนำมาพิจารณาร่วมกับการกระจายพันธุ์ก็ตัดสินได้ว่าพืช 3 กลุ่มนี้อยู่ใน species เดียวกันแต่ต่าง subspecies กัน

Menadue และ Growden (1988) พบว่าไม่สามารถใช้รูปวิธานจำแนก *Ranunculus decurvus* (Hook f.) Melville และ *R. concinnus* (Hook f.) Melville ในธรรมชาติ ได้ว่าเป็นชนิดใด จึงได้ตรวจสอบสถานะของพืช 2 ชนิดนี้ โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยา 43 ลักษณะมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์จัดจำแนกและการวิเคราะห์จัดกลุ่ม พบว่าทุกค่าสังเกตรวมกันเป็น 1 กลุ่ม แสดงว่าเป็นพืชชนิดเดียวกันจึงใช้ชื่อ *R. decurvus* (Hook f.) Melville เพียงชื่อเดียวตามหลัก priority

Downie และ McNeill (1990) ได้ใช้เทคนิค principal component analysis (PCA) และการวิเคราะห์จัดกลุ่มตรวจสอบสถานะทางอนุกรมวิธานของพืชชนิดซับซ้อน *Euphrasia randii* Reeks โดยใช้ 13 ลักษณะ จากพืช 291 ต้น 59 ประชากร พบว่าไม่สามารถกำหนดกลุ่มย่อยในพืชชนิดนี้ได้ แสดงว่าพืชชนิดนี้มีเพียงชนิดเดียว

Semple, Chmielewski และ Brammal (1990) พบว่า *Solidago nemoralis* Aiton ซึ่งพบกระจายอยู่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีจำนวนโครโมโซม $2n = 18$ และ 36 ในขณะที่พวกซึ่งกระจายอยู่ทางภาคกลางมีจำนวนโครโมโซม $2n = 36$ จึงได้ใช้ numerical taxonomy มาศึกษาความซับซ้อนของพืชชนิดนี้ โดยใช้ 11 ลักษณะของตัวอย่าง

พืชมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์จัดกลุ่มและเทคนิคการวิเคราะห์จัดจำแนกสรุปได้ว่าพืชชนิดนี้มี 2 subspecies เนื่องจากมีการกระจายพันธุ์ต่างพื้นที่กัน

Labrecque และ Brouillet (1995) ศึกษาแหล่งที่อยู่ การแพร่กระจาย และสถานะทางอนุกรมวิธานของพืชชนิดซับซ้อน *Aster novibelgii* L. ในรัฐ Quebec โดยใช้เทคนิค principal component analysis และ discriminant analysis พบว่าสามารถจัดจำแนกพืชชนิดนี้ออกจาก *A. puniceus* และ *A. anticostensis* ได้อย่างเด่นชัด และยังสามารถจำแนกพืชชนิดนี้ในระดับต่ำกว่าชนิดเป็น 2 varieties คือ *A. novi-belgii* var. *crenifolus* ซึ่งพบบริเวณชายฝั่งของคาบสมุทร Gaspé กับ *A. novi-belgii* var. *villicaulis* ซึ่งพบบริเวณแม่น้ำ Saint-Jean และ Restigouche

Giussani, Martinez และ Collantes (1996) ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาที่แปรผันตามสิ่งแวดล้อมของพืชสกุล *Poa* 4 ชนิด คือ *Poa rigidifolia* Steud., *P. ibari* Phil., *P. dusenii* Hack. และ *P. spicaeformis* (Steud.) Hauman et Parodi ในประเทศอาร์เจนตินาโดยใช้การวิเคราะห์ด้าน numerical taxonomy ของลักษณะต่างๆของพืชสกุลนี้ 48 ลักษณะ พบว่าควรจัดพืชทั้ง 4 ชนิดนี้ไว้ในกลุ่มเดียวกันคือ *P. rigidifolia* complex

Vogler, Peretz และ Stephenson (1999) ศึกษาความแปรผันของลักษณะฟีโนไทป์ของดอก *Campanula rapunculoides* (Campanulaceae) เนื่องจากอิทธิพลของจีโนไทป์และสิ่งแวดล้อมพบว่าช่วงเวลาของการออกดอกและขนาดเรณูไม่มีความแปรผันที่เด่นชัด

นอกจากนี้ยังพบว่ามีการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์ของสิ่งมีชีวิตแล้วใช้ข้อมูลแบบแผนไอโซไซม์มาตรวจสอบสถานะทางอนุกรมวิธานของพืชได้อีกด้วยทั้งนี้เพราะไอโซไซม์สามารถแสดงความสัมพันธ์กับลักษณะทางพันธุกรรมได้ดังนั้นการจำแนกพันธุ์พืชโดยการเปรียบเทียบแบบแผนไอโซไซม์จึงถือว่าเป็นเทคนิคที่มีศักยภาพสูง (Tanksley และ Orton, 1983) และมีการนำมาใช้ในการกำหนดสถานะทางอนุกรมวิธานของพืชชนิดที่มีความซับซ้อนหรือพืชที่มีปัญหาในการจัดจำแนกได้ดังนี้

Bassiri และ Rouhani (1976) สามารถใช้แบบแผนไอโซไซม์ peroxidase และ esterase จำแนกความแตกต่างของถั่วปากอ้า (*Vicia* sp.) ได้ถึง 36 พันธุ์ โดยมีเพียง 4 พันธุ์เท่านั้นที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้

Torres, Soost และ Diedenhofen (1978) พบว่าสามารถใช้ข้อมูลจากไซโมแกรมของไอโซไซม์ 3 ระบบ ในการจำแนกพืชสกุล *Citrus* ที่เกิดจากการผสมระหว่างต้นพ่อต้นแม่ออกจากพืชต้นที่เกิดจากเนื้อเยื่อนิวเคลลัสได้

Oliver และ Rejon (1980) ทดลองเปรียบเทียบไอโซไซม์ esterase จากใบดอก และเมล็ดของ *Muscari atlanticum* (Linn.) Miller ซึ่งเป็นเตตราพลอยด์ (4X) เพนตาพลอยด์ (5X) และเฮกซาพลอยด์ (6X) พบว่าสามารถจำแนกต้น 4X ออกจากต้น 5X และ 6X ได้ โดยใช้ไซโมแกรมของดอกและเมล็ด แต่ไม่สามารถแยกต้น 5X ออกจากต้น 6X ได้ ไม่ว่าจะใช้ไซโมแกรมของใบ ดอก หรือเมล็ดก็ตาม

Quiros (1980) พบว่าสามารถใช้ไซโมแกรมของ esterase, peroxidase และ acid phosphatase ตรวจสอบต้นพันธุ์ใหม่ของ *Medicago sativa* Linn. ว่ามีพันธุกรรมเหมือนต้นพันธุ์เดิมที่ตายไปแล้วหรือไม่

Sharitz และคณะ (1980) ศึกษาไซโมแกรม 10 ระบบ เพื่อจำกัดขอบเขตของพืชสกุล *Typha* 4 ชนิด ซึ่งมีความแปรผันค่อนข้างสูง พบว่าสามารถใช้บอกความใกล้ชิดและตรวจหาชื่อชนิดได้ในกรณีที่ใช้ลักษณะฐานวิธานวิทยาหาชื่อไม่ได้

Green และคณะ (1981) พบว่าสามารถใช้ไอโซไซม์ ADP glucose pyrophosphorylase และ/หรือ UDP glucose pyrophosphorylase จำแนก *Stenotaphrum secundatum* (Walt.) Kuntze จำนวน 28 clone ออกเป็น 2 กลุ่มคือ blue green *S. secundatum* และ yellow green *S. secundatum* และใช้ไอโซไซม์ระบบ alcohol dehydrogenase และ acid phosphatase จำแนก clone ของกลุ่มย่อยทั้งสองนี้ได้

Ruiz และ Maribona (1983) พบว่าสามารถใช้แบบแผนไอโซไซม์ peroxidase เพียงชนิดเดียว ก็สามารถจำแนกพันธุ์ย่อยที่ปลูกเป็นการค้าได้ถึง 59 พันธุ์

Wolff และ Jefferies (1987) ได้ตรวจสอบสถานะของ *Salicornia europaea* Linn. ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของทวีปอเมริกาเหนือซึ่งมีทั้งที่เป็นดิพลอยด์และเตตราพลอยด์ จึงตรวจสอบชื่อได้ยากเพราะดอกมีการลดรูปลงไปมากพบว่าเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์จัดจำแนกโดยกำหนดกลุ่มจากการกระจายพันธุ์และระดับ ploidy หรือกำหนดกลุ่มโดยใช้ข้อมูลจากไซโมแกรมของไอโซไซม์ สามารถจำแนกพืชชนิดนี้ออกเป็น 3 กลุ่มคือกลุ่ม

เตตราพลอยด์ที่อยู่บริเวณชายฝั่งมหาสมุทรแอตแลนติก กลุ่มดิพลอยด์ที่อยู่บริเวณฝั่งมหาสมุทรแอตแลนติกและอ่าวเจมส์ และกลุ่มดิพลอยด์ที่อยู่บริเวณอ่าวฮัดสัน

Aly และคณะ (1992) สามารถใช้ไอโซไซม์ phosphoglucomutase ในการพิสูจน์ somatic embryo จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้น walnut ว่าเจริญมาจากเนื้อเยื่อของออวูลหรือจากเนื้อเยื่อของต้นแม่

Cousineau และ Donnelly (1992) พบว่าสามารถใช้แบบแผนไอโซไซม์ 6 ชนิดคือ isocitrate dehydrogenase, malate dehydrogenase, phosphoglucoisomerase, phosphoglucomutase, shikimate dehydrogenase และ triose-phosphate isomerase ในการจำแนกพันธุ์ของ raspberry ได้

Reyes และ Collins (1992) ศึกษาความแตกต่างของไอโซไซม์มันเทศชนิดต่างๆพบว่าเอนไซม์ glutamate oxaloacetate transaminase, shikimate dehydrogenase, malate dehydrogenase, menadione reductase, phosphogluco isomerase และ phosphoglucomutase มีแบบแผนแตกต่างกันใช้ในการจำแนกชนิดของมันเทศได้แต่เอนไซม์ catalase ให้แบบแผนเหมือนกัน จึงนำมาใช้ในการจัดจำแนกไม่ได้

Werner (1992) พบว่าการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์ catalase ของท่อพันธุ์ต่างๆในประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งมีการถ่ายทอดลักษณะสู่ลูกหลาน สามารถใช้ในการติดตามประวัติพันธุ์ท่อได้

Warren (1994) พบว่าสามารถใช้แบบแผนไอโซไซม์ acid phosphatase, phosphoglucoisomerase และ isocitrate dehydrogenase ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของโกโก้ในประเทศเปรูได้

Case, Mlodozienec, Wallace และ Weldy (1998) ศึกษาสถานะทางอนุกรมวิธานของกล้วยไม้ *Cypripedium kentuckiense* (Orchidaceae) ซึ่งพบน้อยมากในรัฐ Arkansas โดยการตรวจสอบแบบแผนไอโซไซม์ของ *C. kentuckiense* 8 ประชากร เปรียบเทียบกับ *C. parviflorum* var. *pubescens* 14 ประชากร ซึ่งเป็นกล้วยไม้ที่พบแพร่กระจายทั่วไป พบว่าพืช 2 ชนิดนี้มีลักษณะทางพันธุกรรมที่คล้ายคลึงกันมาก แต่อย่างไรก็ตามพบว่า *C. kentuckiense* มีรูปแบบอัลลีลและจีโนไทป์ที่แน่นอน จึงสรุปว่าเป็น distinct species ซึ่งอาจมีวิวัฒนาการมาจาก *C. parviflorum*