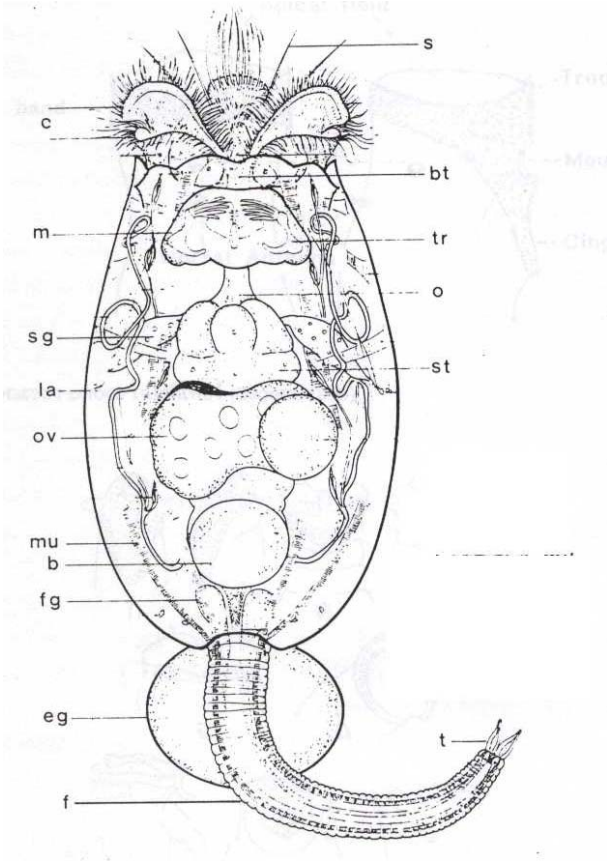
การศึกษาอนุกรมวิธานของโรติเฟอร์ โดยวิธี Numerical Taxonomy

Rotifer's Numerical Taxonomy studies

โดย ผศ.โกสินทร์ พัฒนมณี

By Kosin Pattanamanee



ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล
2545

Aquaculture department
Faculty of Science and fisheries technology
Rajamangala Institute
2002

คำนำ

เป็นที่ทราบกันแล้วว่าความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตในประเทศไทยนั้นมีมากมาย การศึกษาทางอนุกรมวิธานก็เป็นสาขาหนึ่งที่จะศึกษาหาความรู้ความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตในประเทศไทย ซึ่งมีข้อมูลเบื้องต้นในการจัดการทรัพยากรอันมีค่าของประเทศให้มีความยั่งยืนต่อไป รายงานการศึกษาฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อทำการศึกษางานด้าน Systematic Biology ให้เข้าใจมากขึ้น ซึ่งเป็นการศึกษาการจำแนกแพลงก์ตอนสัตว์กลุ่มโรติเฟอร์สาเหตุที่เลือกสัตว์กลุ่มนี้เนื่องจากมีตัวอย่างของโรติเฟอร์ให้ข้าพเจ้าศึกษาอย่างสะดวกจากห้องปฏิบัติการชีวิทยา ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และข้าพเจ้าก็อยู่ในระหว่างการศึกษาวิชา Systematic Biology ทำให้ข้าพเจ้าคิดว่าความรู้ที่ได้รับจากการศึกษาน่าจะเป็นพื้นฐานให้กับผู้สนใจได้บ้างซึ่งสามารถนำไปพัฒนาในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆต่อไปได้ ข้าพเจ้าจึงได้รวบรวมเป็นรายงานไว้เพื่อเผยแพร่ต่อผู้อื่นต่อไป หากผิดพลาดประการใดในส่วนของเนื้อหาในรายงานฉบับนี้ข้าพเจ้าขออภัยและขอให้ท่านผู้เชี่ยวชาญด้านนี้ช่วยแนะนำเพื่อเพิ่มพูนความรู้ให้กับข้าพเจ้าด้วย

อนุกรมวิธานของสัตว์

การศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของสัตว์ ในบทที่จะกล่าวถึงนี้จะเป็นการกล่าวถึงการจัดหมวดหมู่ของสัตว์ การตรวจชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง การกำหนดชื่อที่เป็นสากลเป็นต้น เราทราบเป็นอย่างดีแล้วว่าสัตว์เป็นทรัพยากรอย่างหนึ่งที่มีค่าเป็นอย่างยิ่งมนุษย์มีความผูกพันกับสัตว์มาตั้งแต่โบราณซึ่งหลักฐานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างมนุษญ์กับสัตว์สามารถพบได้กับภาพเขียนก่อนประวัติศาตร์ตามผนังถ้ำต่างๆในโลกนี้มากมาย เช่นภาพในผนังถ้ำของประเทศฝรั่งเศสและสเปนหรือในถ้ำผาแต้มในประเทศไทยเป็นต้น นับตั้งแต่ประเทศกรีกเป็นชาติแรกที่มีการจดบันทึกเรื่องราวเป็นลายลักษณ์อักษร ทำให้วิชาการต่างๆได้รับการเผยแพร่มากขึ้น จึงได้มีความพยายามที่จะจำแนกสัตว์ออกเป็นชื่อต่างๆมากมายมาตั้งแต่ก่อนคริสตกาล

จนกระทั่งสตวรรษที่ 18 จึงได้มีการพัฒนาการการจัดจำแนกประเภท การกำหนดชื่อสัตว์ที่เป็นสากล พร้อมทั้งจัดทำรูปวิธาน (Pictorial key) เพื่อตรวจสอบหาชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง

การจำแนกสัตว์ออกเป็นหมวดหมู่

ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบันสามารถจำแนกออกเป็น 3 ระบบ คือ

1. Artificial classification หมายถึง การจำแนกสัตว์โดยอาศัยหลักเกณฑ์อย่างง่ายๆ อาศัยลักษณะภายนอกที่สังเกตได้ ระบบนี้ใช้ตั้งแต่ก่อนคริสตกาลจนถึงศตวรรษที่ 18

2. Natural classification หมายถึงการจำแนกสัตว์ที่พิจารณาทั้งภายนอกและภายในของสัตว์รวมทั้งศึกษาเปรียบเทียบในระยะเอมบริโอ พฤติกรรม และนิเวศวิทยาของสัตว์ระบบนี้เริ่มใช้ตั้งแต่ศตวรรษที่ 18 จนถึงปัจจุบัน

3. Phylogenetic classification หมายถึงการจำแนกสัตว์โดยพิจารณาถึงความสัมพันธ์ทาวิวัฒนาการของสัตว์ การมีบรรพบุรุษร่วมกัน เป็นการจัดระบบหลังจากการเกิดทฤษฎีการคัดเลือกพันธ์โดยธรรมชาติของดาร์วิน ปัจจุบันการจัดจำแนกระบบนี้ยังไม่สมบูรณ์เนื่องจากขาดความรู้เรื่องวิวัฒนาการของสัตว์หลายชนิดที่ต้องศึกษาจากซากดึกดำบรรพ์(Fossil) ซึ่งซากดึกดำบรรพ์ที่พบบางครั้งไม่สมบูรณ์ ต้องอาศัยความรู้จากแขนงอื่นๆมาช่วยในการเปรียบเทียบข้อมูล เช่น สัณฐานวิทยา วิทยาเอมบริโอ พฤติกรรม นิเวศวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมี เป็นต้น

การจัดจำแนกหมวดหมู่ของสัตว์ทุกแนวทางมีจุดประสงค์เหมือนกัน คือการจัดเข้าลำดับตามลำดับสายขั้นตอน(hierarchy of categories)ซึ่งเป็น ดังนี้

Kingdom

Phylum

Class

Order

Family

Genus

Species

หลักเกณฑ์ทั่วไปในการจำแนกสัตว์ออกเป็นหมวดหมู่ สรุปได้ดังนี้

1. พิจารณาเปรียบเทียบลักษณะภายนอกและภายในของสิ่งมีชีวิตว่ามีความเหมือนหรือคล้ายกันมากเพียงใด แต่ การใช้เกณฑ์นี้จะใช้ในการจำแนกออกเป็นกลุ่มใหญ่เท่านั้น อย่างไรก็ตามเกณฑ์ที่ใช้จะต้องให้ใช้ได้อย่างกว้างขวางและมีข้อยกเว้นน้อยที่สุด หลักที่ควรคำนึงถึงคือ โครงสร้างที่มีต้นกำเนิดเดียวกันแต่ทำหน้าที่ต่างกัน(Homologous structure) และโครงสร้างที่มีต้นกำเนิดต่างกันแต่ทำหน้าที่อย่างเดียวกันหรือคล้ายคลึง (Analogous structure)

2. พิจารณาหลักการทางวิวัฒนาการสิ่งมีชีวิตที่มาจากบรรพบุรุษร่วมกัน ย่อมมีความสัมพันธ์เกี่ยวโยงกัน อาจแตกต่างกันที่มีความสัมพันธ์กล้ายชิดกันมากน้อยเพียงใด

3. พิจารณาแบบแผนการเจริญของสิ่งมีชีวิตตั้งแต่แรกโดยอาศัยหลักที่ว่า สิ่งมีชีวิตสัมพันธ์กันมากเพียงใดย่อมมีการเจริญคล้ายกันมากเพียงนั้น

4. พิจารณาขบวนการทางชีวเคมีและสรีระวิทยาว่า มีความเกี่ยวข้องคล้านกันมากเพียงใด รวมทั้งการศึกษาการถ่ายทอดพันธุกรรม เพราะสิ่งมีชีวิตที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากน้อยเพียงใดก็ย่อมมีโครงสร้างของเซลและส่วนประกอบทางเคมีคล้ายคลึงกันมากเพียงนั้น

5. พิจารณาความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตกับสิ่งแวดล้อม ตลอดจนการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ของสิ่งมีชีวิตนั้นๆด้วย

หลักเกณฑ์ในการเขียนชื่อวิทยาศาสตร์

1. ชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชและสัตว์ต่างเป็นอิสระไม่ขึ้นแก่กัน
2. พืชและสัตว์จะมีชื่อที่ถูกต้องที่สุดเพียงชื่อเดียวเท่านั้น
3. ชื่อวิทยาศาสตร์ต้องเป็นภาษาลาติน เท่านั้น
4. การเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ลำดับสปีชีส์ ต้องใช้อักษรตัวเอียง หรือขีดเส้นใต้โดยทั้งสองคำต้องไม่ต่อกัน เช่น *Homo sapiens* หรือเขียนเป็น Homo sapiens
5. ชื่อวิทยาศาสตร์ตั้งแต่แฟมิลีขึ้นไป หากเป็นพืชต้องลงท้ายด้วย - aceae หากเป็นสัตว์ต้องลงท้ายด้วย - idea
6. การตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ในลำดับขั้นตั้งแต่แฟมิลีลงไปต้องมีตัวอย่างสิ่งมีชีวิตนั้นเป็นต้นแบบประกอบการพิจารณาการกำหนดชื่อเสมอ
7. การกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์ให้กำหนดตามหลักทวินาม(binomial) โดยคำแรกเป็นชื่อจีนัสต้องขึ้นต้นตัวอักษรตัวใหญ่และตามด้วย Specific epithet มักเป็นคำคุณศัพท์ที่ขึ้นต้นด้วยตัวเล็ก การกำหนดชื่อ Specific epithet อาจกำหนดได้จาก
   7.1 การกำหนดจากชื่อบุคคล
   7.2 การกำหนดจากสถานที่พบ
   7.3 การกำหนดเพื่อแสดงลักษณะเฉพาะบางประการ

การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์

ปัจจุบันมีสัตว์ที่รู้จักแล้วประมาณ 1,200,000 ชนิด การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องของสัตว์อาจทำหลายวิธี เช่น

- การเปรียบเทียบกับสัตว์ที่มีอยู่แล้วในพิพิธภัณฑ์หรือโดยใช้คีย์ (Key)ซึ่งอาจเป็นแบบ dichotomous key ซึ่งหมายถึงการตรวจสอบหาชื่อวิทยาศาสตร์โดยใช้ลักษณะที่แตกต่างกันมาพิจารณาเป็นคู่ๆ

- การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์โดยใช้รูปวิธานซึ่งหมายถึงการเปรียบเทียบตัวอย่างสัตว์กับรูปวาดหรือรูปถ่าย
- การตรวจสอบโดยใช้วิธี Morphometric ซึ่งหมายถึง การวัดรูปร่างและสัณฐานรวมไปถึงการนำผลที่ได้จากการวัดมาวิเคราะห์
- การตรวจสอบโดยใช้วิธี Numerical taxonomy เป็นการวัดความสัมพันธ์โดยใช้ลักษณะที่สามารถแทนได้ด้วยตัวเลข หน่วยของสิ่งมีชีวิตทุกลำดับชั้นเรียกว่า Operative Taxonomic Unit หรือ OTC ลักษณะที่นำมาพิจารณาเรียกว่า character states ซึ่งมีลักษณะตามที่ผู้จะศึกษากำหนด โดยข้อมูลเหล่านี้จะนำมาแปลเป็นตัวเลขก่อน

ความรู้เบื้องต้นของโรติเฟอร์

เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีช่องว่างในลำตัวเป็นแบบช่องว่างเทียม (Pseudocoelomate) มีสมมาตรร่างกายแบ่งออกเป็นสองซีก (Bilateral symmetry) สามารถพบได้โดยทั่วไปทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม โรติเฟอร์มีทั้งหมดประมาณ 120 สกุล และกว่า 2000 ชนิด ดำรงชีพเป็นอิสระ บางส่วนดำรงชีพเป็นตัวเบียน (parasite) โรติเฟอร์มีลักษณะพิเศษที่แตกต่างจากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ อยู่ 3 ส่วน คือ

1. บริเวณส่วนหัวจะมีแถบของซิเลีย (cilia) 2 วง ทำหน้าที่ในการว่ายน้ำและรวบรวมอาหารเข้าสู่ปาก เรียกแถบซิเลียนี้ว่า Corona
2. ในอวัยวะส่วนที่ใช้กินอาหารจะมีการพัฒนากล้ามเนื้อที่เรียกว่า Mastax ภายในมีกล้ามเนื้อที่มีโครงร่างแข็งทำหน้าที่คัดเลือก หรือบดอาหาร เรียกว่า Trophi
3. โครงร่างที่หุ้มรอบตัวเป็นโครงร่างแข็ง เรียกว่า Lorica

โรติเฟอร์ที่พบอยู่ทั่วไปมีอยู่ 3 รูปแบบ คือ

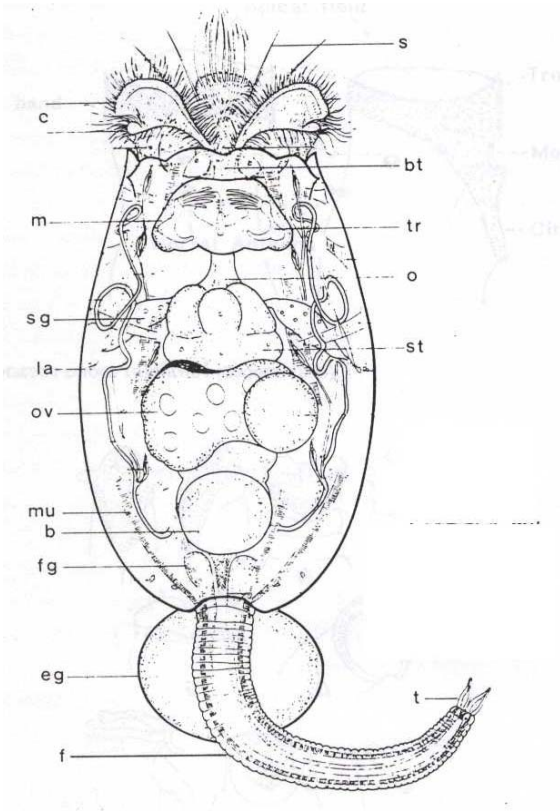
1. โรติเฟอร์เพศเมียที่อยู่ในระยะการสืบพันธ์แบบอาศัยเพศ (Sexual, Mictic female)
2. โรติเฟอร์เพศเมียที่อยู่ในระยะการสืบพันธ์แบบไม่อาศัยเพศ (Parthenogenesis, Amictic female)
3. โรติเฟอร์เพศผู้ ซึ่งพบได้น้อยมาก และบางคลาส(Class) ก็ไม่พบเพศผู้เลย เช่น Class Bdelloidea

ส่วนประกอบของร่างกายโรติเฟอร์ แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ

ส่วนหัว เป็นส่วนที่มี Corona มีอวัยวะรับความรู้สึก มีตา และมีช่องปาก การเคลื่อนที่ของซิเลียอยู่บน corona มีลักษณะคล้ายการหมุนของกงล้อ ซึ่งเป็นที่มาของการเรียกชื่อกลุ่มนี้ว่า โรติเฟอรN, roma มาจากภาษาลาติน แปลว่า ล้อ (wheel) และ ferre แปลว่า มีอยู่ (bear)

ส่วนลำตัว เป็นที่อยู่ของระบบต่างๆ เช่น ระบบย่อยอาหาร ระบบสืบพันธุ์ ระบบขับถ่าย และระบบประสาท โรติเฟอร์ไม่มีระบบหมุนเวียนของเลือด ในส่วนลำตัวจะมีอวัยวะที่ช่วยในการจำแนก ชนิด คือ Trophi, จำนวนนิวเคลียสที่อยู่ในรังไข่ (Vitellarium), การมีหรือไม่มีตามรูปร่างของ Lorica

ส่วนเท้า อาจมีหรือไม่มีอาจยาวออกมาหรือหดเข้าอยู่ใน Lorica แต่จะสังเกตุเห็นรูเปิกที่ Lorica ซึ่งเป็นรูที่ส่วนเท้าโผล่ออกมา ดังภาพ



S= sensory cirri

c= corona

bt= buccal tube

m= mastex

tr= trophi

o= oesophagus

sg= stomach gland

st= stomach

la= lateral antenna

ov= ovary

mu= muscle

b= bladder

fg= food gland

eg= egg

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

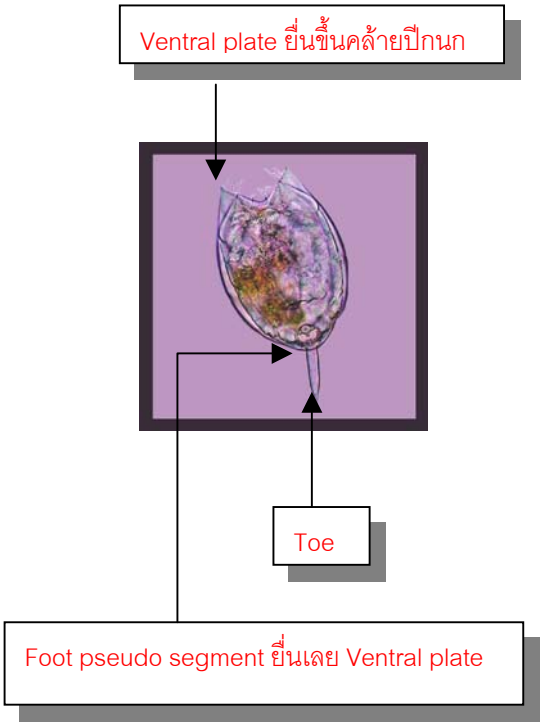
อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรติเฟอร์
2. สไลด์ (slide) และcover slide
3. Sedgwick - Rafter Chamber
4. Piped
5. Glycerin
6. กล้องจุลทรรศน์
7. กล้องถ่ายภาพดิจิตอล
8. คอมพิวเตอร์

วิธีการศึกษา

นำตัวอย่างโรติเฟอร์ ใส่ใน Sedgwick - Rafter Chamber ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จากนั้นก็แยกเอาโรติเฟอร์ออกไปทำ Semi permanent slid โดยหยด Glycerin ลงบน slide และนำโรติเฟอร์ใส่ ปิดทับด้วย Cover slide นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่ติดกล้องถ่ายรูปดิจิตอล ถ่ายรูป และตรวจสอบลักษณะภายนอกเพื่อจำแนกลักษณะที่จัดจำแนก 1 โดยอาศัยลักษณะที่สังเกตได้ ดังต่อไปนี้

1. มี Toe 1 ข้าง หรือ มี Tue 2 ข้าง
2. ปลาย Toe มี Claw หรือ ปลาย Toe ไม่มี Claw
3. Claw แบบ Real claw หรือ Claw แบบ Pseudo claw
4. ปลาย Toe มีรอยแยก หรือ ปลาย Toe ไม่มีรอยแยก
5. รอยแยกตรงปลาย Toe มีความยาวมากกว่าครึ่งของความยาว Toe หรือ ความยาวน้อยกว่าครึ่งของความยาว Toe
6. ปลายเปิดด้านบนของ Ventral plate เว้าน้อยกว่า 1 ใน 6 ของความยาวลำตัว หรือ มากกว่า 1 ใน 6 ของความยาวลำตัว
7. ด้านบน หรือ ไม่ยื่นขึ้น
8. รูปทรงไข่ หรือ รูปทรงกลม
9. ปลายเปิดด้านบนไม่มี Spine หรือ มี Spine
10. ส่วน Foot pseudo segment ยื่นเลย Ventral plate หรือ ไม่ยื่นเลย Ventral plate
11. ปลายเปิดด้านบนตรง หรือปลายเปิดด้านบนเว้าขอบด้านล่างของ Ventral plate เว้นเข้าตรงกลาง หรือ ไม่เว้นเข้าตรงกลาง



ผลการศึกษา

จากการนำโรติเฟอร์จำนวน 10 ตัวอย่าง มาทำการจัดกลุ่มเพื่อกำหนดลักษณะที่จะใช้จำแนกชนิดของโรติเฟอร์ พบว่าสามารถใช้ลักษณะทั้งหมด 12 ลักษณะ ก็สามารถจำแนก ชนิดของกลุ่มโรติเฟอร์ได้ ได้ดังนี้

จากการนำลักษณะที่สังเกตได้มาเรียงลำดับหาลักษณะที่มีจำนวนsampleอยู่ในลักษณะ ดังกล่าวมากที่สุดเรียงไปตามลำดับ พบว่า ลักษณะที่มีเหมือนกันคือ ปลายของ Toe ไม่มีรอยแยก 10 ชนิด และ 9 ชนิด ที่ปลายเปิดด้านบน ไม่มี spine ยกเว้น sp 5 และ 9 ชนิด ที่มีขอบด้านล้างของ Ventral plate โค้งมนไม่เว้าเข้าตรงกลางยกเว้น sp 10 เมื่อพิจารณาส่วน Foot pseudo segment พบว่า มี 8 ชนิด ที่ไม่ยื่นเลย ventral plate ยกเว้น sp 5 และ 6 แต่เนื่องจาก sp 5 นั้นสามารถแยกให้ออกจากกลุ่มได้ตั้งแต่ลักษณะของปลายเปิดด้านบนไม่มี spine แล้ว ดังนั้นการพิจารณา Foot pseudo segment ที่ยื่นเลย ventral plate จึงสามารถจำแนก sp 6 ออกได้ จากนั้นก็พิจารณารูปทรงของโรติเฟอร์พบว่ามี 7 ชนิดที่รูปทรงไข่ ส่วนรูปทรงกลมนั้น มี 3 ชนิด คือ sp 4,6,9 แต่ sp 6 ได้จำแนกออกไปก่อนแล้ว จึงเหลือที่จำแนกไม่ออกคือระหว่าง sp4 และ sp9 ต่อมาจึงพิจารณาปลายเปิดด้านบน พบว่า ปลายเปิดด้านบนเว้า มี 7 ชนิด ส่วนที่ตรงคือ sp 4,7,9 ดังนั้นจึงสามารถแยก sp 7 ออกมาได้ จากนั้นก็พิจารณาจำนวน toe พบว่าพวกที่มี toe 2 ข้างได้แก่ sp3,7,8,10 แต่เนื่องจากเราสามารถแยก sp 7,8,10 ออกได้ก่อนแล้ว ในขั้นนี้เราจึงสามารถแยก จำนวน toe ที่มี 2 ข้างเป็น sp3 จากนั้นก็พิจารณาปลายเปิดด้านบนของ ventral plate ว่าเว้าน้อยกว่า 1 ใน 6 ของความยาวลำตัวหรือไม่ พบว่า มี 6 ชนิดที่มีความยาวน้อยกว่า 1 ใน 6 ของความยาวลำตัว และมี sp 2,6,8,10 ที่มีความยาวมากกว่าความยาวลำตัว แต่เนื่องจาก sp 6,8,10 ได้จำแนกออกไปก่อนแล้วเราจึงสามารถใช้ลักษณะนี้จำแนก sp2 ออกมาได้ ต่อมาก็พิจารณา ปลายของ ventral plate ว่ายื่นขึ้นหรือไม่ พบว่า sp 1,3,8,10 ยื่นขึ้นมาแต่เนื่องจาก sp 3,8 และsp10 ได้ถูกแยกไปก่อนแล้วจึงสามารถแยก sp1 ออกมาได้ จากนั้นดูว่าปลายของ toe มี claw หรือไม่ ซึ่งเหลือเพียง sp4และ sp9 พบว่า sp9 ไม่มี craw ส่วน sp4 มี craw

เมื่อนำมาเขียนเป็นไดโคโตมัสคีย์ ก็สามารถเขียนไ ดังนี้

1. ปลายเปิดด้านบน

    - มี spine..... sp5
    - ไม่มี spine.....ดูข้อ (2)

2. ขอบด้านล่างของ Ventral plate

    - ลักษณะโค้งเว้นเข้าตรงกลาง.....sp10
    - ลักษณะโค้งไม่เว้นเข้าตรงกลาง.....ดูข้อ (3)

3.ส่วน Foot pseudo segment

- ไม่ยื่นเลย Ventral plat.....ดูข้อ (4)

- ยื่นเลย Ventral plat.....sp6

4. รูปทรง

- ไข่.....ดูข้อ (5)

- กลม.....ดูข้อ (9)

5.ปลายเปิดด้านบน

- เว้า.....ดูข้อ (6)

-ตรง.....sp7

6.จำนวน Toe

- 1 ข้าง.....ดูข้อ (7)

- 2 ข้าง.....sp3

7.ปลายด้านบนของ Ventral plate

- เว้าน้อยกว่า 1 ใน 6 ของความยาวลำตัว.....ดูข้อ (8)

- เว้ามากกว่า 1 ใน 6 ของความยาวลำตัว.....sp 2

8.ด้านบน Ventral plate

- ไม่ยื่นขึ้น

- ยื่นขึ้น.....sp1

9.ปลาย Toe

- มี Claw.....sp4

-ไม่มี Claw.....sp9

วิจารย์ผล

จากการทำคีย์อย่างง่ายเพื่อใช้ในการจำแนกสิ่งมีชีวิตนั้น สามารถนำมาทำได้โดยพิจารณาลักษณะที่พบภายนอกที่สังเกตเห็นได้ อย่างไรก็ตามข้อกำหนดที่กำหนดไว้ก่อนทำคีย์นั้นอาจมีจำนวนมากก็ได้ซึ่งบางท่านก็เสนอว่าควรใช้ประมาณ 100 ลักษณะ หรืออย่าง Sneath และ Sokal (1973) ได้เสนอว่าควรใช้อย่างน้อย 60 ลักษณะ อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้ใช้เพียง 20 ลักษณะ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการศึกษาก็พบว่าสามารถใช้เพียง 9 ลักษณะก็สามารถจำแนก โรติเฟอร์ในกลุ่มที่นำมาทำคีย์ได้แล้ว สำหรับลักษณะของคีย์นั้นอาจแตกต่างไปจากคีย์ของผู้ที่ทำจากปริมาณตัวอย่างต่างกัน และลักษณะที่ใช้ในการพิจารณาต่างๆกัน เป็นต้น สำหรับในข้อคิดเห็นของผู้ศึกษาคิดว่า คีย์ที่ดีนั้นต้องสามารถจำแนกชนิด

ออกมาได้โดยใช้ลักษณะในการจำแนกให้น้อยที่สุด และลักษณะที่ใช้จำแนกนั้นควรมีลักษณะที่สามารถสังเกตได้อย่างชัดเจน และเป็นลักษณะที่มีโอกาสในการผันแปรไปจากสิ่งแวดล้อมให้น้อยที่สุด

ในการศึกษาครั้งนี้ลักษณะของตัวอย่าง (Sample) ที่ใช้นั้นบางอย่างอาจสังเกตุได้ชัดเจนแต่ในบางตัวอย่างอาจสังเกตได้ไม่ชัดเจน จุดดังกล่าวจะเป็นข้อบกพร่องที่อาจจะเกิดจากการทำคีย์ได้ ดังนั้นการทำคีย์นั้นลักษณะที่เหมาะสมในการสังเกตเป็นข้อที่สำคัญเป็นอย่างยิ่ง ในการกำหนดก่อนการศึกษาเปรียบเทียบ