



การเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์ของมังคุด (*Garcinia mangostana* L.)

Sporogenesis and Gametogenesis of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.)

พรสวรรค์ สุทธินนท์

Pornsawan Sutthinon

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Botany

Prince of Songkla University

2556

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์      การเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์ของมังคุด (*Garcinia mangostana* L.)  
 ผู้เขียน              นางสาวพรสวรรค์ สุทธินนท์  
 สาขาวิชา            พฤกษศาสตร์

---

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	คณะกรรมการสอบ
..... (รองศาสตราจารย์ช่อทิพย์ ปุรินทวรกุล)	.....ประธานกรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรัล ลีรติวงศ์)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	.....กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุบลวรรณ อุโพธิ์)
..... (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุปลักษณ์ มีสวัสดิ์)	.....กรรมการ (รองศาสตราจารย์ช่อทิพย์ ปุรินทวรกุล)
	.....กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุปลักษณ์ มีสวัสดิ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
 ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์

.....  
 (รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)  
 คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคล  
ที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(รองศาสตราจารย์ช่อทิพย์ ปุรินทวรกุล)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นางสาวพรสวรรค์ สุทธินนท์)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ  
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวพรสวรรค์ สุทธินนท์)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์ของมังคุด ( <i>Garcinia mangostana</i> L.)
ผู้เขียน	นางสาวพรสวรรค์ สุทธินนท์
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
ปีการศึกษา	2556

### บทคัดย่อ

ศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์และสัณฐานวิทยาของการเกิดสปอร์ เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ และเพศเมียในดอกมังคุดตั้งแต่ระยะตาดอกไปจนถึงระยะดอกเริ่มบาน โดยเก็บตาดอกและดอก ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2555 ไปจนถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2556 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ ตาดอกและดอกได้ 11 ระยะ นำตัวอย่างศึกษาด้วยพาราฟินเทคนิค โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็ก ตรอนแบบส่องกราด (SEM) กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พร้อมทั้งตรวจสอบความมีชีวิตของ ไมโครสปอร์กลุ่มละอองและไมโครสปอร์ พบว่ามีการพัฒนาตาดอกเริ่มเกิดในระยะตาดอกขนาดเส้น ผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.2 เซนติเมตร โดยพบกลีบเลี้ยง กลีบดอก ที่เจริญสมบูรณ์ มีวงเกสรเพศผู้และวง เกสรเพศเมียเริ่มเกิด ระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 เซนติเมตร พบเกสรเพศผู้และ เกสรเพศเมีย พร้อมทั้งมีการสร้างเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ และเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์จะพบใน ระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.9-1.0 เซนติเมตร ต่อมาไมโครสปอร์เริ่มมีการสลายในระยะ ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-1.6 เซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับค่าเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของ ไมโครสปอร์กลุ่มละอองและไมโครสปอร์ที่มีค่าลดลงในระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-1.6 เซนติเมตร ถึงระยะดอกบาน ขณะที่ภายในออวูลจะมีการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอโดยไม่ผ่านการ ปฏิสนธิ และพบว่าในบางออวูลเกิดการสลายของเอ็มบริโอเหลือเพียงเนื้อเยื่อชั้นอีพิเคอร์มิสของ เนื้อเยื่ออินเทกิวเมนต์ชั้นใน และเนื้อเยื่ออินเทกิวเมนต์ชั้นนอกจะเจริญต่อไปเป็นเปลือกหุ้ม เมล็ด การสลายของไมโครสปอร์ที่เกิดขึ้นน่าจะมีความสัมพันธ์กับการสร้างเอ็มบริโอของมังคุด และลักษณะการเกิดอะโพมิกซิสแบบสปอร์โรไฟติกของมังคุดนี้จะเป็นประโยชน์ต่อกระบวนการ ปรับปรุงพันธุ์ของไม้ผลในประเทศไทย

**Thesis Title** Sporogenesis and Gametogenesis of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.)  
**Author** Miss Pornsawan Sutthinon  
**Major Program** Botany  
**Academic Year** 2013

### **Abstract**

The anatomy and morphology of male and female sporogenesis and gametogenesis in mangosteen were investigated from flower bud formation to flowering stage during March 2012 - April 2013. The flower buds and flower size were measured by diameter divided into 11 stages. The samples were prepared by using paraffin technique. Scanning electron microscope (SEM) and light microscope were observed, including microspore tetrad and microspore viability test. It was shown that the 0.1-0.2 centimeters in diameter flower bud formed flower primordia and developed sepal, petal, stamen and pistil primodium completely. The 0.5-0.6 centimeters in diameter flower bud found stamens, pistil and microspore mother cells but megaspore mother cells occurred in 0.9-1.0 centimeters in diameter flower bud. Then microspore were degenerated in 1.5-1.6 centimeters in diameter flower bud that related to percentage of microspore tetrad and microspore viability gradually decreased from 1.5-1.6 centimeters in diameter flower bud to flowering stage whereas the embryo form without fertilization. Some ovules remained only epidermis of inner integument and outer integument tissue developed into seed coat. Finally, microspore dissolution may be related to the embryo formation of mangosteen and it is the sporophyte apomictic type which will be useful for the breeding system of fruit crop in Thailand.

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ทางผู้เขียนต้องขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ช่อทิพย์ บุรินทรวงกุล และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุปลัมภ์ มีสวัสดิ์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่คอยชี้แนะ ให้ความรู้ คำแนะนำและคำปรึกษาตลอดการทำวิจัย รวมทั้งการตรวจสอบแก้ไข วิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรัส ลีระติวงศ์ ประธานกรรมการสอบ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในการให้คำแนะนำการเขียนเล่ม วิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุบลวรรณ อุโพธิ์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ช่วยชี้แนะในการจัดทำวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น และขอขอบคุณ ดร.สหัช จันทนอรพินท์ ในการให้คำแนะนำระหว่างการทำวิจัย

ขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยและห้องปฏิบัติการ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์แปลงปลูกมังคุดเพื่อการศึกษาพร้อมเก็บตัวอย่าง และขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยาและนิเวศวิทยา มหาวิทยาลัยโนวิสาด ประเทศเซอร์เบีย (University of Novi Sad, Serbia) ที่ให้การเอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

ขอขอบคุณ ทุนสนับสนุนการวิจัยจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทุนการศึกษาและทุนการวิจัยจากโครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย)

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆและครอบครัวที่ให้กำลังใจในการทำวิจัยเสมอมา

พรสวรรค์ สุทธินนท์

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพประกอบ	(10)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำตั้งเรื่อง	1
บทตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	18
2. วิธีการศึกษา	19
วัสดุอุปกรณ์	19
สารเคมี	20
ขั้นตอนการศึกษา	21
3. ผลการศึกษา	27
4. สรุปและอภิปรายผลการศึกษา	45
เอกสารอ้างอิง	54
ภาคผนวก	64
ประวัติผู้เขียน	78



## รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวก้านของดอกมังกุดในแต่ละระยะ	28
2 แสดงระยะการเจริญของสปอร์เพศผู้และเพศเมียในดอกมังกุด	42
3 แสดงค่าความมีชีวิตของไมโครสปอร์กลุ่มละสี่และไมโครสปอร์	44

## รายการภาพประกอบ

ภาพที่	หน้า
1 ลักษณะวิสัยของมังคุดและองค์ประกอบต่างๆของดอกมังคุด	5
2 ไดอะแกรมแสดงส่วนประกอบของดอกบนฐานรองดอกเรียงจาก ด้านนอกเข้าด้านในตามลำดับ	8
3 กระบวนการสร้างเมกะสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์ในพืชสกุล <i>Arabidopsis</i>	10
4 การเจริญและพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้	12
5 เรณูที่มี 2 นิวเคลียสในต้น hop (ก) และ 3 นิวเคลียสในต้น elderberry (ข)	12
6 กระบวนการเกิดลักษณะอะโพมิกซิสทั้ง 3 ชนิด (diplospory, apospory และ sporophytic apomixis) เปรียบเทียบกับกระบวนการสืบพันธุ์แบบอาศัย เพศทั่วไป	17
7 แสดงลักษณะตาดอกมังคุดที่นำมาศึกษา	22
8 แสดงขั้นตอนและอุปกรณ์ในวิธีทางพาราฟิน	24
9 แสดงขนาดดอกมังคุดระยะต่างๆแบ่งตามความยาวเส้นผ่านศูนย์กลาง	28
10 โครงสร้างต่างๆ ภายในตาดอกมังคุดระยะแรกที่ยังไม่มีก้านดอก	31
11 โครงสร้างของเกสรเพศผู้และเพศเมียในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 เซนติเมตร	32
12 การเจริญของโครงสร้างต่างๆในระยะตาดอกที่ยังไม่มีก้านดอก (ตัดตามยาว)	32
13 องค์ประกอบต่างๆของอับเรณูในระยะเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ (ตัดตาม ขวาง)	35
14 การเจริญของเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์และการสลายของเนื้อเยื่อทาพิตัม	36
15 การเจริญของไมโครสปอร์กุ่มละติและไมโครสปอร์	37
16 การเจริญของออรูลในระยะออรูลช่วงต้นและระยะเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์	40
17 การเจริญของออรูลในระยะเมกะสปอร์และระยะเอ็มบริโอ	41
18 แสดงความมีชีวิตของไมโครสปอร์กุ่มละติและไมโครสปอร์	44

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 บทนำต้นเรื่อง

มังคุดเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญ อยู่ในชั้นคลาส Dilleniidae วงศ์ Clusiaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia mangostana* L. ชื่อท้องถิ่นที่รู้จักกันดีคือ มังคุด เชื่อกันว่ามีถิ่นกำเนิดในแถบคาบสมุทรมลายู พบมีการกระจายทั่วไปโดยเฉพาะในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Yaacob and Tindall, 1995) พืชในสกุล *Garcinia* ที่พบในประเทศไทยนอกจากมังคุดยังมี มะพูด พะวาชะมวง ส้มแขก พืชสกุลนี้เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ มียางสีเหลือง ใบเดี่ยว ออกตรงข้ามกัน แผ่นใบหนาและเป็นมัน เกสรเพศผู้มีจำนวน 14-20 อัน แยกเป็นอิสระหรืออาจเชื่อมติดกันเป็นมัด ผลเป็นผลเดี่ยวแบบผลสด มี 4-8 เมล็ด (ก่องกานดา, 2550) ประเทศไทยจัดได้ว่าเป็นแหล่งปลูกมังคุดที่ใหญ่ที่สุดในโลกซึ่งแหล่งปลูกที่สำคัญจะอยู่ทางภาคตะวันออกและภาคใต้ของไทย (Te-chato and Lim, 2004) การส่งออกมังคุดไปตลาดต่างประเทศมีทั้งผลสด มังคุดสดแช่เย็น และมังคุดสดแช่แข็ง โดยตลาดส่งออกมังคุดที่สำคัญของไทย ได้แก่ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ฮองกง สิงคโปร์ นิวซีแลนด์ และได้หวัน มังคุดเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมของผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ เพราะมีผลสีสวยและมีรสชาติหวาน อมเปรี้ยว

ปัจจุบันได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับมังคุดเพื่อปรับปรุงผลผลิต สรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการออกดอกและการติดผล เนื่องจากมังคุดมีลักษณะสำคัญคือ มีกระบวนการสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศ โดยพบว่ามังคุดเป็นไม้ผลที่ไม่ได้เกิดจากการปฏิสนธิตามปกติเหมือนในพืชชนิดอื่น แต่เป็นผลมาจากกระบวนการที่เรียกว่า อะโพมิกซิส (apomixis) นั่นคือเมล็ดของมังคุดสามารถเจริญได้โดยไม่ผ่านการปฏิสนธิ (Koltunow and Scott, 2001 ; Carneiro et al., 2006 ; Te-chato, 2007) ซึ่งเป็นกระบวนการที่พบได้ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ ของวงศ์พืชดอกทั้งหมด และ 75 เปอร์เซ็นต์ ของพืชกลุ่มนี้จะเป็นพืชในวงศ์ Poaceae Asteraceae และ Rosaceae (Asker and Jerling, 1992) สำหรับพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นนอกจากมังคุด ที่มีลักษณะอะโพมิกซิส ได้แก่ ลองกอง (ปรีชาติ, 2549) แอปเปิ้ล ส้ม และมะม่วง (Koltunow et al., 2001) เป็นต้น ข้อดีของการเกิด อะโพมิกซิสคือเมล็ดที่ได้มีองค์ประกอบทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่จึงไม่เกิดการกลายพันธุ์ (Carneiro et al., 2006) ลดปัญหาการผสมข้าม มีประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์พืช และการผลิตเมล็ดพันธุ์ อีกทั้งยังมีผลในเชิงวิวัฒนาการ โดยเป็นการลดการเกิดความแปรผันทางพันธุกรรมที่เกิดจากการปรับตัวต่อ

การเปลี่ยนแปลงและผลกระทบจากสภาพแวดล้อม แต่จะมีข้อเสียคือทำให้ไม่เกิดความหลากหลายทางชีวภาพ และทำให้พืชไม่สามารถตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม รวมถึงโรคแมลง ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา เนื่องจากลักษณะการมีพันธุกรรมที่คงเดิมเหมือนกับต้นแม่ นั่นเอง (Koltunow et al., 1995 ; Richard, 2003 ; Carneiro et al., 2006) การศึกษาลักษณะอะโพมิกซิส ในมังคุดได้เริ่มในปี ค.ศ. 1984 โดย Lan ได้รายงานว่ามีมังคุดมีลักษณะ สปอร์โรไฟติกอะโพมิกซิส (sporophytic apomixis) และพบว่าดอกมังคุดที่ไม่มีอับเรณู สามารถติดผลได้ แต่ผลจะมีขนาดเล็ก และมีอัตราการติดผลที่น้อยกว่าดอกที่ไม่มีการนำอับเรณูออกไป ต่อมาได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับกลไกการเป็นหมันของเรณูในดอกมังคุด พบว่าหลังการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ (microspore mother cells) จนได้ไมโครสปอร์กลุ่มละสี่ (microspore tetrads) ซึ่งประกอบด้วยเซลล์ไมโครสปอร์ 4 เซลล์ พบว่ามีไมโครสปอร์เพียงบางส่วนเท่านั้นที่แยกตัวออกมาเพื่อเจริญต่อไปเป็นเรณู แต่โปรโทพลาซึมของไมโครสปอร์จะเสื่อมสลายไป อีกทั้งส่วนอื่นที่ยังคงสภาพเป็นไมโครสปอร์กลุ่มละสี่นั้นจะสลายไปในระยะต่อมาเช่นกัน จึงทำให้ไม่พบเรณูที่มีชีวิตจากอับเรณูของดอกมังคุด (Yapwattanaphun et al., 2008) โดยพบว่าสาเหตุเป็นผลมาจากการบกพร่องในการทำหน้าที่ของเนื้อเยื่อฮาฟีตัมในอับเรณูซึ่งความบกพร่องนี้เป็นสาเหตุสำคัญในการหมันของเรณูในพืชหลายชนิด

การศึกษาพัฒนาการของดอกมังคุดในระยะต่างๆ ตั้งแต่ระยะตาดอกไปจนถึงระยะที่ดอกเริ่มบานและติดผล เพื่อทราบถึงอัตราการเจริญและพัฒนาการของ โครงสร้างต่างๆ ของดอกมังคุด จะให้ประโยชน์ต่อผลผลิต เป็นข้อมูลสำคัญต่อการนำไปประยุกต์ใช้ ประกอบการพิจารณาปัจจัยที่ส่งผลต่อความผิดปกติ และทราบกลไกของการเกิด อะโพมิกซิสในพืช การวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาการเจริญและพัฒนาการเกิดอวัยวะ เปรียบเทียบลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของการเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียในดอกมังคุดระยะต่างๆ เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้และพัฒนาการผลิตมังคุดต่อไป

## 1.2 บทตรวจเอกสาร

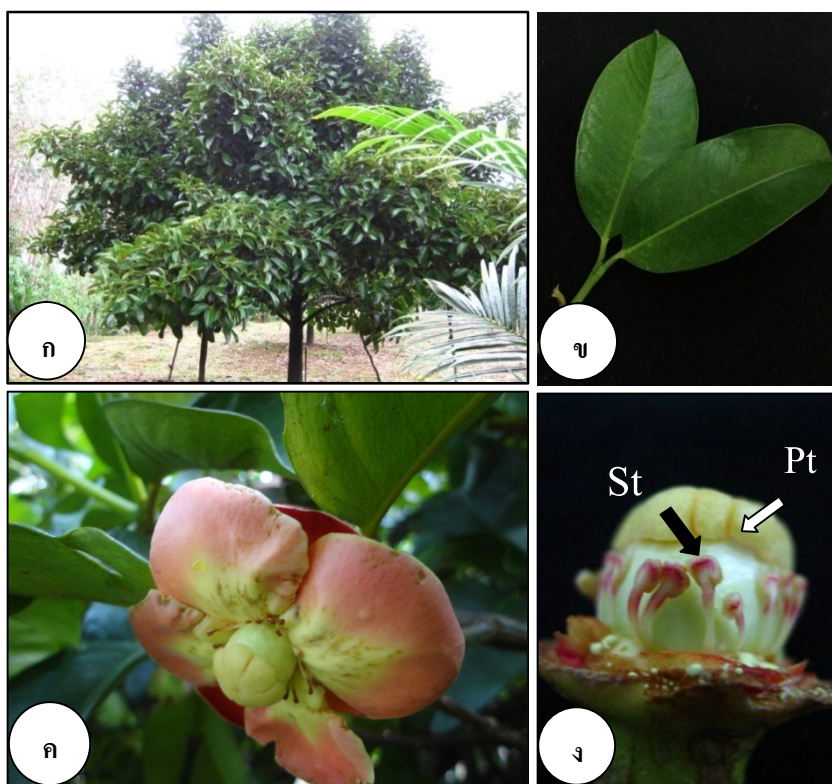
### 1.2.1 ข้อมูลทั่วไปและลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมังคุด

มังคุดเป็นไม้ผลเมืองร้อนที่รู้จักกันดี นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย มีรสชาติหวานอมเปรี้ยว จึงได้มีการตั้งสมญานามว่า เป็น “ราชินีแห่งไม้ผล”(queen of fruits)(สมศักดิ์, 2541) ลำดับอนุกรมวิธานของมังคุด (ที่มา: Natural resource conservation service, 2011)

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Subclass	Dilleniidae
Order	Theales
Family	Clusiaceae
Genus	<i>Garcinia</i> L.
Species	<i>Garcinia mangostana</i> L.

มังคุดเป็นผลไม้ที่อยู่ในวงศ์ Clusiaceae ซึ่งประกอบด้วยพืช 35 สกุล และกว่า 800 ชนิด นอกจากแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ยังพบว่ามีการเพาะปลูกใน หมู่เกาะซุนดา หมู่เกาะโมลุกกะ มาดากัสการ์ ศรีลังกา ตอนใต้ของอินเดีย จีน บราซิล คิวินแลนด์ (Yaacob et al., 1995) และทางตอนเหนือของออสเตรเลีย (Wieble, 1992) ในปี 1990 Richard ได้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของมังคุดกับพืชชนิดอื่นๆ ในสกุล *Garcinia* โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่ามังคุดเกิดจากการผสมระหว่าง *Garcinia hombroniana* Pierre และ *Garcinia malaccensis* Hook.f. เนื่องจากมีลักษณะร่วมกันของทั้งสองชนิด ต่อมาในปี 2004 ได้มีการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของมังคุดโดยอาศัยข้อมูลทางดีเอ็นเอพบว่ามังคุดมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ *Garcinia malaccensis* Hook.f. มากกว่า *Garcinia hombroniana* Pierre จึงเชื่อว่า *Garcinia malaccensis* Hook.f. น่าจะเป็นต้นกำเนิดของมังคุด (Yapwattanaphun et al., 2004)

มังคุดเป็นไม้ยืนต้นไม่ผลัดใบ ลำต้นตั้งตรง สูง 6-25 เมตร (ภาพที่ 1ก) ใบ เรียงตัวแบบ ตรงกันข้าม (opposite) แผ่นใบสีเขียวเข้มรูปร่างเป็นวงรี ตรงกลางกว้างที่สุดหรือขอบใบอาจขนาน กัน (oblong-elliptic) ฐานใบและปลายใบเรียวมนทั้งสองข้าง ผิวใบเรียบ (glabrous) ส่วนใบด้านล่าง มีสีเขียวปนเหลือง ก้านใบยาว 1-2 เซนติเมตร (ภาพที่ 1ข) ดอก เป็นดอกเดี่ยว (ภาพที่ 1ค) หรือ บางครั้งพบเป็นช่อมี 3 ดอก เกิดตรงปลายสุดของกิ่ง มีก้านดอกยาว 1.75-2 เซนติเมตร กลีบเลี้ยง มี 4 กลีบแบ่งเป็น 2 คู่ โดยที่คู่นอกมีสีเขียว และคู่ด้านในมีสีแดงตรงบริเวณขอบ กลีบดอก มี 4 กลีบ ยาว 2-5 เซนติเมตร สีเหลือง เขียว ขอบกลีบมีสีแดง (Osman and Milan, 2006) เกสร เพศผู้จะอยู่รอบฐานของรังไข่ (ภาพที่ 1ง) มี 14-20 อัน ยาว 5-6 มิลลิเมตร แต่ให้เรณูที่เป็นหมัน (infertile pollen) (Sorbia, 2007) รังไข่เหนือฐานรองดอก (superior ovary) (ภาพที่ 1ง)(สมศักดิ์, 2541) ผล กลม มีสีม่วงเมื่อสุกเต็มที่ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.5-8.0 เซนติเมตร น้ำหนัก ตั้งแต่ 75-150 กรัม ขึ้นอยู่กับอายุของต้นพืชและสภาพพื้นที่เพาะปลูก (Te-chato and Lim, 2005) เป็นผลสดแบบเบอร์รี่ เปลือกผลหนา มียางสีเหลือง ส่วนเนื้อของมังคุดสีขาวลักษณะเป็นกลีบ รับประทานได้เรียก อะริล (aril) มีจำนวน 4-8 กลีบ โดยพบเมล็ดกลีบ 2-3 เมล็ดต่อผล เมล็ดยาว ประมาณ 2 เซนติเมตร ผลมังคุดมีสีม่วงเข้ม-ม่วงแดงบริเวณยอดผลจะเป็นส่วนที่เกิดจากส่วนยอด เกสรเพศเมียและกลีบเลี้ยงที่ติดกับก้านผลที่ยังคงเหลืออยู่ติดมากับผล (Morton, 1987)



ภาพที่ 1 ลักษณะวิสัยของมังกูคและองค์ประกอบต่างๆของดอกมังกูค

ก) สภาพการเจริญของมังกูค

ข) ลักษณะใบของมังกูค

ค) ระยะดอกบานเต็มที่

ง) เกสรเพศผู้ (St)(สรชีสีดำ) และเกสรเพศเมีย (Pt)(สรชีสีขาว)

(St : stamen, Pt : pistil)

### 1.2.2 การออกดอกและการติดผลของมังคุด

มังคุดจะออกดอกเฉพาะบริเวณที่ปลายกิ่งเท่านั้น โดยอาจเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นช่อ แต่ส่วนใหญ่จะมีเพียงดอกเดี่ยว (กวิศร์, 2536) หลังจากดอกบานเต็มที่มังคุดจะติดผลภายใน 24 ชั่วโมง โดยมีเปอร์เซ็นต์การติดผลประมาณ 30 – 40 เปอร์เซ็นต์ (สายัณห์, 2536) การออกดอกของมังคุดจะเริ่มขึ้นเมื่อผ่านช่วงแห้งแล้งมาแล้วระยะหนึ่งซึ่งมักจะเป็นระยะหลังฤดูฝนประมาณเดือนกุมภาพันธ์-เมษายน และจะทำให้มีการสะสมอาหารไว้ที่ลำต้น โดยการลดการเจริญเติบโตทางลำต้น ใบ และราก ซึ่งเป็นสารประกอบพวกคาร์บอน ในขณะที่สารประกอบพวกไนโตรเจนจะเริ่มลดลง จนถึงจุดที่ปริมาณสารประกอบทั้งสองเหมาะสมกันจนสามารถชักนำให้มีการออกดอกได้ สภาพภูมิอากาศเป็นปัจจัยสำคัญในการออกดอกของมังคุด เพราะอิทธิพลของฝนซึ่งทำให้มังคุดที่ปลูกในแหล่งต่างๆมีช่วงระยะเวลาการออกดอกที่แตกต่างกันไป สำหรับประเทศไทยได้มีการศึกษาการพัฒนาของมังคุดในรอบปี (phenological cycle) พบว่ามังคุดที่ปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยเฉพาะในจังหวัดจันทบุรีจะถูกชักนำให้เกิดตาดอกในช่วงเดือนพฤศจิกายน จากนั้นในเดือนธันวาคมจะเริ่มเห็นเป็นตาดอกตูมสีม่วงแดง และดอกมังคุดจะเริ่มบานเต็มที่ในกลางเดือนมกราคม (Manakasem, 1995) สำหรับภาคใต้ซึ่งเป็นแหล่งปลูกมังคุดที่สำคัญของไทยพบว่าจะมีช่วงระยะเวลาการออกดอกที่แตกต่างจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือเนื่องจากมีช่วงฤดูฝนที่แตกต่างกันโดยภาคใต้ออกดอกมังคุดจะบานเต็มที่ในช่วงเดือน มีนาคม-เมษายน ดังนั้นการกระจายตัวของฝนที่ผิดปกติจะส่งผลให้การพัฒนาการออกดอกติดผลของมังคุดผิดปกติได้ (สายัณห์, 2536) Sdooddee (2007) ได้ศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของภาวะโลกร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงการพัฒนาในรอบปีของมังคุดในจังหวัดสงขลาพบว่าในระหว่างปี พ.ศ. 2540-2549 มีการผันผวนของปริมาณน้ำฝน และอุณหภูมิ ทำให้การพัฒนาของมังคุดในรอบปีเปลี่ยนไป โดยพบว่าปริมาณน้ำฝนมีแนวโน้มลดลงในขณะที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นซึ่งมีผลให้ช่วงการบานของดอกเปลี่ยนไป เช่น ช้าไปจนถึงปลายกรกฎาคม หรือต้นสิงหาคม นอกจากนี้ยังพบว่าปี ค.ศ. 2004 ดอกมังคุดมีการบานถึง 2 ครั้ง จึงส่งผลต่อการเก็บเกี่ยวและคุณภาพของผลผลิตมังคุดด้วย สำหรับภาคใต้มังคุดจะเริ่มติดผลและเก็บเกี่ยวได้ในช่วง เดือนมิถุนายน-สิงหาคม ผลของมังคุดเมื่อยังดิบอยู่ผิวเปลือกจะมีสีเขียวภายในมียางสีเหลือง และเมื่อผลสุกเปลือกจะเปลี่ยนสีเป็นสีม่วงแดงหรือม่วงดำ ซึ่งเกิดจากสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ที่เป็นสารในกลุ่มฟีนอลิก มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในชั้นเปลือก (pericarp) ของมังคุด โดยบริเวณ



เปลือกชั้นนอก (outer pericarp) จะพบว่ามีปริมาณสารแอนโทไซยานินมากกว่าเปลือกชั้นใน (inner pericarp) และจะมีมากที่สุดเมื่อมีงอกสุกเต็มที่ ดังนั้นระยะการเปลี่ยนสีของผลมีงอกนี้ จะมีความสัมพันธ์กับการสุกของผล (Palapol et al., 2008)

### 1.2.3 การเจริญและพัฒนาของดอก

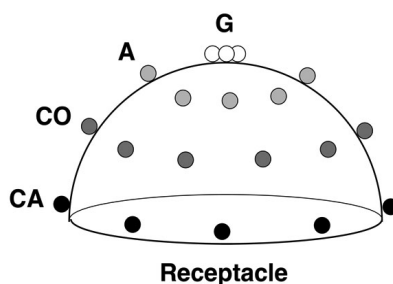
การออกดอกเป็นการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาในพืชชั้นสูงซึ่งหมายถึงการเปลี่ยนแปลงของการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น กิ่ง และใบ (vegetative growth) และการสืบพันธุ์ (reproductive growth) ดอกจึงเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในวงจรชีวิตของพืช ซึ่งดอกประกอบด้วยอวัยวะสำคัญ 4 ส่วนคือกลีบเลี้ยง กลีบดอก เกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย อวัยวะเหล่านี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญของดอก (floral meristem) อย่างต่อเนื่องโดยเป็นผลมาจากปฏิสัมพันธ์ของยีนที่ควบคุมและปัจจัยสภาวะแวดล้อมที่ได้รับซึ่งเรียกกระบวนการเปลี่ยนแปลงจากการเจริญทางด้านลำต้นไปสู่ระยะการสืบพันธุ์นี้ว่า floral transition โดยในดอกสมบูรณ์เพศทั่วไปพบว่าองค์ประกอบต่างๆภายในดอกจะมีการเจริญจากด้านล่างขึ้นไปส่วนปลาย (acropetal) และจากวงนอกเข้าสู่วงใน (centripetal) คือ วงกลีบเลี้ยง (calyx) วงกลีบดอก (corolla) วงเกสรเพศผู้ (androecium) และ วงเกสรเพศเมีย (gynoecium) ตามลำดับ (ภาพที่ 2) (ลิลลี่, 2546 ; เทียมใจ, 2549 ; อุปถัมภ์, 2554)

การออกดอกมีกระบวนการที่ซับซ้อน มีปัจจัยทั้งภายนอกและภายในเป็นสัญญาณในการชักนำ ซึ่งปัจจัยที่สำคัญ ได้แก่ การที่พืชได้รับอุณหภูมิต่ำ (vernalization) หรือช่วงแสง (photoperiodism) ระยะเวลาหนึ่ง รวมถึงชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนภายในพืชที่จะมีผลโดยตรงต่อการชักนำการออกดอกด้วย (ลิลลี่, 2546 ; อุปถัมภ์, 2554) โดยทั่วไปพืชแต่ละชนิดจะมีช่วงเวลาที่เหมาะสมในการออกดอกแตกต่างกัน ดังนั้นพืชจึงมีช่วงเยาว์วัย (juvenile period) ซึ่งหมายถึงช่วงระยะเวลาที่พืชไม่สามารถออกดอกได้แตกต่างกันในแต่ละชนิด เช่น ต้นกล้าในสกุล *Rosa* จะออกดอกเมื่อมีอายุได้ 20-30 วัน ในขณะที่บีช (*Fagus sylvatica* L.) ไม่สามารถออกดอกจนกว่าจะมีการเจริญเติบโตเมื่ออายุได้ 30-40 ปี (Meilan, 1997) และสำหรับมีงอกจะใช้เวลาในการเจริญเติบโต 10-12 ปี หรือ 10-15 ปี จึงจะสามารถออกดอกติดผลได้ (Rukayah and Zabedah, 1992 ; Sorbia et al., 2011) การออกดอกของพืชโดยทั่วไปประกอบด้วย 2 ระยะหลัก คือ ระยะการเปลี่ยนแปลงเพื่อสร้างตาดอกเริ่มเกิด (flower primodium) และระยะการเจริญเปลี่ยนแปลงของตาดอกเริ่มเกิดจนกระทั่งดอกบานและปลดปล่อยเรณู (anthesis)

กลไกควบคุมการเปลี่ยนแปลงจากระยะการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งใบสู่การเจริญทางด้าน การสืบพันธุ์หรือการออกดอกจะเกิดขึ้นได้เมื่อมีสารที่จะส่งสัญญาณชักนำการออกดอกที่เพียงพอ

การเคลื่อนย้ายโปรตีนภายในโพลีเอมจากใบไปยังเนื้อเยื่อเจริญที่จะตอบสนองต่อการควบคุมของยีน ซึ่งมีผลต่อการออกดอกและการบานของดอก โดยเรียกสารที่กระตุ้นให้เกิดการออกดอกซึ่งสร้างที่ใบว่า ฟลอริเจน (florigen) นอกจากนี้พบว่าในพืชส่วนใหญ่มีเนื้อเยื่อเจริญที่มีการเจริญแบบจำกัด (determinate growth) คือมีการกำหนดไว้แล้วว่าจะต้องเจริญไปเป็นอวัยวะสำหรับส่วนสืบพันธุ์ (ลิลลี่, 2546 ; อุปถัมภ์, 2554)

ปัจจุบันได้มีการศึกษาการเจริญและพัฒนาของ โครงสร้างดอกซึ่งถือเป็นอวัยวะสำคัญในพืชชั้นสูงเพื่อนำข้อมูลความรู้ที่ได้มาปรับใช้ให้เป็นประโยชน์ มีการศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยาและการถ่ายเรณูของดอกเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการหาแนวทางการพัฒนาและเพิ่มผลผลิต โดยเฉพาะในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น ในส้มโชกุน (เบญจพร, 2545) ลองกอง (ปรีชาติ, 2549) สะตอ (ช่อทิพย์ และ อุปถัมภ์, 2550) ส้มजू (อิสมะแอ, 2550) และทุเรียน (Honsho et al., 2007) Honsho และคณะ (2004) ศึกษาลักษณะการพัฒนาเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของดอกทุเรียนพันธุ์หมอนทองภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่ามีการชักนำให้เกิดลักษณะของเกสรเพศเมียที่มีก้านเกสรเพศเมียสองลักษณะ (heterostyly) เป็นสาเหตุให้เกิดการป้องกันการผสมตัวเองของดอกทุเรียน สำหรับในส้มแขก (*Garcinia atroviridis* L.) พบว่ามีลักษณะของดอกเพศเมียแยกต้นกันกับดอกเพศผู้ (gynodioecious) (Pangsuban et al., 2007) และการศึกษาในพืชต้นแบบ *Arabidopsis* เพื่อศึกษากลไกการทำงานของยีนควบคุมการเจริญของดอกโดยทั่วไป และสัมพันธ์กับการเกิด อะโปมิคซิสด้วย (Smyth et al., 1990)



**ภาพที่ 2** ไคอะแกรมแสดงส่วนประกอบของดอกบนฐานรองดอกเรียงจาก ด้านนอกเข้าด้านในตามลำดับ (CA : วงกลีบเลี้ยง, CO : วงกลีบดอก, A : วงเกสรเพศผู้, G : วงเกสรเพศเมีย) (ที่มา : <http://www.plantbiology.siu.edu/PLB304/lecture09FloralMor/FloralMorph1.html>)

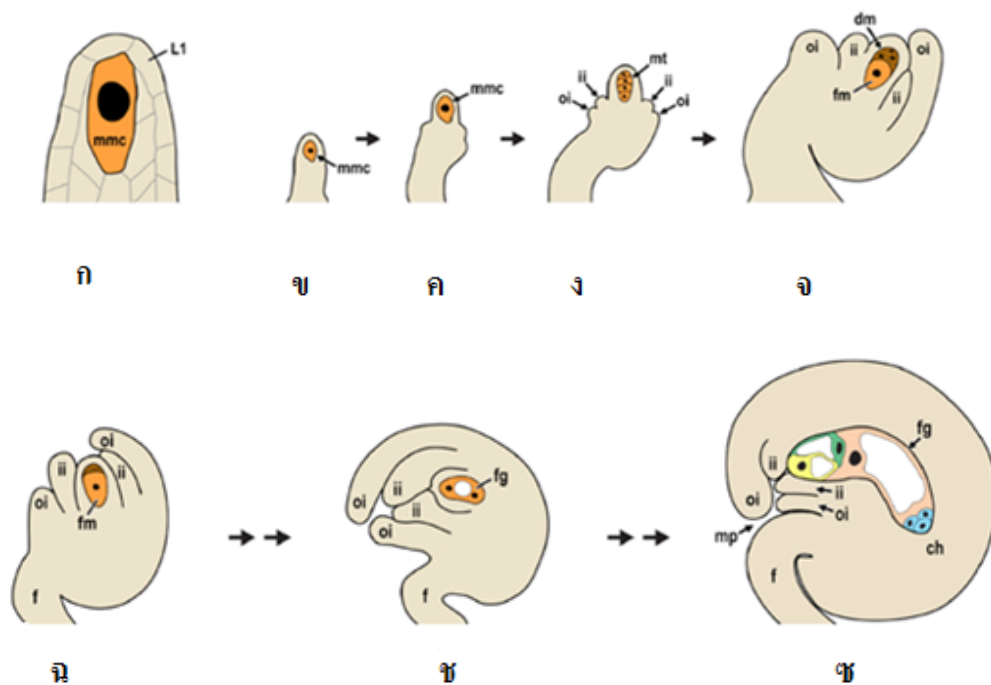
### 1.2.4 การเกิดสปอร์และการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในพืช

โดยทั่วไปพืชดอกจะมีวัฏจักรชีวิตแบบสลับซึ่งมีการสลับระหว่างช่วงชีวิตที่เป็นสปอร์โรไฟท์ที่มีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด (diploid, 2n) กับช่วงชีวิตที่เป็นแกมิโทไฟท์ ซึ่งมีโครโมโซมเพียงชุดเดียว (haploid, n) ในการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของพืชจะเกิดในช่วงชีวิตที่เป็นแกมิโทไฟท์ ซึ่งมี 2 แบบ คือ แกมิโทไฟท์เพศผู้ที่เจริญภายในอับเรณู และแกมิโทไฟท์เพศเมียที่เจริญภายในส่วนออวูลโดยผ่านกระบวนการสร้างสปอร์ (sporogenesis) และกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (gametogenesis) ได้เป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (male gamete) และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (female gamete) เมื่อเซลล์สืบพันธุ์ทั้งคู่มาปฏิสนธิกันเกิดเป็นไซโกตจึงเริ่มเข้าสู่ช่วงชีวิตที่เป็นสปอร์โรไฟท์ (Sundaresan and Alandete-Saez, 2010)

#### 1.2.4.1 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียโดยทั่วไปจะต้องผ่านกระบวนการสร้างเมกะสปอร์ (megasporogenesis) ซึ่งเริ่มจากการสร้างเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ (megaspore mother cells) จนได้ เมกะสปอร์เสร็จสมบูรณ์ เซลล์เมกะสปอร์ที่ได้มีโครโมโซมชุดเดียว (n) จะเข้าสู่กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย หรือเซลล์ไข่ โดยการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส 3 ครั้ง จนได้ถุงเอ็มบริโอที่เจริญเต็มที่ ซึ่งประกอบด้วย 7 เซลล์ 8 นิวเคลียส นั่นคือด้านไมโครไพล์ 3 เซลล์โดยมีเซลล์ไข่อยู่ตรงกลาง และมีซินเนอร์จิสต์ 2 เซลล์ข้างบนข้างส่วนด้านตรงข้ามไมโครไพล์พบ 3 เซลล์ เรียงกันเรียกว่า แอนติโพดอล และตรงกลางเป็นโพลาร์นิวคลีไอมี 2 นิวเคลียส ซึ่งถุงเอ็มบริโอทั้งหมดจะถูกหุ้มไปด้วยส่วนของอินเทกิวเมนต์ ซึ่งเป็นชั้นเนื้อเยื่อของเซลล์ที่มีโครโมโซมสองชุด (diploid sporophytic tissues) และจะเจริญไปประกอบเป็นส่วนเปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) (Maheshwari, 1950 ; Yadegaria and Drews, 2004)

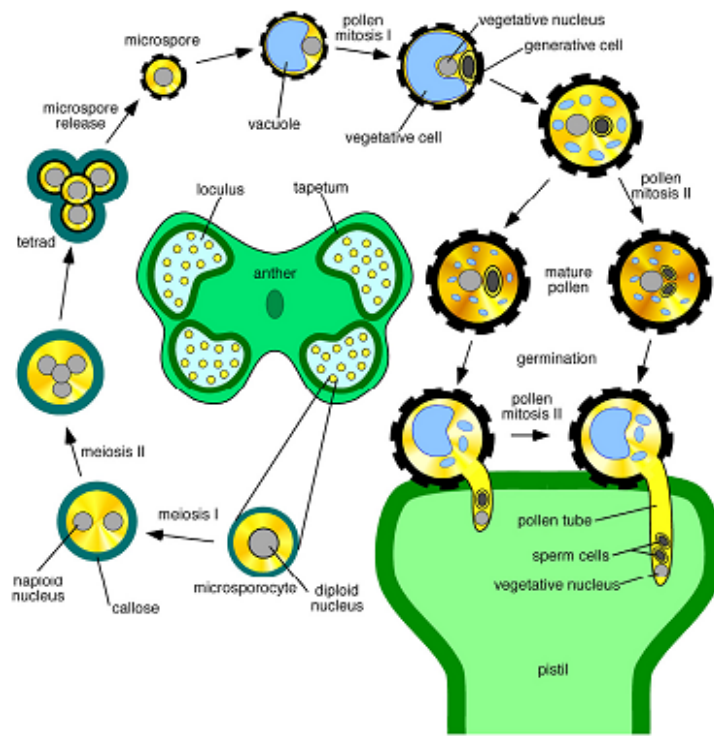
จากการศึกษาการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียใน *Arabidopsis* (Sundaresan and Alandete-Saez, 2010 ; Drews and Koltunow, 2011) เริ่มจากกระบวนการสร้างเมกะสปอร์ (ภาพที่ 3) โดยเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ ที่เจริญมาจากเซลล์ในส่วนของนิวเคลียส ที่เรียกว่า เซลล์อาร์ชีสปอเรียล (archesporial cell) แบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ได้ 4 เซลล์ ต่อมาเสื่อมสลายไป 3 เซลล์ เหลือเมกะสปอร์เซลล์เดียวที่ทำหน้าที่ ซึ่งจะผ่านการแบ่งแบบไมโทซิส 3 ครั้ง เจริญต่อไปเป็นแกมิโทไฟท์หรือถุงเอ็มบริโอ (ภาพที่ 3) ที่ประกอบด้วยโพลาร์นิวคลีไอ 2 นิวเคลียส รวมกันเป็น 1 เซลล์ตรงกลาง ในขณะที่มีเซลล์อีก 3 เซลล์ด้านไมโครไพล์และ 3 เซลล์บริเวณด้านตรงข้ามไมโครไพล์ ดังที่ได้กล่าวไปแล้วซึ่งการเจริญของถุงเอ็มบริโอลักษณะนี้ เรียกว่า ถุงเอ็มบริโอแบบโพสิโกนัม เป็นลักษณะที่พบได้ในพืชดอกกว่า 70 เปอร์เซ็นต์



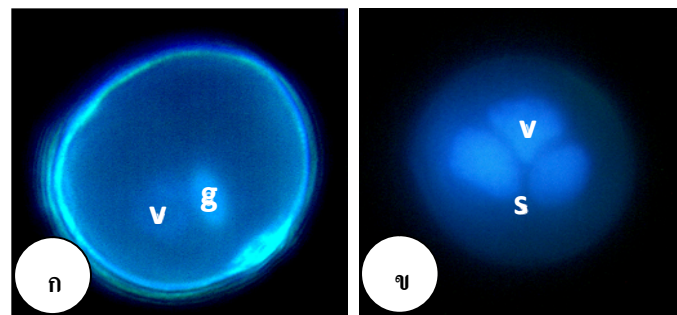
**ภาพที่ 3** กระบวนการสร้างเมกะสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์ในพืชสกุล *Arabidopsis*  
 ก) เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์สร้างจากเนื้อเยื่อชั้นซับอีพิเคอร์มิส ข) เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ ค) เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์เริ่มเกิดไมโอซิส ง) เมกะสปอร์สี่เซลล์หลังการไมโอซิส จ) เมกะสปอร์สลายไป 3 เซลล์เหลือ 1 เมกะสปอร์ที่ทำหน้าที่เพื่อพัฒนาสร้างเซลล์สืบพันธุ์ต่อไป ฉ) เมกะสปอร์ที่ทำหน้าที่มี 1 นิวเคลียส ช) เมกะสปอร์เกิดการไมโทซิส ซ) ถุงเอ็มบริโอที่สมบูรณ์ (ch : ฐานอวูล, dm : เมกะสปอร์ที่เสื่อมสลาย, f : ก้านอวูล, fg : แกมีโตไฟท์เพศเมีย, fm : เมกะสปอร์ที่ทำหน้าที่, ii : เนื้อเยื่ออินเทกิวเมนต์ชั้นใน, L1 : เนื้อเยื่อชั้นนอก , mmc : เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์, mp : ฐัไมโครไฟล์, mt : เมกะสปอร์กลุ่มละสี่ oi : เนื้อเยื่ออินเทกิวเมนต์ชั้นนอก ) (ที่มา : Drews and Koltunow, 2011)

#### 1.2.4.2 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้

กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้จะถูกสร้างภายในอับเรณู เริ่มจากระยะการสร้างไมโครสปอร์ (microsporogenesis) (ภาพที่ 4) ซึ่งเกิดจากเซลล์สร้างไมโครสปอร์ปฐมภูมิ (primary sporogenous cells) เกิดการแบ่งแบบไมโทซิสหลายครั้งจนได้เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ (microspore mother cells) ที่มีโครโมโซม 2 ชุด ซึ่งต่อมาจะแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเพื่อลดจำนวนโครโมโซมลงเหลือเพียง 1 ชุด โดยแบ่งได้เป็นไมโครสปอร์กลุ่มละสี่ (microspore tetrad) แล้วแยกออกจากกันเป็นไมโครสปอร์อิสระ ซึ่งการเกิดไมโครสปอร์จากไมโครสปอร์กลุ่มละสี่สามารถแบ่งตามลักษณะการสร้างของผนังไมโครสปอร์ได้ 2 แบบคือ แบบพร้อมกัน (simultaneous) จะมีการสร้างผนังแคลโลส หลังการแบ่งไซโทพลาซึมและการแบ่งนิวเคลียสเสร็จสิ้นแล้ว ซึ่งส่วนใหญ่พบในพืชใบเลี้ยงคู่ เช่นใน *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch (Zhao et al., 2012) ในขณะที่แบบตามลำดับ (successive) ผนังแคลโลสจะสร้างหลังการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเสร็จสมบูรณ์ (Simpson, 2010) ในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสจะมีการพอกทับของสารแคลโลส รอบผนังเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์จนถึงระยะไมโครสปอร์ โดยการแยกจากกันเป็นอิสระของไมโครสปอร์จะอาศัยการทำงานของเอนไซม์แคลเลส ซึ่งสร้างจากเนื้อเยื่อชั้นทาพิตัม (tapetum) ของอับเรณูในการย่อยสลายผนังแคลโลส หลังจากนั้นจึงเข้าสู่ระยะกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (microgametogenesis) ซึ่งไมโครสปอร์แต่ละเซลล์จะแบ่งแบบไมโทซิส 1 หรือ 2 ครั้ง และเปลี่ยนสภาพเป็นเรณู (แกมีโทไฟท์เพศผู้) พร้อมทั้งจะปฏิสนธิต่อไป โดยที่เรณูนั้นอาจมี 2 หรือ 3 นิวเคลียส ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (ภาพที่ 5) เรณูที่มี 2 นิวเคลียส เกิดจากการแบ่งแบบไมโทซิส 1 ครั้ง ได้ 2 นิวเคลียส คือ เวเจเททิฟ และเจเนอเรทิฟนิวเคลียส โดยผนังรอบเซลล์เจเนอเรทิฟจะน้อยลงหรือหายไป หลังการแบ่งไมโทซิสครั้งที่ 1 ซึ่งเซลล์เวเจเททิฟ เป็นเซลล์ที่มีเยื่อหุ้มล้อมรอบและมีขนาดใหญ่กว่าทำให้เกิดเป็น โครงสร้างที่มีเซลล์เจเนอเรทิฟ อยู่ภายในไซโทพลาซึมของเซลล์เวเจเททิฟ สำหรับเรณูที่มี 3 นิวเคลียส นั้นสามารถพบได้ในพืชดอก ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ เช่น วงศ์ Brassicaceae และ Poaceae โดยเกิดจากเซลล์เจเนอเรทิฟมีการแบ่งแบบไมโทซิส อีก 1 ครั้ง ได้เป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้หรือสเปิร์ม 2 เซลล์ จึงจะสังเกตพบเซลล์เวเจเททิฟและสเปิร์ม 2 เซลล์ ในระยะก่อนที่เรณูจะมีการปลดปล่อยจากอับเรณู (อุปลัมภ์, 2554) ในขณะที่เรณูที่มี 2 นิวเคลียสจะพบว่าเจเนอเรทิฟมีการแบ่งแบบไมโทซิสได้เป็น 2 สเปิร์ม ก็ต่อเมื่อมีการงอกและเจริญของหลอดเรณู หลังจากตกบนยอดเกสรเพศเมียแล้ว (Honys et al., 2006)



ภาพที่ 4 การเจริญและพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้  
(ที่มา : Honys et al., 2006 )



ภาพที่ 5 เรณูที่มี 2 นิวเคลียสในต้น hop (ก) และ 3 นิวเคลียสในต้น elderberry (ข)  
(g : เจเนอเรทีฟ นิวเคลียส, s : สเปิร์ม นิวเคลียส, v : เวเจเททีฟนิวเคลียส)  
(ที่มา : Honys et al., 2006 )

### 1.2.5 เรณูไม่สมบูรณ์ในมังคุด

การศึกษาความเป็นหมันของเรณูในดอกมังคุดเริ่มเมื่อปี 1984 โดย Lan พบว่าดอกมังคุดที่ไม่มีอับเรณู สามารถติดผลได้ แต่ผลจะมีขนาดเล็ก และมีอัตราการติดผลที่น้อยกว่าดอกที่ไม่มีการนำอับเรณูออกไป ต่อมา Yapwattanaphun (2008) ได้รายงานว่าการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ของเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์มีบางเซลล์ที่สามารถแบ่งแบบไมโอซิสต่อไปได้เป็นไมโครสปอร์กุ่มละสี และมีไมโครสปอร์เพียงบางส่วนเท่านั้นที่แยกตัวออกมาเพื่อสร้างเป็นเรณู แต่โพทโทพลาซึมของไมโครสปอร์จะเสื่อมสลายและมีบางเซลล์เจริญให้ไมโครสปอร์กุ่มละสีที่ไม่สมบูรณ์ จึงทำให้ไม่พบเรณูที่มีชีวิตจากอับเรณูของดอกมังคุดทั้งนี้สาเหตุการเสื่อมสลายของไมโครสปอร์กุ่มละสีและไมโครสปอร์อิสระก่อนที่จะเสร็จสิ้นกระบวนการเจริญเป็นเรณูเพราะเนื้อเยื่อทาพิตัม มีความบกพร่องในการทำหน้าที่ เนื้อเยื่อทาพิตัมจะมีการหลั่งเอนไซม์แคลเลสออกมาเพื่อย่อยสลายผนังแคลโลสที่ห่อหุ้มไมโครสปอร์กุ่มละสีอยู่ภายนอกให้แยกออกจากกันได้เป็นไมโครสปอร์อิสระ (Shivanna et al., 2003) ถ้าเนื้อเยื่อทาพิตัมสลายตัวช้าหรือเร็วกว่าปกติการย่อยสลายผนังแคลโลส และการหลั่งสารต่างๆจะเกิดขึ้นผิดช่วงเวลาไปทำให้ไมโครสปอร์ไม่สามารถเจริญเป็นเรณูที่สมบูรณ์ การศึกษาต่อมาพบว่าเนื้อเยื่อทาพิตัม เริ่มสลายตัวในระยะเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ช่วงปลาย และสลายเกือบหมดในระยะไมโครสปอร์กุ่มละสี ในระยะไมโครสปอร์ช่วงต้นในมังคุด และในระยะไมโครสปอร์ช่วงปลาย พบว่าไมโครสปอร์กุ่มละสีบางส่วนสามารถแยกตัวเป็นอิสระ ไมโครสปอร์ที่ได้จะมีรูปร่างที่ผิดปกติไป และพบว่าเนื้อเยื่อทาพิตัมสลายตัวหมดในระยะไมโครสปอร์ช่วงปลาย (Nuanjunkong and Meesawat, 2011) ซึ่งแตกต่างจากพืชอื่นที่สร้างเรณูได้ปกติจะเริ่มมีการสลายตัวของทาพิตัมในช่วงปลายระยะไมโครสปอร์กุ่มละสีหรือไมโครสปอร์ช่วงต้น (Shivanna et al., 2003)

### 1.2.6 การเกิดลักษณะอะโพมิกซิส (apomixis)

อะโพมิกซิส คือลักษณะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของพืชมีเมล็ดแต่ไม่ผ่านการปฏิสนธิ (Koltunow and Scott, 2001 ; Carneiro et al., 2006 ; Te-chato, 2007) ซึ่งพบทั่วไปในพืชดอกกว่า 40 วงศ์ เช่น วงศ์ Asteraceae, Rosaceae Poaceae Orchidaceae Liliaceae และ Clusiaceae เป็นต้น (Hanna and Bashaw, 1987 ; Bicknell and Koltunow, 2004) เอ็มบริโอของพืชกลุ่มนี้จะได้รับสารพันธุกรรมโดยตรงจากต้นแม่ เนื่องจากเจริญมาจาก เซลล์ของออวูล หรือเซลล์ภายในเอ็มบริโอโดยตรงซึ่งไม่ผ่านกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (O'Neill and Roberts, 2002) เป็นผลดีต่อพืชในแง่ของการขยายพันธุ์ การรักษาพันธุกรรมพืช เนื่องจากเมล็ดที่ได้มีองค์ประกอบทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่จึงไม่เกิดการกลายพันธุ์ (Bhat et al., 2005 ; Carneiro et al., 2006) แต่จะมีข้อเสียคือทำให้ไม่มีความหลากหลายทางชีวภาพ การศึกษาลักษณะ อะโพมิกซิสเริ่มเมื่อพบว่าในรุ่นลูกของ *Hieracium* sp. ที่เกิดจากการผสมข้ามไม่เป็นไปตามกฎการแยกของเมนเดล เป็นผลจากการปฏิสนธิที่ผิดปกติ ซึ่งได้มีการศึกษาพบการเกิดอะโพมิกซิสของพืชชนิดอื่นในเวลาต่อมา (Asker and Jerling , 1992 ; Nogler, 1994)

อะโพมิกซิส สามารถแบ่งได้ 2 ชนิด คือ สปอโรไฟติกอะโพมิกซิส (sporophytic apomixis) สร้างแอดเวนทิเชียสเอ็มบริโอ (adventitious embryo) และแกมีโตไฟติกอะโพมิกซิส (gametophytic apomixis) ที่มี 2 ชนิดย่อย คืออะโปสปอริ (apospory) และดิโปสปอริ (diplospory)(Koltunow, 1993 ; O'Neill and Roberts, 2002 ; Carneiro et al., 2006)

**1. สปอโรไฟติกอะโพมิกซิส** คือลักษณะที่เอ็มบริโอเกิดโดยตรงจากเซลล์ในชั้นนิวเคลียส หรือ อินเทกิวเมนต์ ซึ่งเป็นเซลล์ในส่วนชั้นนอกของถุงเอ็มบริโอที่ไม่มีการลดลงของจำนวนโครโมโซม ในขณะที่การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของถุงเอ็มบริโอยังคงเกิดขึ้นตามปกติ กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นในระหว่างการเจริญของออวูลช่วงปลาย เรียกเอ็มบริโอที่ได้จากกระบวนการนี้ว่า แอดเวนทิเชียสเอ็มบริโอ (ภาพที่ 6) พืชส่วนใหญ่ที่มีการเจริญแบบสปอโรไฟติกอะโพมิกซิสนี้ จะมีโครโมโซมเป็น diploid ซึ่งมักพบลักษณะเช่นนี้ได้ทั่วไปในพืชเศรษฐกิจของไทย เช่น มะม่วง และส้ม

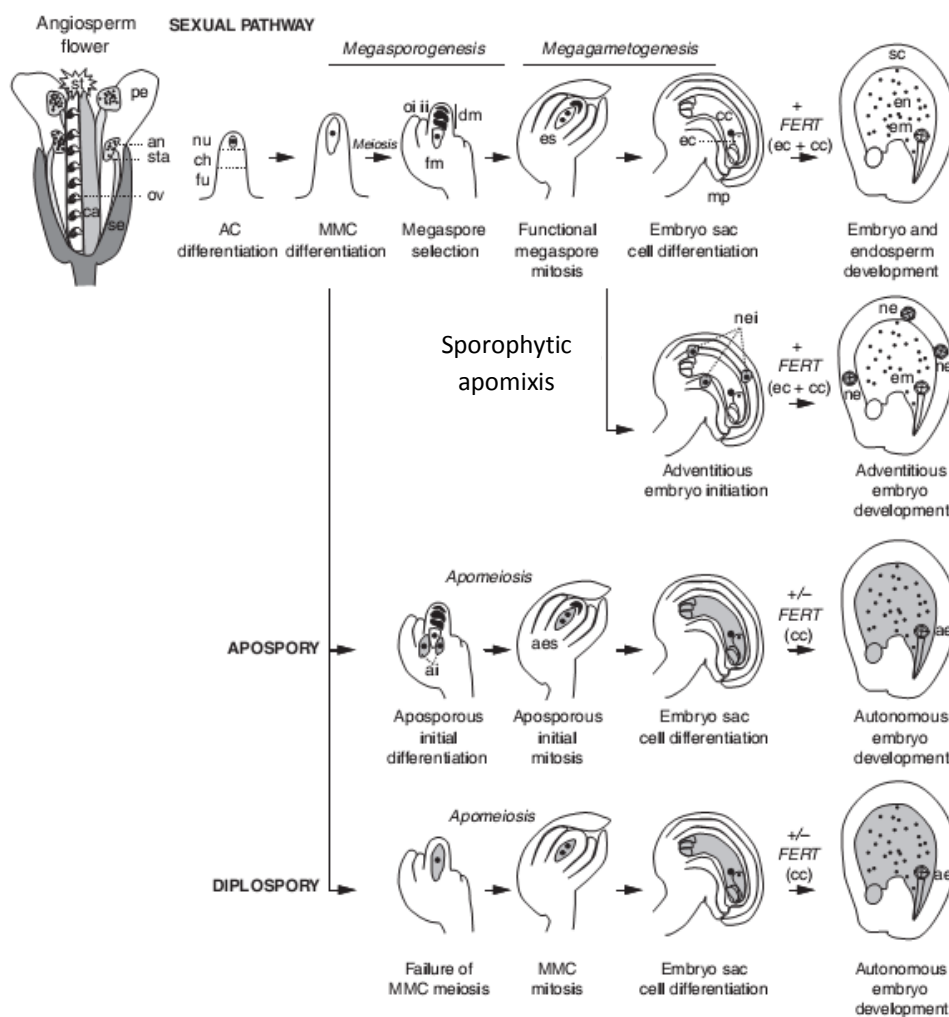


2. **แกมีโตไฟติกอะโพมิกซิส** เป็นลักษณะที่พบในพืชทั่วไปกว่า 450 ชนิด (Bhojwani and Soh, 2001) เอ็มบริโอที่ได้นั้นเจริญโดยตรงจากเซลล์ไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิโดยเซลล์ไข่ที่อยู่ภายในถุงเอ็มบริโอที่ไม่ได้มีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสจึงไม่ได้รับการลดลงของจำนวนโครโมโซม พืชที่มีลักษณะแบบนี้มักมีโครโมโซมหลายชุด (polyploid) โดยกระบวนการนี้จะเกิดในการเจริญของอวุลช่วงต้น (Koltunow, 1993) พืชเศรษฐกิจที่พบ เช่น ลองกอง (ปรีชาติ, 2549) และแอปเปิ้ล (Koltunow, 1993) นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งลักษณะกระบวนการเกิด แกมีโตไฟติกอะโพมิกซิส ออกได้อีก 2 ชนิด แตกต่างกัน คือ

2.1 **อะโพสปอร์แกมีโตไฟติก** คือลักษณะที่ถุงเอ็มบริโอไม่มีการลดลงของโครโมโซมนั้นพัฒนามาจากเซลล์ นิวเคลียสในอวุล โดยกระบวนการเกิดนี้จะได้รับการชักนำในช่วงหลังจากการพัฒนาของเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์แล้ว จึงมีการสร้างถุงเอ็มบริโอบริเวณด้านรูปไมโครไฟล์ จากนั้นเซลล์ไข่จะพัฒนาเป็นเอ็มบริโอ ในขณะที่เอนโดสเปิร์มจะพัฒนาโดยตรงจากโพลาร์นิวเคลียส โดยที่การผสมเกสรและการปฏิสนธิจะมีความจำเป็นสำหรับการเจริญและพัฒนาของเอนโดสเปิร์ม ลักษณะอะโพมิกซิสชนิดนี้พบได้ทั่วไปในพืชหลายสกุลของวงศ์หญ้า (*Pennisetum*, *Cenchrus* และ *Poa*) และสามารถแบ่งชนิดย่อยได้เป็น 2 ชนิดคือ *Hieracium type* ซึ่งถุงเอ็มบริโอมี 8 นิวเคลียส ที่พัฒนาจากนิวเคลียส เซลล์เดี่ยวหรือหลายเซลล์ ในขณะที่อีกชนิดคือ *Panicum type* ถุงเอ็มบริโอมี 4 นิวเคลียส ประกอบด้วยเซลล์ไข่ 3 เซลล์ และโพลาร์นิวเคลียสโดยเกิดจากความผิดปกติระหว่างการแบ่งไมโทซิสของเซลล์ต้นกำเนิดถุงเอ็มบริโอ (Bhat et al., 2005)

2.2 **ดิโพสปอร์แกมีโตไฟติก** คือลักษณะที่เอ็มบริโอพัฒนาโดยตรงจากเซลล์ไข่ที่ไม่มีการลดลงของโครโมโซมในขณะที่เอนโดสเปิร์มพัฒนาโดยตรงจากโพลาร์นิวเคลียสที่ไม่ผ่านการลดโครโมโซมกับเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ที่มีการลดจำนวนโครโมโซม ซึ่งลักษณะนี้สามารถใช้ในการแบ่งชนิดย่อยได้อีก 2 ชนิดต่างกันตามลักษณะการเกิดถุงเอ็มบริโอ คือ mitotic diplospory เกิดจากเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์สร้างเมกะสปอร์พัฒนาเป็นถุงเอ็มบริโอโดยตรงไม่ผ่านการไมโอซิส และ meiotic diplospory เกิดจากเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์มีการไมโอซิสก่อนพัฒนาเป็นเมกะสปอร์และถุงเอ็มบริโอที่สมบูรณ์ โดยบางครั้งอาจเกิดการจำลองตัวเองของโครโมโซมก่อนการไมโอซิสหรืออาจเกิดการไม่เข้าคู่กันของโครโมโซมคู่เหมือนในระยะโปรเฟส I จึงไม่เกิดการเรียงตัวของโครโมโซมในระยะเมตาเฟส I ส่งผลให้เกิดถุงเอ็มบริโอที่ไม่มีการลดลงของโครโมโซม (Khush, 1994 ; Bhat et al., 2005)

การศึกษาลักษณะอะโพมิทซิสในมังคุดได้เริ่มในปี ค.ศ. 1984 โดย Lan ได้รายงานว่ามังคุดมีลักษณะ สปอร์โรไฟติกอะโพมิทซิส โดยพบว่ามังคุดสามารถสร้างเมล็ดได้โดยไม่ผ่านการปฏิสนธิ แต่การศึกษาในครั้งนี้ไม่ได้ระบุแน่ชัดว่าเอ็มบริโอที่พัฒนามาจากส่วนเนื้อเยื่อชั้นอินเทกทิวเมนต์ หรือนิวเซลล์ การศึกษาได้ทดลองพบว่าดอกมังคุดที่ไม่มีอับเรณู สามารถติดผลได้ แต่ผลจะมีขนาดเล็ก และมีอัตราการติดผลที่น้อยกว่าดอกที่ไม่มีการนำอับเรณูออกไป นอกจากนี้ยังพบการสลายตัวของเอ็มบริโอในบางอวูลทำให้เกิดลักษณะเมล็ดลีบในมังคุด โดยการสลายตัวจะพบเฉพาะส่วนเนื้อเยื่ออินเทกทิวเมนต์ชั้นนอกที่เหลืออยู่ ซึ่งจะเจริญเป็นเปลือกหุ้มเมล็ดต่อไป



ภาพที่ 6 กระบวนการเกิดลักษณะอะโพมิกซิสทั้ง 3 ชนิด (diplospory, apospory และ sporophytic apomixis) เปรียบเทียบกับกระบวนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศทั่วไป (st : เกสรเพศเมีย, pe : กลีบดอก, an : อับเรณู, sta : เกสรเพศผู้, ov : ออวูล, ca : คาร์เพล, se : กลีบเลี้ยง, nu : นิวเคลลัส, ch : ด้านตรงข้ามไมโครไฟล์, fu : ก้านออวูล, AC : เซลล์อาร์ชีสปอร์เรียล, MMC : เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์, oi : อินเทกิวเมนต์ชั้นนอก, ii : อินเทกิวเมนต์ชั้นใน, fm : เมกะสปอร์ที่ทำหน้าที่, dm : เมกะสปอร์ที่เสื่อมสลาย, es : ถุงเอ็มบริโอ, ec : เซลล์ไข่, cc : เซลล์ตรงกลาง, mp : ฐ ไมโครไฟล์, FERT : การปฏิสนธิ, sc : เปลือกหุ้มเมล็ด, en : เอนโดสเปิร์ม, em : เอ็มบริโอ, nei : นิวเคลลัสที่ชักนำการเกิดเอ็มบริโอ, ne : เอ็มบริโอที่พัฒนาจากนิวเคลลัส, ai : เซลล์ชักนำอะโพสปอร์รี่, aes : ถุงเอ็มบริโอแบบอะโพสปอร์รี่, ae : เอ็มบริโอที่เจริญอัตโนมัติ (ที่มา : Tucker and Koltunow, 2009)

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเจริญและพัฒนาของโครงสร้างดอกมังคุดตั้งแต่ระยะเริ่มสร้างตาดอกจนถึงระยะดอกบาน
2. เพื่อศึกษาลักษณะการเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย
3. เพื่อศึกษาความมีชีวิตของไมโครสปอร์กลุ่มละติและไมโครสปอร์

## บทที่ 2

### วิธีการศึกษา

#### 1. วัสดุอุปกรณ์

- 1.1 ดิจิตอลเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์
- 1.2 ไม้บรรทัด
- 1.3 กรรไกรตัดกิ่ง
- 1.4 นาฬิกาจับเวลา
- 1.5 ขวดแก้วขนาดเล็ก กลาง และใหญ่
- 1.6 กระบอกตวง
- 1.7 ขวดใส่สารเคมี (reagent bottle)
- 1.8 บล็อกพลาสติก (embedding ring)
- 1.9 ปากคีบ (forcep)
- 1.10 เครื่องอุ่นสไลด์
- 1.11 เข็มเขี่ย
- 1.12 แผ่นสไลด์แก้ว (slide)
- 1.13 กระจกปิดสไลด์ (cover glass)
- 1.14 แม่แบบหรือกระทงโลหะ (mold)
- 1.15 เครื่องฝังพาราฟิน (paraffin embedding center)
- 1.16 เครื่องโรตารีไมโครทอม
- 1.17 มีดไมโครทอม (microtome knife)
- 1.18 อ่างลอยเนื้อเยื่อ (floating bath)
- 1.19 ก่องพักสไลด์
- 1.20 ก่องใส่สไลด์
- 1.21 ตู้อบ (oven)
- 1.22 เตาไฟฟ้า (hot plate)

- 1.23 คอปปลิ้นจาร์ (coplin jar)
- 1.24 ตู้ดูดไอสารเคมี (flume hood)
- 1.25 แท่นวางตัวอย่าง (stub)
- 1.26 เทปกาว 2 หน้า
- 1.27 กระดาษฟรอยด์
- 1.28 แท่งแก้วคน
- 1.29 เครื่องฉาบทอง (sputter coater)
- 1.30 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดรุ่น FEI Quanta 400 (SEM-Quanta)
- 1.31 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดรุ่น JEOL JSM-6460LV
- 1.32 กล้องจุลทรรศน์ ฟลูออเรสเซนซ์ (Olympus รุ่น Bx-51)
- 1.33 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Olympus รุ่น BX-51)

## 2. สารเคมี

- 2.1 น้ำกลั่น
- 2.2 น้ำยาคงสภาพฟิทรูจควิทซ์ (ภาคผนวก ก)
- 2.3 น้ำยาสำหรับดึงน้ำออกจากเซลล์ t-butyl alcohol series 12 ตำดัดบ (ภาคผนวก ก)
- 2.4 น้ำยาเมตติ้งมีเดีย
- 2.5 สีสีมาท็อกไซลินสูตร Delafield (ภาคผนวก ก)
- 2.6 สีซาฟรานิน โอ (ภาคผนวก ก)
- 2.7 แอซิดคูลเตวอเตอร์ (acidulate water)
- 2.8 ลิเทียมคาร์บอเนต 0.1 %
- 2.9 ไซลีนซบตีทิวด์ (xylene substitute)
- 2.10 เอซิลแอลกอฮอล์ 95%, 70%, และ 50%
- 2.11 เอซิลแอลกอฮอล์บริสุทธิ์
- 2.12 เอซิลแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ : ไซลีน ในอัตราส่วน 1:1

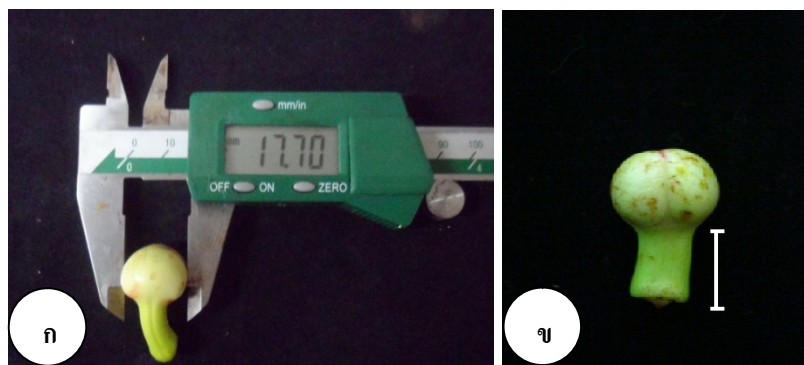
- 2.13 น้ำยาคงสภาพสำหรับ SEM
- 2.14 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์
- 2.15 เอธิลแอลกอฮอล์ ตั้งแต่ 30% -100%
- 2.16 สีย้อมฟลูออเรสซินไดอะเซเตต (fluorescein diacetate)
- 2.17 อะซิโตน
- 2.18 เอธิลแอลกอฮอล์ 70%
- 2.19 แคลเซียมไนเตรต (calcium nitrate)
- 2.20 สารละลายน้ำตาล 15%

## ขั้นตอนการศึกษา

เลือกศึกษาดาดอกและดอกมังคุดในต้นที่มีอายุ 6-10 ปี จากแปลงมังคุด คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ และสวนมังคุดบริเวณใกล้เคียงในจังหวัดสงขลา โดยจะแบ่งช่วงระยะเวลาของการเจริญของดอกเป็นระยะต่างๆตั้งแต่ระยะดาดอก ไปจนถึงระยะที่ดอกเริ่มบานและติดผล โดยจะศึกษาในช่วงเดือนออกดอกตามฤดูกาลซึ่งจะเริ่มเก็บระยะแรกตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2555 ไปจนถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2556 เก็บทั้งหมด 4 ครั้ง แล้วนำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์และสัณฐานวิทยา การเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย ด้วยวิธีการทางพาราฟินเทคนิคและตรวจสอบความมีชีวิตของเรณูในดอกมังคุดแต่ละระยะ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

### 1. การเก็บตัวอย่าง

ออกสำรวจแปลงมังคุดทั้งในคณะทรัพยากรธรรมชาติและบริเวณใกล้เคียงในจังหวัดสงขลา เก็บดอกมังคุดในระยะต่างๆ ตั้งแต่ระยะดาดอกไปจนถึงระยะที่ดอกบานเต็มที่และติดผล โดยแบ่งระยะตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดอกหรือดาดอก เก็บตัวอย่างในแต่ละระยะๆละ 20 ดาดอกหรือดอก วัดขนาดความยาวของก้านดอกทุกระยะ โดยใช้ดิจิทัลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ เพื่อนำมาคำนวณความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความยาวก้านดอกโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (one-way ANOVA) (ภาพที่ 7) พร้อมบันทึกภาพ



ภาพที่ 7 แสดงลักษณะตาดอกมั่งคุดที่นำมาศึกษา

ก) แสดงการวัดขนาดตาดอก

ข) ความยาวก้านดอก

## 2. การศึกษาตัวอย่างด้วยพาราฟินเทคนิค

### 2.1 การคงสภาพตัวอย่าง

นำชิ้นส่วนตาดอกและดอกมั่งคุดในระยะต่างๆ มาแช่ในน้ำยาคงสภาพฟิทรูจเควิทซ์ เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง (ภาพที่ 8ก) ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำมาเข้าสู่กระบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration) เพื่อให้ชิ้นส่วนปราศจากน้ำโดยใช้เทอร์เชียรีบิวทิลแอลกอฮอล์ (t-butyl alcohol) ที่เป็นส่วนผสมในน้ำยาดึงน้ำออกจากเซลล์ โดยจะมี 12 ลำดับ จากระดับความเข้มข้นต่ำไปหาความเข้มข้นสูง (ภาพที่ 8ข) ซึ่งแต่ละระดับจะแช่ชิ้นส่วนนานประมาณ 2 ชั่วโมง โดยสามารถหยุดหรือคงสภาพตัวอย่างข้ามคืนได้เมื่อถึงน้ำยาลำดับที่ 6 สามารถย้ายตัวอย่างไปเก็บรักษาสภาพไว้ในเอซิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70% เพื่อรอการนำไปใช้ในน้ำยาดึงน้ำลำดับต่อไปได้



## 2.2. การเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีทางพาราฟิน

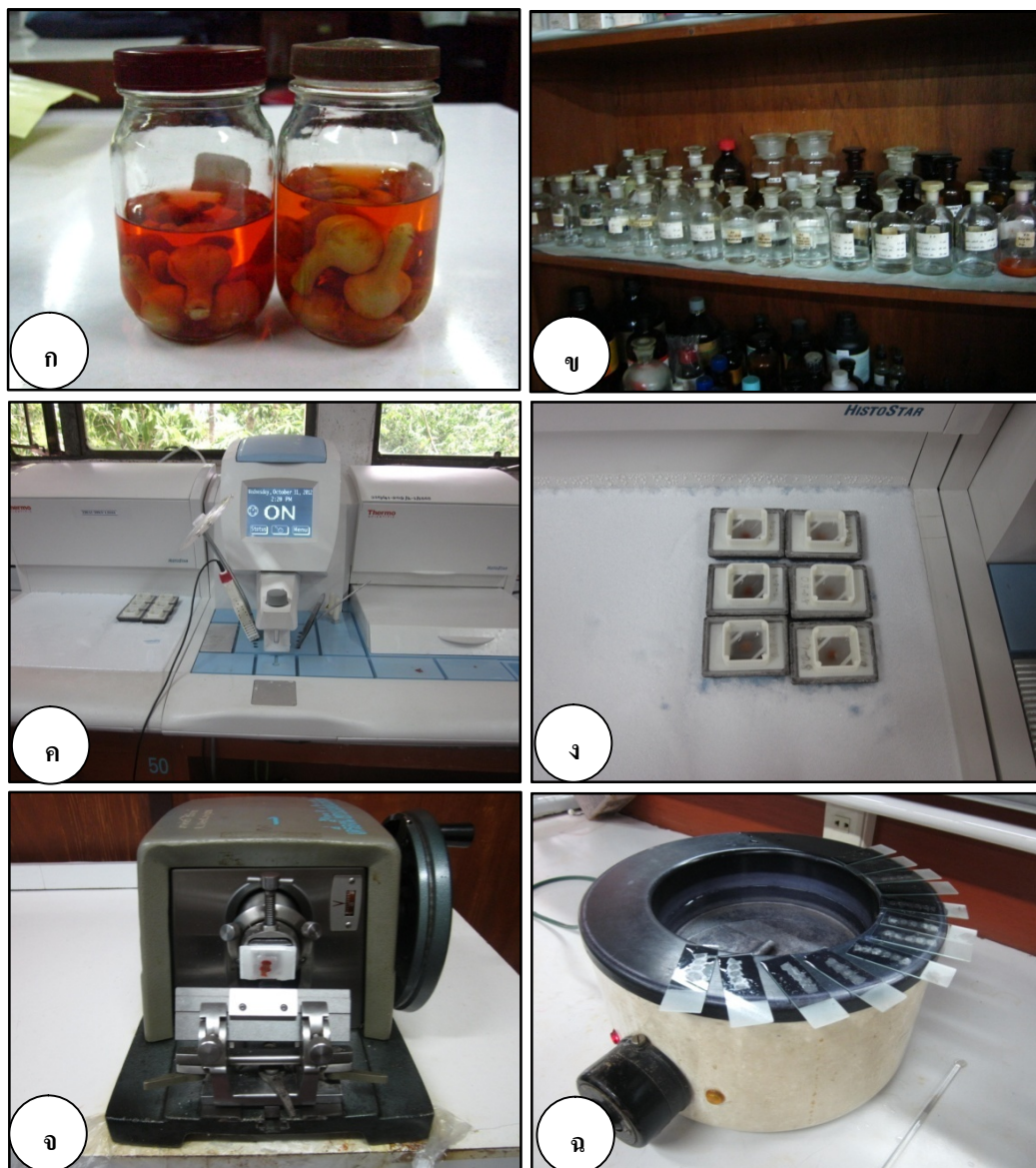
นำตัวอย่างที่ผ่านการคงสภาพและการดึงน้ำออกจากเซลล์แล้ว มาเข้าสู่กระบวนการแทรกซึม (infiltration) โดยการค่อยๆ ให้พาราฟินเหลว ซึมเข้าสู่เซลล์และชิ้นส่วนพืชจนเต็ม หลังจากนั้นจึงนำชิ้นส่วนไปฝังในพาราฟินแข็งด้วยเครื่องฝังพาราฟิน (paraffin embedding center) (ภาพที่ 8ค,ง) เพื่อตัดเป็นชิ้นบางที่มีความหนา 6-8 ไมโครเมตร ( $\mu\text{m}$ ) ด้วยเครื่องโรตารีไมโครโทม (ภาพที่ 8จ) นำชิ้นบางลอยในอ่างลอยเนื้อเยื่อเพื่อติดบนสไลด์ (ภาพที่ 8ฉ) และเก็บรักษาแผ่นสไลด์ที่ได้ในกล่องใส่สไลด์ เพื่อการย้อมสีต่อไป

## 2.3. การย้อมสีเพื่อศึกษาลักษณะของเนื้อเยื่อ

นำเนื้อเยื่อชิ้นบางของตาดอกมังคุดในระยะต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนวิธีการทางพาราฟินแล้วมาย้อมสีด้วยสีฮีมาทอกซิดินซาฟรานิน (delafield's hematoxylin and safranin staining) ตามวิธีของ Ruzin (1999) เพื่อศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในระยะต่างๆ การสร้างสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียต่อไป

## 3. การศึกษาตัวอย่างโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

นำสไลด์ของเนื้อเยื่อชิ้นบางของเกสรเพศผู้และเพศเมียในระยะต่างๆ ที่ผ่านขั้นตอนการทางพาราฟินและย้อมสีเรียบร้อยแล้วมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อระยะต่างๆ พร้อมบันทึกภาพ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง Olympus รุ่น BX-51 บันทึกภาพโดยใช้โปรแกรม DP-2 -BSW



ภาพที่ 8 แสดงขั้นตอนและอุปกรณ์ในวิธีทางพยาธิวิทยา

ก) ดอกมั่งคุดที่แช่ในน้ำยาคงสภาพ พิทูรงควิซ

ข) น้ำยาดังน้ำออกจากเซลล์ 12 ลำดับ ค) เครื่องฝังพยาธิวิทยา

ง) ตัวอย่างที่ฝังในพยาธิวิทยาแข็ง จ) การตัดชิ้นบางด้วยเครื่องโรตารี

ไมโครโทม ฉ) ชิ้นบางติดบนสไลด์โดยการลอยในอ่างลอยเนื้อเยื่อ

#### 4. การศึกษาตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

4.1. นำตัวอย่างของชิ้นส่วนตาดอกและดอกมังคุดในระยะที่ต้องการ มาแยกชิ้นส่วน (dissected) และนำมาคงสภาพโดยการแช่ในน้ำยาคงสภาพ SEM fixative (ภาคผนวก ก) ที่อุณหภูมิ 4°C อย่างน้อย 2 ชั่วโมง

4.2. ล้างตัวอย่างด้วย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 2-3 ครั้ง

4.3. ขจัดน้ำออกจากตัวอย่างโดยใช้ Alcohol series จากความเข้มข้นต่ำๆ ไปจนถึง เอทิลแอลกอฮอล์ 100% คือ

เอทิลแอลกอฮอล์ 30%	15-30 นาที	2 ครั้ง
เอทิลแอลกอฮอล์ 50%	15-30 นาที	2 ครั้ง
เอทิลแอลกอฮอล์ 70%	15-30 นาที	2 ครั้ง
เอทิลแอลกอฮอล์ 80%	15-30 นาที	2 ครั้ง
เอทิลแอลกอฮอล์ 90%	15-30 นาที	2 ครั้ง
เอทิลแอลกอฮอล์ 95%	15-30 นาที	2 ครั้ง
เอทิลแอลกอฮอล์ 100%	30 นาที	2 ครั้ง

4.4. นำตัวอย่างไปทำให้แห้ง ด้วยวิธีการทำตัวอย่างให้แห้งสนิท (critical point drying) เพื่อปรับสภาพตัวอย่างให้แห้ง ณ อุณหภูมิวิกฤตของคาร์บอนไดออกไซด์เหลวหลังจากผ่านกระบวนการกำจัดน้ำออก

4.5. นำตัวอย่างมาติดบนแท่นวางตัวอย่าง (stub) โดยใช้เทปกาว 2 หน้าเป็นตัวยึด

4.6. นำตัวอย่างไปฉาบทองด้วยเครื่องฉาบทอง (sputter coater) เป็นเวลาประมาณ 3 นาที

4.7. นำตัวอย่างที่ฉาบด้วยทองมาบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น FEI Quanta 400 (SEM-Quanta) และรุ่น JEOL JSM-6460LV

### 3. การศึกษาความมีชีวิตของไมโครสปอร์กลุ่มละติและไมโครสปอร์โดยใช้วิธีการทดสอบแบบ Fluorochromatic Reaction (FCR test )

นำอับเรณูจำนวน 20 อับเรณูจาก 4 าดอก (5 อับเรณู/ตาดอก) ในทุกระยะมาศึกษาโดยการหยดสารละลายน้ำตาล 15% ประมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองหลังจากนั้นหยดสารละลายของสียฟลูออเรสซิน โคอะซีเตตที่โซอะซีโตนเป็นตัวทำละลาย ลงในหลอดดังกล่าวจนกระทั่งส่วนผสมขุ่นแล้วจึงหยดส่วนผสมข้างต้นลงบนสไลด์ เขี่ยอับเรณูลงบนสไลด์และใช้เข็มเขี่ยอับเรณูให้เปิดออกวางบนอุปกรณ์ดูความชื้นอย่างง่าย (จานเพาะเชื้อที่มีกระดาษอเนกประสงค์ที่ชุ่มน้ำ) 10 นาที นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้ลำแสงความยาวคลื่น 489 นาโนเมตรเป็นตัวกระตุ้น เซลล์ที่มีชีวิตจะเรืองแสงสีเหลืองอมเขียวพร้อม นับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตโดยนับทั้งหมด 10 พื้นที่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คำนวณความมีชีวิตแล้วนำไปทดสอบทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (one-way ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของไมโครสปอร์กลุ่มละติและไมโครสปอร์ในแต่ละระยะ

### บทที่ 3

#### ผลการศึกษา

ศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์และสัณฐานวิทยา การเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียในมังคุด เก็บตัวอย่างตาดอกและดอกมังคุดในต้นที่มีอายุ 6-10 ปี จากแปลงมังคุด คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ และสวนมังคุดบริเวณใกล้เคียงในจังหวัดสงขลา โดยเริ่มเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2555 ไปจนถึง เดือนเมษายน พ.ศ. 2556 นำตัวอย่างที่ได้มาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและแบ่งการเจริญเป็นระยะต่างๆ ตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตาดอกและดอก เพื่อนำมาศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ในแต่ละระยะ ด้วยพาราฟินเทคนิคและตรวจสอบความมีชีวิตของเรณูในดอกมังคุดแต่ละระยะ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ผลการศึกษา คือ

#### 3.1 ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์และสัณฐานวิทยาของดอกมังคุดระยะต่างๆ

ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของดอกมังคุดจากการเก็บตัวอย่างตั้งแต่ระยะตาดอกไปจนถึงระยะที่ดอกบาน โดยแบ่งตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดอกหรือตาดอก สามารถแบ่งได้ทั้งหมด 11 ระยะ (ภาพที่ 9) โดยเริ่มตั้งแต่ระยะที่ตาดอกมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.2 เซนติเมตร ถึงระยะดอกบาน พบว่ามีก้านดอกตั้งแต่ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7-0.8 เซนติเมตร เป็นต้นไปและก้านดอกแต่ละระยะ มีความยาวก้านดอกเฉลี่ยดังแสดงในตารางที่ 1 จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ความยาวก้านของตาดอกและดอกมังคุดในแต่ละระยะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% นอกจากนี้พบลักษณะน้ำยางมีสีเหลือง ในดอกมังคุดทุกระยะ เกสรเพศผู้มี 14-20 อัน เรียงอยู่รอบฐานของรังไข่โดยมีความยาวก้านเกสรเพศผู้ไม่เท่ากัน ดอกบานพบเกสรเพศผู้เหี่ยวแห้งและร่วงไปบางส่วนเหลือเพียงเกสรเพศเมียที่มีขนาดใหญ่ 1 อัน อยู่เหนือฐานรองดอก และจะเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้นจนเจริญต่อไปเป็นผล



ภาพที่ 9 แสดงขนาดดอกมังคุดระยะต่างๆแบ่งตามความยาวเส้นผ่านศูนย์กลาง  
 ระยะที่ 1 ขนาด 0.1-0.2 เซนติเมตร ระยะที่ 2 ขนาด 0.3-0.4 เซนติเมตร ระยะที่ 3  
 ขนาด 0.5- 0.6 เซนติเมตร ระยะที่ 4 ขนาด 0.7-0.8 เซนติเมตร ระยะที่ 5 ขนาด  
 0.9-1.0 เซนติเมตร ระยะที่ 6 ขนาด 1.1-1.2 เซนติเมตร ระยะที่ 7 ขนาด 1.3-1.4  
 เซนติเมตร ระยะที่ 8 ขนาด 1.5-1.6 เซนติเมตร ระยะที่ 9 ขนาด 1.7-1.8 เซนติเมตร  
 ระยะที่ 10 ขนาด 1.9-2.0 เซนติเมตร และระยะที่ 11 ระยะดอกบาน  
 ตารางที่ 1 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาวก้านของดอกมังคุดในแต่ละระยะ

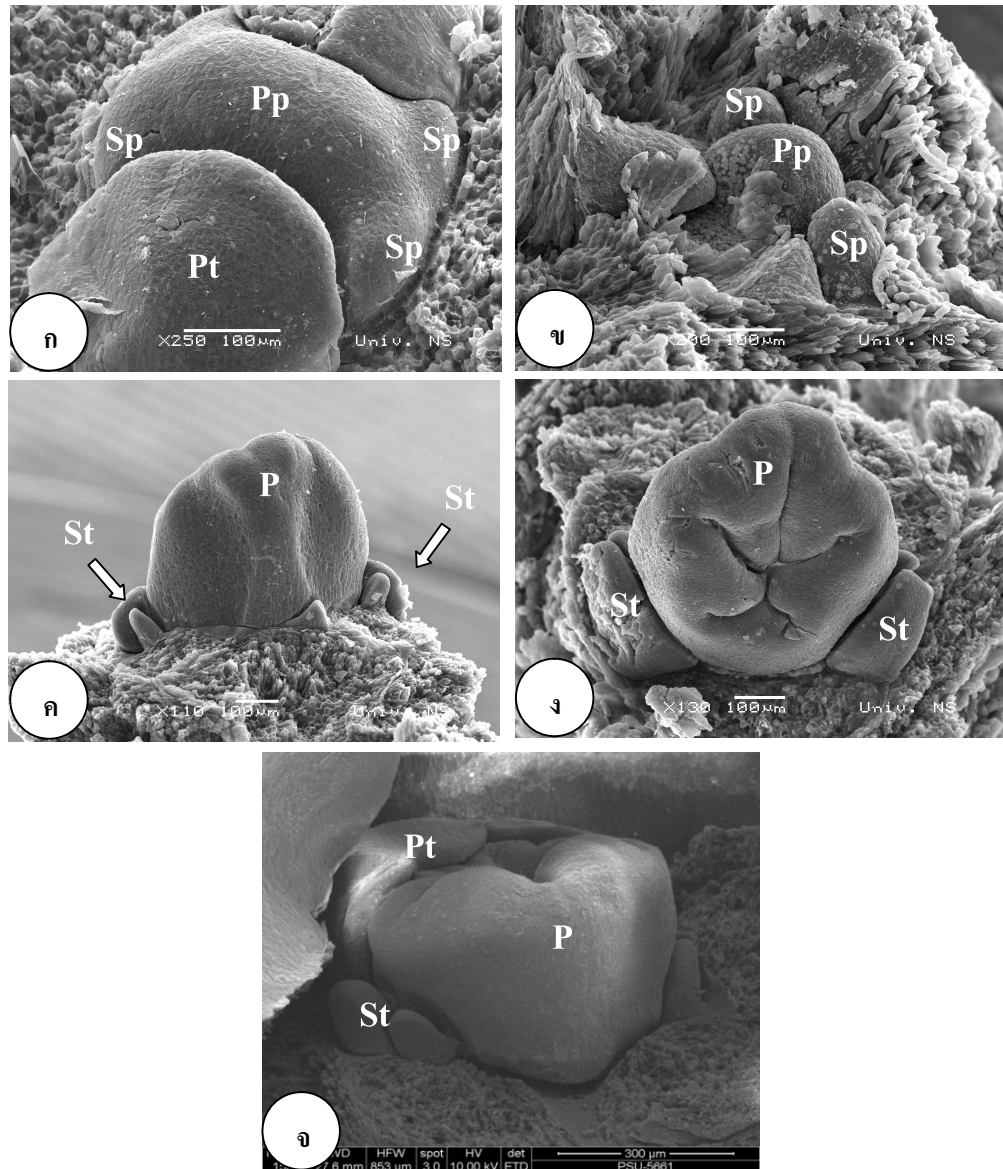
ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ดาดอก (เซนติเมตร)	ค่าเฉลี่ยความยาวก้าน (เซนติเมตร) $\bar{x} \pm SD$
0.1-0.2	-
0.3-0.4	-
0.5-0.6	-
0.7-0.8	$0.40 \pm 0.12^h$
0.9-1.0	$0.70 \pm 0.14^g$
1.1-1.2	$0.94 \pm 0.81^f$
1.3-1.4	$1.14 \pm 0.23^e$
1.5-1.6	$1.38 \pm 0.20^d$
1.7-1.8	$1.58 \pm 0.24^c$
1.9-2.0	$1.82 \pm 0.22^b$
ระยะดอกบาน	$1.97 \pm 0.17^a$

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ( $\pm S.D.$ ) ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DM

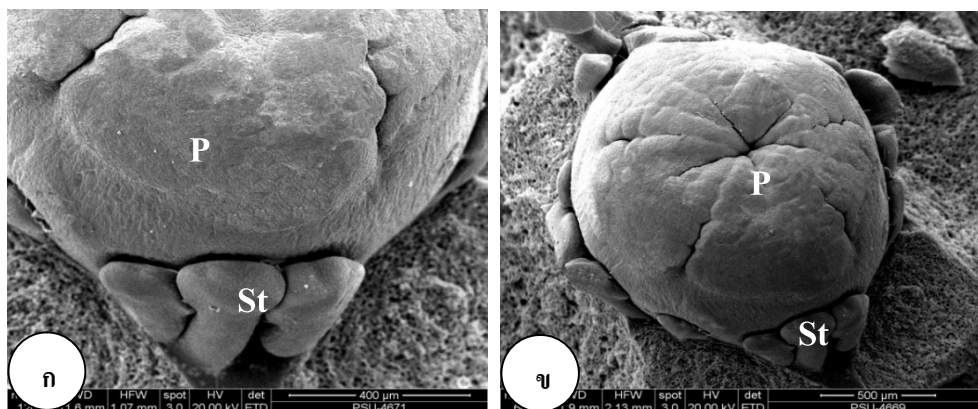
จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าในระยะแรก าดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.2 เซนติเมตร มีการพัฒนาในระยะดอกเริ่มเกิด ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเจริญที่จะพัฒนาเป็นทั้งในส่วนของวงเกสรเพศผู้และวงเกสรเพศเมีย (ภาพที่ 10 ก และข) โดยสังเกตเห็นจุดเริ่มเกิดวงเกสรเพศผู้และจุดเริ่มเกิดวงเกสรเพศเมีย (stamen and pistil primodium) ลักษณะเป็นโดมเดี่ยว ซึ่งเป็นโครงสร้างของกลุ่มเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดที่พัฒนาเพื่อสร้างเป็นตาดอก ขณะที่ระยะนี้กลีบเลี้ยงและกลีบดอกมีการเจริญสมบูรณ์แล้ว ต่อมาระยะดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3-0.4 เซนติเมตร เกสรเพศเมียจะยกตัวสูงขึ้นมีการยุบตัวเล็กน้อยบริเวณตรงกลางยอด ในขณะที่เกสรเพศผู้เริ่มมีการยืดยาวของก้านชูอับเรณู (ภาพที่ 10 ค ง และ จ) ซึ่งต่อมาในระยะดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 เซนติเมตร เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียจะพัฒนาสมบูรณ์ (ภาพที่ 11 ก และ ข) เกสรเพศผู้ที่สมบูรณ์ประกอบด้วยโครงสร้างสองส่วนคืออับเรณูและก้านชูอับเรณูที่เชื่อมต่อกันด้วยเนื้อเยื่อคอนเนคทีฟ และมัดท่อลำเลียงที่ทำหน้าที่ลำเลียงน้ำและอาหาร โดยอับเรณูมีการคอดเว้าเป็นสันนูนลักษณะ 3-4 พู ส่วนเกสรเพศเมียที่สมบูรณ์มีลักษณะยอดเชื่อมต่อนឹងกับก้านเกสรเพศเมีย หลังการยุบตัวบริเวณตรงกลางยอดเกสรเพศเมียเกิดการคอดเว้าเป็นสันนูนประมาณ 4-8 สัน ซึ่งยอดเกสรเพศเมียลักษณะนี้จะคงอยู่ไปตลอดจนถึงระยะติดผลเป็นลักษณะเด่นของผลมังคุด สอดคล้องกับการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของตาดอกและดอกมังคุดที่ศึกษาเนื้อเยื่อโดยวิธีการทางพาราฟิน พบการเจริญของเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียพัฒนาจากกลุ่มของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) เป็นตาดอกเริ่มเกิด ในระยะดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.2 เซนติเมตร สังเกตจุดเริ่มเกิดเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียเชื่อมติดกันลักษณะเป็นโดมเดี่ยวขนาดใหญ่ (ภาพที่ 12ก) ซึ่งในระยะเดียวกันนี้ยังพบตาดอกที่จุดเริ่มเกิดเกสรเพศผู้พัฒนาแบ่งและเพิ่มจำนวนเซลล์บริเวณมุมทั้งสองข้างของจุดเริ่มเกิดเกสรเพศเมียเป็นลักษณะ โดมขนาดเล็ก 2 ข้าง (ภาพที่ 12 ข) ซึ่งจะพัฒนาเป็นเกสรเพศผู้ต่อไป จุดเริ่มเกิดเกสรเพศผู้พัฒนาอยู่รอบเกสรเพศเมียดังเช่นในผลการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่พบจุดเริ่มเกิดเกสรเพศผู้หลายจุดรอบจุดเริ่มเกิดเกสรเพศเมีย ในระยะดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3-0.4 เซนติเมตร (ภาพที่ 12ค) จุดเริ่มเกิดเกสรเพศผู้มีการเจริญยืดยาวขึ้นเห็น โครงสร้างของก้านชูอับเรณู ในขณะที่จุดเริ่มเกิดเกสรเพศเมียมีการเจริญยืดยาวและยุบตัวบริเวณตรงกลาง โครงสร้าง ในระยะดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 เซนติเมตร เกสรเพศเมียพัฒนาพร้อมอับเรณูมีการเจริญยืดยาวของกลุ่มเนื้อเยื่อ

ต่างๆ รวมทั้งมัดท่อลำเลียง ของก้านชูอับเรณูชัดเจนขึ้นเกสรเพศเมียมีการเจริญที่ยอดเชื่อมต่อเนื่อง เป็นส่วนเดียวกันกับก้านเกสรเพศเมียโดยพบก้านเป็นแบบปิด (solid type) (ภาพที่ 12ง) ซึ่งเป็นลักษณะที่มักพบได้ทั่วไปในพืชใบเลี้ยงคู่ ก้านชูแบบปิดนี้ประกอบด้วยเนื้อเยื่อทรานส์มิตติง (transmitting tissue) ตลอดแนวยาวของก้านเกสรเพศเมียไปจนถึงปลาเซนตาของรังไข่ ซึ่งมีคุณสมบัติในการหลังสารอาหารและเอนไซม์ที่จำเป็นในการสร้างเส้นทางให้กับหลอดเรณูที่จะเจริญผ่านไปตามช่องว่างระหว่างเซลล์ เพื่อไปผสมกับเซลล์ไข่ภายในออวูล

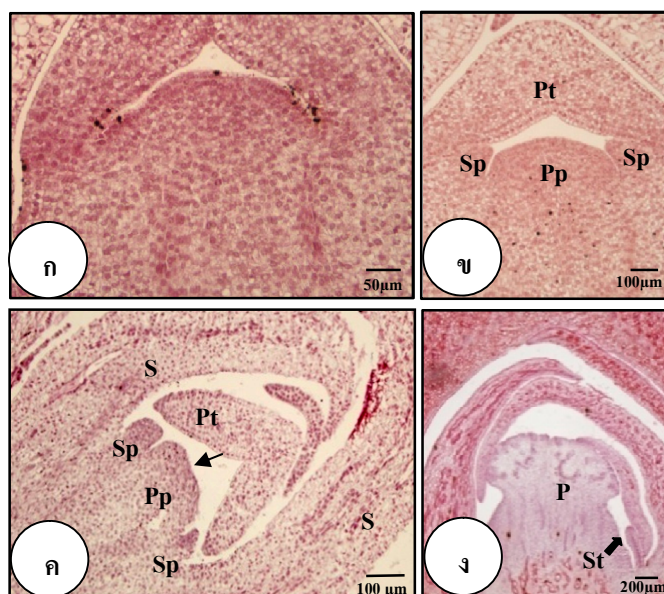




**ภาพที่ 10** โครงสร้างต่างๆ ภายในตาดอกมังคุดระยะแรกที่ยังไม่มีก้านดอก  
 ก-ข) ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1- 0.2 เซนติเมตร มีจุดเริ่มเกิดเกสร  
 เพศผู้และจุดเริ่มเกิดเกสรเพศเมีย ค-ง) ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3-  
 0.4 เซนติเมตร อับเรณูมีการเจริญยืดยาว เกสรเพศเมียยกตัวสูงขึ้นมีการยุบตัว  
 เล็กน้อยบริเวณตรงกลางยอด (Pp : จุดเริ่มเกิดเกสรเพศเมีย, Pt : กลีบดอก,  
 P : เกสรเพศเมีย, Sp : จุดเริ่มเกิดเกสรเพศผู้, St : เกสรเพศผู้)



ภาพที่ 11 โครงสร้างของเกสรเพศผู้และเพศเมียในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 เซนติเมตร ก-ข) โครงสร้างเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย (P : เกสรเพศเมีย, St : เกสรเพศผู้)



ภาพที่ 12 การเจริญของโครงสร้างต่างๆในระยะตาดอกที่ยังไม่มีก้านดอก (ตัดตามยาว)  
 ก) ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.2 เซนติเมตร มีจุดเริ่มเกิดเกสรเพศผู้และเพศเมียเชื่อมติดกันเป็นโดมขนาดใหญ่ ข) จุดเริ่มเกิดเกสรเพศผู้พัฒนาเป็นโดมขนาดเล็กตรงมุมสองข้างของจุดเริ่มเกิดเกสรเพศเมีย ค) ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3-0.4 เซนติเมตร ก้านชูอับเรณูยืดยาวขึ้นและมีการยุบตัวบริเวณตรงกลางยอดเกสรเพศเมีย (สรชี้) ง) ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 เซนติเมตร เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียพัฒนาสมบูรณ์พบก้านเกสรเพศเมียแบบปิด (P : เกสรเพศเมีย, Pp : จุดเริ่มเกิดเกสรเพศเมีย, Pt : กลีบดอก, S : กลีบเลี้ยง, Sp : จุดกำเนิดเกสรเพศผู้, St : เกสรเพศผู้)

## 3.2 การเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์ในมังคุด

### 3.2.1 การเกิดไมโครสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในมังคุด

การศึกษาทางวิทยาการเจริญของไมโครสปอร์และการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในมังคุด โดยการตัดผ่านเกสรเพศผู้ของตาดอกและดอกมังคุดแต่ละระยะในแนวขวาง พบการเจริญและเปลี่ยนแปลงภายในอับเรณู ดังนี้

#### 1) ระยะเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์

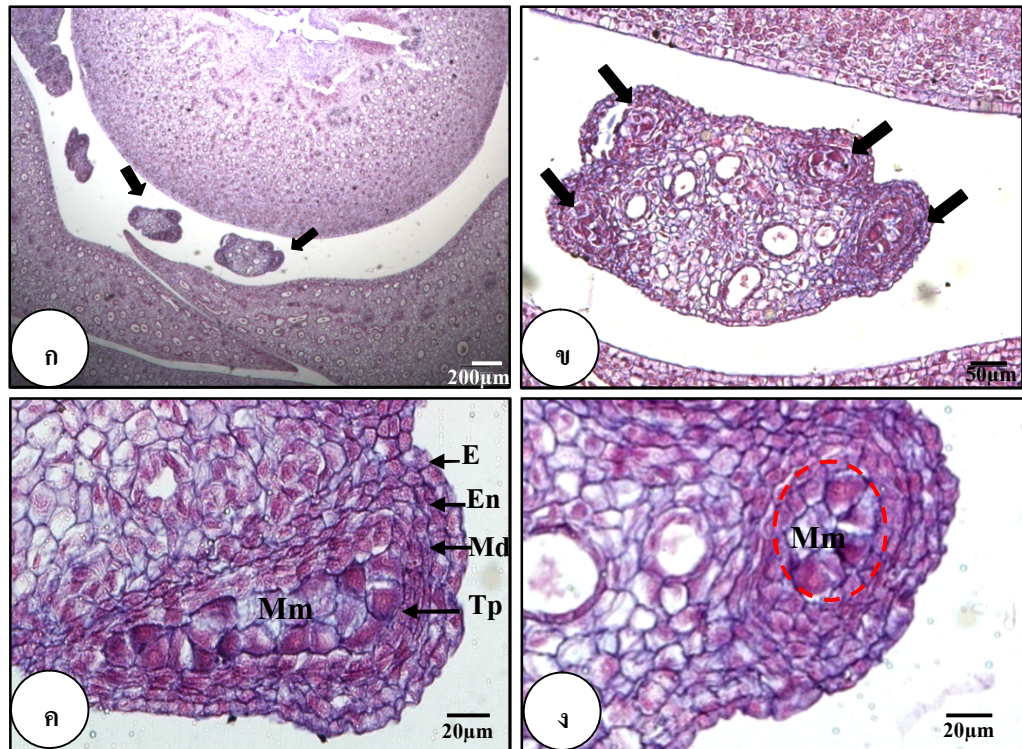
การเจริญของเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ช่วงต้นภายในอับเรณู พบในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 เซนติเมตร และ 0.7-0.8 เซนติเมตร พัฒนาอยู่ล้อมรอบเกสรเพศเมีย (ภาพที่ 13ก) อับเรณูมีสี่ช่อง (ภาพที่ 13ข) แต่ละอับเรณูจะมีการสร้างเนื้อเยื่อผนังชั้นต่างๆ คือ อีพิเคอร์มิส หรือเนื้อเยื่อชั้นผิวเป็นผนังชั้นนอกสุด เซลล์ค่อนข้างกลมมีขนาดใกล้เคียงกันเรียงตัว 1 ชั้น ถัดมาเนื้อเยื่อชั้นใต้เนื้อเยื่อผิวคือ เอนโดทีเซียม เนื้อเยื่อถัดเข้ามาอีก 1-3 ชั้น ซึ่งเป็นชั้นกลางคือ มิดเคลเลเยอร์ และเนื้อเยื่อชั้นในสุด 1 ชั้น คือชั้นทาพีตัม ซึ่งสมบูรณ์ทั้งหมด (ภาพที่ 13ค) ในชั้นถัดเข้ามาเป็นกลุ่มของเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ซึ่งเป็นเซลล์ขนาดใหญ่หลายเซลล์อัดตัวกันแน่นเต็มผนัง (ภาพที่ 13ง) ในระยะนี้ยังไม่เห็นนิวเคลียสของเซลล์ภายในช่องอับเรณูที่ชัดเจนและในแต่ละอับเรณูจะมีจำนวนเซลล์มากน้อยต่างกันตามขนาดของช่องอับเรณู ในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.9-1.0 เซนติเมตร พบเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ที่มีนิวเคลียสชัดเจนขึ้น โดยเซลล์ชั้นทาพีตัมและเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์จะติดสีเข้มแยกชั้นออกจากกันชัดเจน (ภาพที่ 14ก) โดยพบเซลล์ผนังชั้นทาพีตัมในระยะนี้ 32.22 % ต่อช่องอับเรณู และในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.1-1.2 เซนติเมตร เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์แยกอิสระจากเนื้อเยื่อชั้นทาพีตัมชัดเจนมากขึ้น (ภาพที่ 14ข) นอกจากนี้เซลล์ของเนื้อเยื่อทาพีตัมบางเซลล์มีการสลายของไซโทพลาซึม ภายในเซลล์ คิดเป็นพื้นที่เซลล์ทาพีตัมที่เหลืออยู่ในระยะนี้ 19.17% ต่อช่องอับเรณู (ภาพที่ 14ค) ซึ่งชั้นทาพีตัมที่เหลืออยู่ในแต่ละอับเรณูของตาดอกระยะนี้มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.9-1.0 เซนติเมตร ในบางช่องอับเรณูพบการสลายของเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ และสลายไปมากในตาดอกระยะนี้ ทำให้ไม่พบเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 14ง)

## 2) ระยะเวลาไมโครสปอร์กลุ่มละติ

ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.3-1.4 และ 1.5-1.6 เซนติเมตร มีเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์แบ่งตัวแบบไมโอซิสได้สำเร็จเป็น ไมโครสปอร์กลุ่มละติ (ภาพที่ 15ก) แต่จะพบเซลล์ไมโครสปอร์กลุ่มละติที่สมบูรณ์ในบางอับเรณูเท่านั้น ในขณะที่ส่วนใหญ่จะพบไมโครสปอร์กลุ่มละติที่มีรูปร่างผิดปกติไป บางอับเรณูพบไมโครสปอร์กลุ่มละติเกาะบริเวณผนังทาพิตัมจำนวนมาก (ภาพที่ 15ข) อีกทั้งยังพบว่าในทุกอับเรณูมีการยุบตัวของเนื้อเยื่อชั้นมิดเดิลเลเยอร์ และเนื้อเยื่อชั้นทาพิตัมสลายตัวไปเกือบหมดโดยมีพื้นที่เซลล์ทาพิตัมหลงเหลืออยู่ 11.85-18.65 % ต่อช่องอับเรณู ซึ่งมีค่าลดลงจากพื้นที่เซลล์ทาพิตัมที่หลงเหลืออยู่ภายในอับเรณูระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.1-1.2 เซนติเมตร (ภาพที่ 15ค)

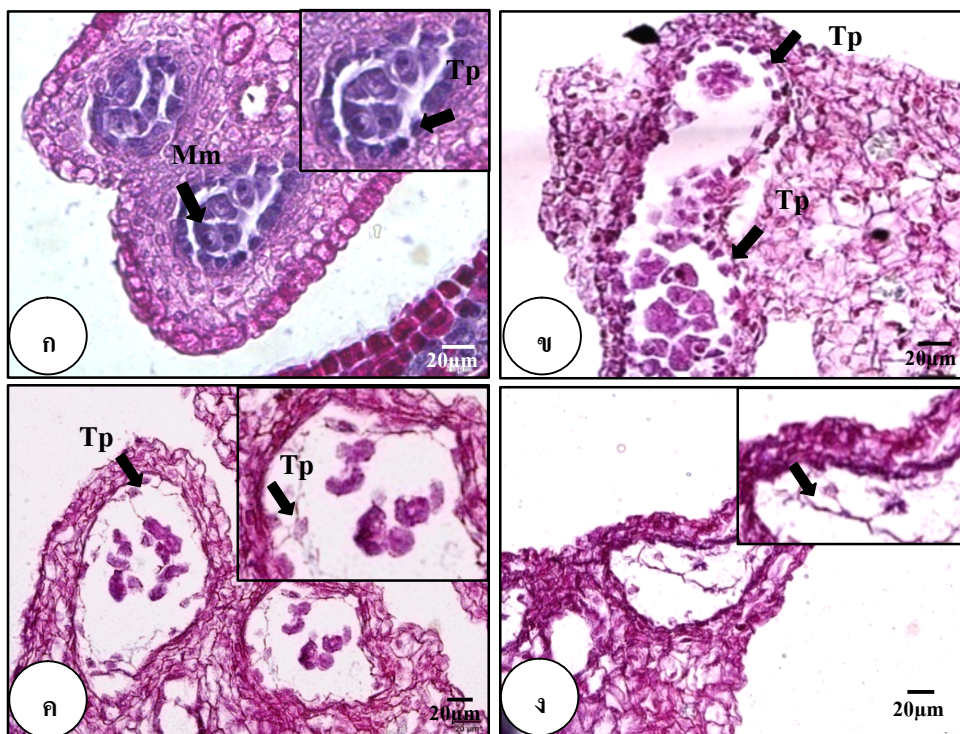
## 3) ระยะเวลาไมโครสปอร์

ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.7-1.8 เซนติเมตร พบเนื้อเยื่อชั้นเอนโดทีเลียมและมิดเดิลเลเยอร์มีลักษณะเป็นเส้นใย เนื้อเยื่อทาพิตัมมีการสลายตัวไปเกือบหมดในทุกอับเรณู นอกจากนี้ยังพบว่าไมโครสปอร์กลุ่มละติบางส่วนสามารถแยกตัวออกเป็นไมโครสปอร์อิสระแต่ไม่สมบูรณ์และบางอับเรณูพบไมโครสปอร์จะมีรูปร่างที่ผิดปกติไปคือมีผนังทึบและไม่มีรูปร่างไม่เป็นเม็ดกลม บางอับเรณูพบไมโครสปอร์เกาะกันเป็นกลุ่มและเกาะติดอยู่บริเวณผนังชั้นทาพิตัม (ภาพที่ 15ง) ในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.9-2.0 เซนติเมตร และระยะดอกบาน พบว่ามีการสลายตัวเกือบหมดของเนื้อเยื่อชั้นทาพิตัมในทุกอับเรณู ไมโครสปอร์หลงเหลืออยู่ในแต่ละอับเรณูน้อยมาก และในบางอับเรณูเนื้อเยื่อชั้นทาพิตัมและไมโครสปอร์มีการสลายหมดเหลือเพียงอับเรณูว่างเปล่าหรือไมโครสปอร์ที่มีรูปร่างไม่เป็นเม็ดกลมมีผนังทึบ (ภาพที่ 15จ และ ฉ)

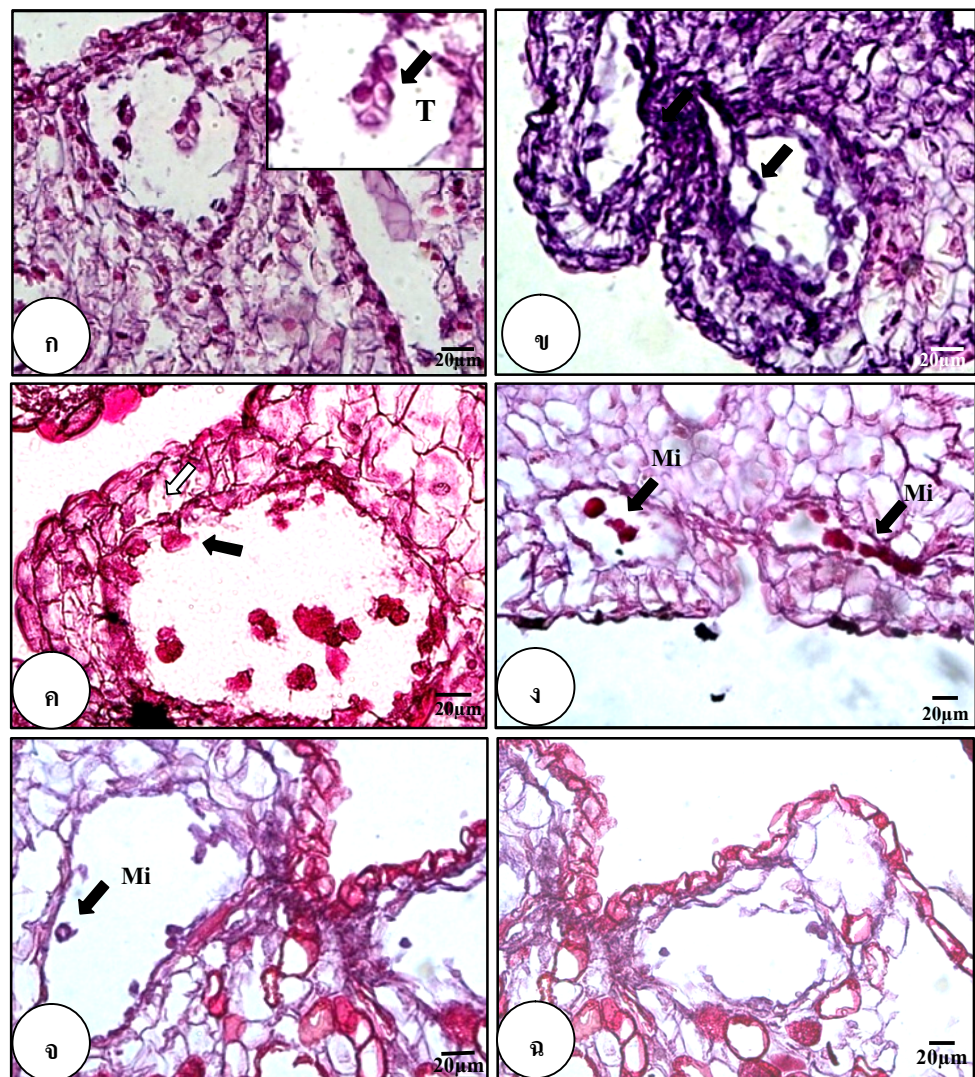


ภาพที่ 13 องค์ประกอบต่างๆของอับเรณูในระยะเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ (ตัดตามขวาง)

ก) ตำแหน่งของอับเรณูเจริญล้อมรอบเกสรเพศเมีย (สรชี) ข) อับเรณูประกอบด้วย 4 ช่องอับเรณู (สรชี) ค) อับเรณูระยะไมโครสปอร์ที่ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 เซนติเมตร ประกอบด้วยผนังชั้นนอก คือ อีพิเดอร์มิส 1 ชั้น เอนโดทีเซียม 1 ชั้น มิคเดิลเลเยอร์ 1-3 ชั้น และทาทัม 1 ชั้น ตามลำดับ ง) เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ช่วงต้นมีนิวเคลียสติดสีไม่ชัดเจนเจริญเต็มช่องอับเรณูในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7-0.8 เซนติเมตร (รอยประสีแดง) (E : อีพิเดอร์มิส, En : เอนโดทีเซียม, Md : มิคเดิลเลเยอร์, Mm : เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์, Tp : เนื้อเยื่อทาทัม )



**ภาพที่ 14** การเจริญของเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์และการสลายของเนื้อเยื่อทาพีตัม  
 ก) เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์และเนื้อเยื่อทาพีตัมในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง  
 0.9-1.0 เซนติเมตร ข) เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์และเนื้อเยื่อทาพีตัมแยกจากกันชัดเจน  
 ในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.1-1.2 เซนติเมตร ค) เนื้อเยื่อทาพีตัมที่สลาย(สรชี้)  
 ง) อับเรณูที่มีการสลายเกือบหมดของเนื้อเยื่อทาพีตัมทำให้เกิดเซลล์กำเนิดไมโคร  
 สปอร์ไม่สมบูรณ์ (สรชี้) (Mm : เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์, Tp : เนื้อเยื่อทาพีตัม)



ภาพที่ 15 การเจริญของไมโครสปอร์กลุ่มละติและไมโครสปอร์

ก) ไมโครสปอร์กลุ่มละติรูปร่างปกติแบบพีรามิด (สรชี้) ข) ไมโครสปอร์กลุ่มละติที่มีรูปร่างผิดปกติ มีผนังนิ่มขาดหรือยุบตัวลง (สรชี้) ค) เนื้อเยื่อชั้นมิดเดิลเลเยอร์มีการยุบตัว (สรชี้สีขาว) และผนังทาสีดำที่สลายตัว (สรชี้สีดำ) ในระยะไมโครสปอร์กลุ่มละติ ง) ไมโครสปอร์ที่มีรูปร่างผิดปกติ และไมโครสปอร์ที่เกาะเป็นกลุ่มในช่วงต้นของระยะไมโครสปอร์ จ) ไมโครสปอร์ที่พบในช่วงปลายระยะ ไมโครสปอร์ (สรชี้) ฉ) อับเรณูที่มีการสลายของไมโครสปอร์เกือบหมด (Mi : ไมโครสปอร์, T : ไมโครสปอร์กลุ่มละติ)

### 3.2.2 การเกิดเมกะสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียในมังคุด

นำตาดอกและดอกมังคุดมาตัดผ่านเนื้อเยื่อแนวยาวเพื่อศึกษาการเจริญของสปอร์และการเกิดเอ็มบริโอในเกสรเพศเมียในแต่ละระยะพบการเจริญพัฒนาและเปลี่ยนแปลงดังนี้

#### 1) การพัฒนาของอวุลที่ยังไม่เจริญเต็มที่ (immature ovule)

พบในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.8 เซนติเมตร ลักษณะการเกาะของอวุลเป็นแบบแกนร่วม (axile placentation) โดยพบเพียงหนึ่งอวุลในแต่ละช่อง (locule) (ภาพที่ 16ก) ซึ่งจะพัฒนามาจากเนื้อเยื่อเจริญในส่วนพลาเซนตา ระยะนี้อวุลจะยังมีการเจริญไม่เต็มที่โดยเริ่มมีการเจริญของเนื้อเยื่อ อินเทกิวเมนต์ชั้นนอกและชั้นใน

#### 2) การพัฒนาของเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์

พบในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.9-1.0 เซนติเมตร ระยะนี้จะพบเซลล์กำเนิด เมกะสปอร์ (ภาพที่ 16ค) พัฒนาโดยมีเนื้อเยื่อนิวเซลล์สเจริญล้อมรอบเซลล์กำเนิด เมกะสปอร์ 1-2 ชั้นซึ่งจัดอวุลลักษณะนี้ว่า เป็นอวุลแบบที่มีชั้นของนิวเซลล์สน้อย เรียก ลักษณะนี้ว่าเป็น อวุลแบบ ทินูเซลล์ (tenucellate ovule) จากการตัดผ่านเนื้อเยื่อแนว ยาว เพื่อศึกษาการเจริญของเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ในระยะนี้พบการแบ่งของเซลล์กำเนิด เมกะสปอร์ในระยะไมโอซิส I ได้เป็น 2 นิวเคลียสของเมกะสปอร์ (ภาพที่ 16ง) ซึ่งต่อมากจะมี การแบ่งไมโอซิสอีกครั้งจนได้เมกะสปอร์ 4 เซลล์

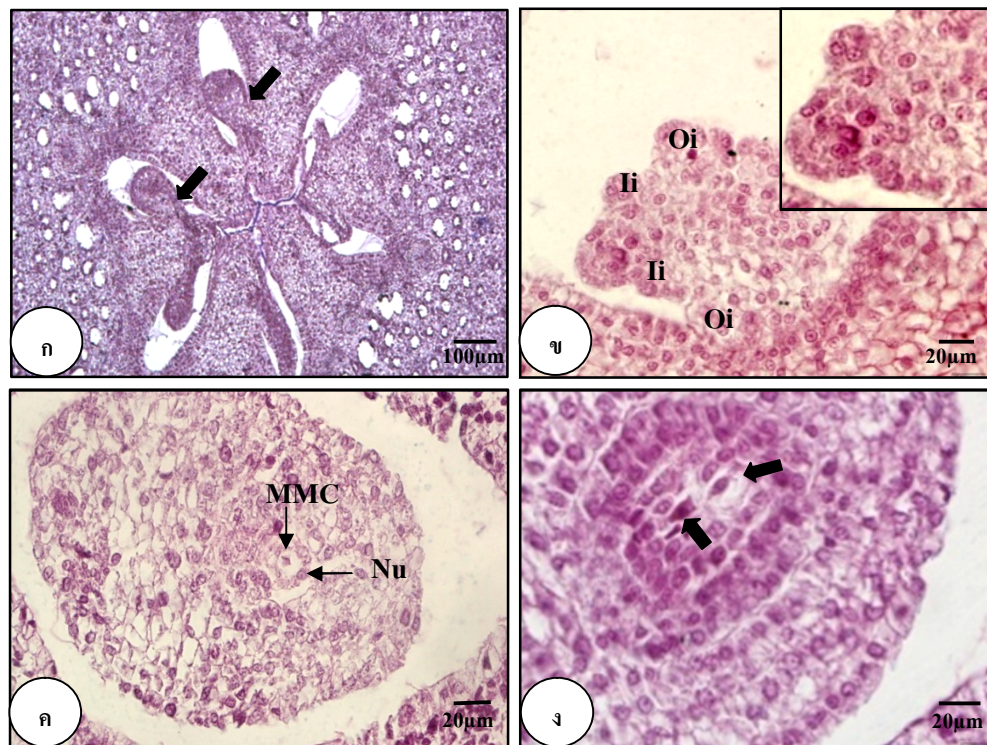
#### 3) ระยะเมกะสปอร์

ในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.1-1.6 เซนติเมตร อวุลเจริญเต็มที่และอวุล เป็นแบบคว่า (anatropous) (ภาพที่ 17ก) รูไมโครไพล์พัฒนาจากส่วนอินเทกิวเมนต์ ชั้นนอก ระยะนี้จะเกิดกระบวนการสร้างเมกะสปอร์ โดยพบการเสื่อมสลายของเมกะสปอร์ ที่ไม่ทำหน้าที่ 3 เซลล์ เหลือเพียงเมกะสปอร์เดียวที่ทำหน้าที่ซึ่งเป็นเมกะสปอร์ติดกับด้าน ตรงข้ามไมโครไพล์ (ภาพที่ 17ข)



#### 4) ระยะเอ็มบริโอ

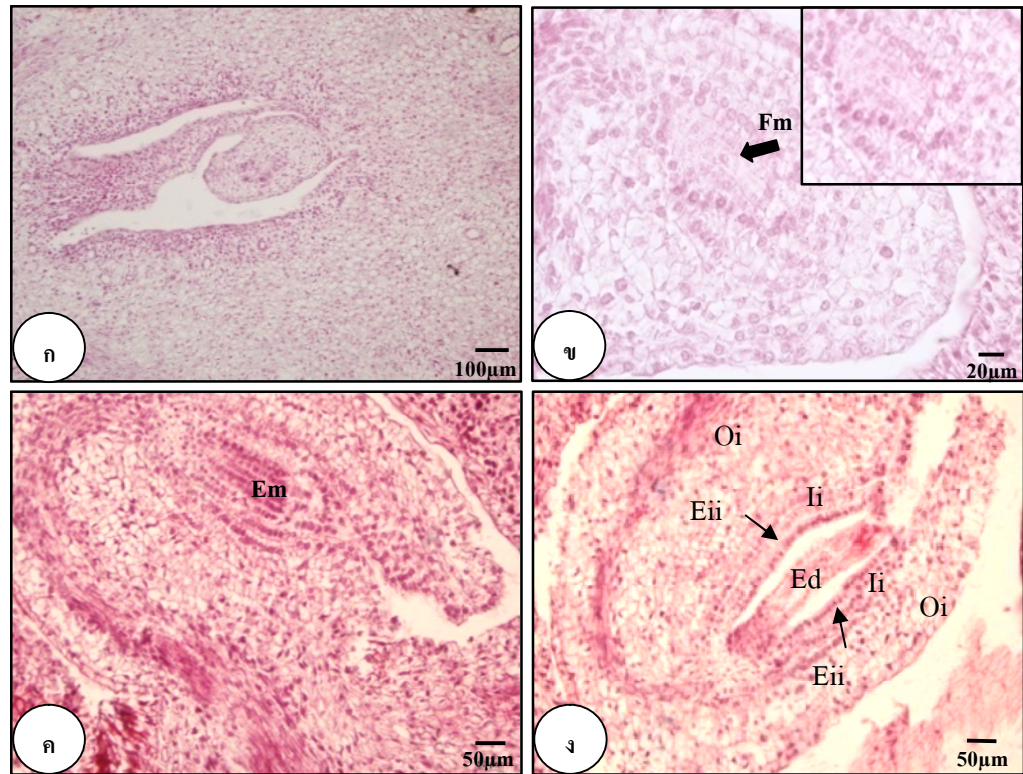
พบในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.7-2.0 เซนติเมตร และช่วงดอกบาน เต็มที่มีการพัฒนาของเอ็มบริโอลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์ติดสีเข้มอัดตัวกันแน่นอยู่ในอวูล (ภาพที่ 17ค) แต่บางอวูลเกิดการสลายตัวของเอ็มบริโอลักษณะเป็นเนื้อเยื่อที่ยุบตัวลงทำให้เกิดช่องว่างภายในอวูลระหว่างเอ็มบริโอที่สลาย กับเนื้อเยื่ออีพิเคอร์มิสของอินเทกิวเมนต์ชั้น ในซึ่งแต่ละเซลล์ของชั้นอีพิเคอร์มิสนี้พบว่ามีนิวเคลียสติดสีเข้มชัดเจน นอกจากนี้ยังพบเนื้อเยื่ออินเทกิวเมนต์ชั้นนอกหลงเหลืออยู่ซึ่งจะเจริญต่อไปเป็นเปลือกหุ้มเมล็ด การสลายของเอ็มบริโอนี้เป็นผลให้เกิดลักษณะเมล็ดลีบในมังคุด (ภาพที่ 17ง)



**ภาพที่ 16** การเจริญของอสุติในระยะอสุติช่วงต้นและระยะเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์

ก) ภาพตัดตามขวางของรังไข่แสดงการเกาะของอสุติที่ยังเจริญไม่เต็มที่ (สรชี้)

ข) ลักษณะของอสุติที่ยังเจริญไม่เต็มที่ ในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 เซนติเมตรตัดผ่านในแนวยาว ค) เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.9-1.0 เซนติเมตร (สรชี้) ง) เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ระยะไมโอซิส I แบ่งได้เป็น 2 นิวเคลียสของเมกะสปอร์ในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.9-1.0 เซนติเมตร (สรชี้) (Ii : อินเทกิวเมนต์ชั้นใน, MMC : เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์, Nu : นิวเคลียส, Oi : อินเทกิวเมนต์ชั้นนอก)



ภาพที่ 17 การเจริญของอสุจิในระยะเมกะสปอร์และระยะเอ็มบริโอ

ก) อสุจิที่พัฒนาสมบูรณ์แบบคว่ำ (anatrochous) ข) เมกะสปอร์ที่ทำหน้าที่ (ครี) ค) อสุจิที่มีการพัฒนาของเอ็มบริโอ ง) อสุจิที่มีการสลายตัวของเอ็มบริโอ (Ed : เอ็มบริโอที่สลาย, Eii : อีพิเดอมิสของอินเทกิวเมนต์ชั้นใน, Em : เอ็มบริโอ, Fm : เมกะสปอร์ที่ทำหน้าที่, Ii : เนื้อเยื่ออินเทกิวเมนต์ชั้นใน, Oi : เนื้อเยื่ออินเทกิวเมนต์ชั้นนอก)

จากการศึกษาการสร้างสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์โดยการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อตั้งแต่ระยะเริ่มสร้างตาดอกจนถึงระยะดอกบาน สามารถแบ่งการเจริญได้เป็นระยะแตกต่างกันไประหว่างในส่วนเพศผู้และเพศเมีย (ตารางที่2) เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียระยะต่างๆ พบว่าช่วงแรกของกระบวนการสร้างสปอร์เกิดขึ้นในระยะใกล้เคียงกัน คือเริ่มจากการสร้างเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์พัฒนาในช่วงตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 0.5-1.2 เซนติเมตร ในขณะที่เพศเมียมีการพัฒนาของอวุลไม่เต็มทีและสร้างเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ ในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 0.5-1.0 เซนติเมตร ต่อมาเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์แบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเข้าสู่ระยะไมโครสปอร์กุ่มละสีในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.3-1.6 เซนติเมตร ซึ่งเป็นระยะที่เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์พัฒนาเป็นเมกะสปอร์ โดยพบการเจริญในระยะไมโอซิส I ของเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ได้สองนิวเคลียสและจะพัฒนาเป็นเมกะสปอร์ต่อไป กระบวนการเจริญภายในอับเรณูและอวุลจะเริ่มแตกต่างกันในช่วงกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ซึ่งพบว่าในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 1.7-2.0 เซนติเมตรและระยะดอกบานเป็นระยะที่เพศผู้มีการสร้างและสลายของไมโคร-สปอร์ ขณะที่เพศเมียมีอวุลที่พัฒนาเป็นเอ็มบริโอเรียบร้อยแล้ว

ตารางที่2 แสดงระยะการเจริญของสปอร์เพศผู้และเพศเมียในดอกมังคุด

เส้นผ่านศูนย์กลาง ตาดอก (เซนติเมตร)	ระยะของสปอร์เพศผู้	ระยะของสปอร์เพศเมีย
0.5-0.8	เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์	การพัฒนาของอวุลช่วงต้น
0.9-1.0	เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์	เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์
1.1-1.2	เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์	เมกะสปอร์ (ไดแอนด)
1.3-1.6	ไมโครสปอร์กุ่มละสี	เมกะสปอร์ (ที่ทำหน้าที่)
1.7-1.8	ไมโครสปอร์	เอ็มบริโอ
1.9-2.0	ไมโครสปอร์	เอ็มบริโอ
ระยะดอกบาน	ไมโครสปอร์	เอ็มบริโอ

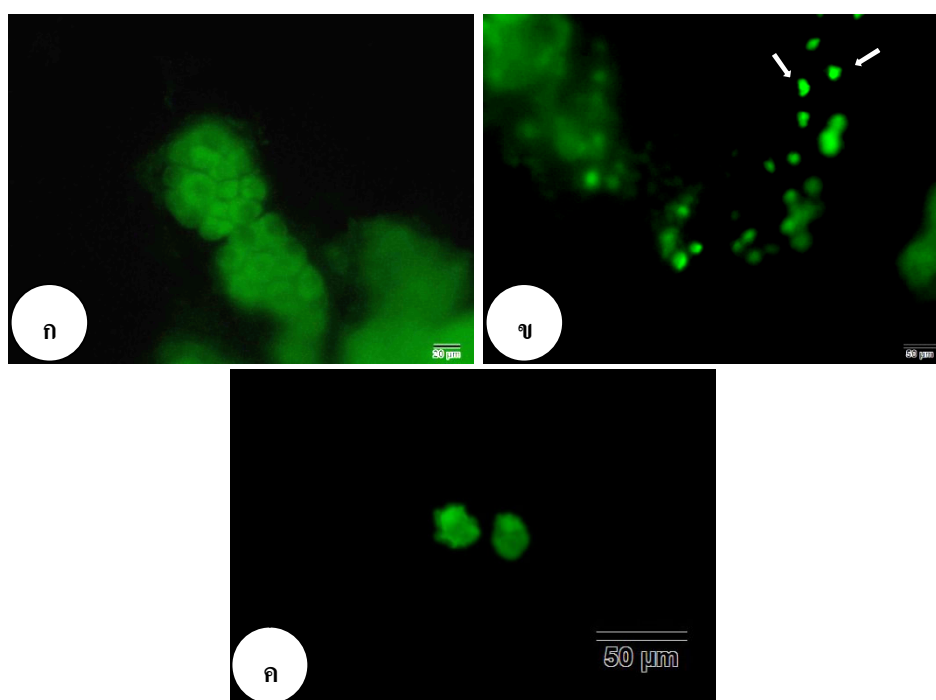
### 3.3 ความมีชีวิตของไมโครสปอร์กลุ่มละสีและไมโครสปอร์

การทดสอบความมีชีวิตของไมโครสปอร์กลุ่มละสีและไมโครสปอร์ในมังคุดโดยใช้วิธี Fluorochromatic Reaction (FCR test) ทดสอบตั้งแต่ระยะไมโครสปอร์กลุ่มละสีที่ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.3-1.4 และ 1.5-1.6 เซนติเมตร จนถึงระยะไมโครสปอร์ที่ตาดอกมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 1.7-1.8 ถึง 1.9-2.0 เซนติเมตรและระยะดอกบาน พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตมีแนวโน้มลดลงตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของตาดอกและดอกที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจากการทดสอบทางสถิติพบว่า เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตแต่ละระยะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบความมีชีวิตในระยะเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์เพื่อเปรียบเทียบกับระยะไมโครสปอร์กลุ่มละสีและระยะไมโครสปอร์ พบว่าเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ภายในอับเรณูทุกเซลล์เรืองแสงสีเขียวอมเหลือง (ภาพที่ 18ก) ซึ่งในระยะไมโครสปอร์กลุ่มละสีพบไมโครสปอร์กลุ่มละสีทั้งที่มีรูปร่างปกติและผิดปกติเรืองแสงสีเขียวอมเหลือง (ภาพที่ 18ข และ ค) เมื่อคิดเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์ไมโครสปอร์กลุ่มละสีเท่ากับ 37.63 ถึง 60.56 ส่วนในระยะไมโครสปอร์ที่ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.7-2.0 เซนติเมตร และระยะดอกบาน พบไมโครสปอร์ที่มีชีวิตเรืองแสงสีเขียวอมเหลืองในแต่ละอับเรณูน้อยมาก โดยในระยะไมโครสปอร์ที่ตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.7-1.8 เซนติเมตร มีค่าเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตเท่ากับ 5.36 ระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.9-2.0 เซนติเมตร มีค่าความมีชีวิตเท่ากับ 3.51 เปอร์เซ็นต์ และระยะดอกบานพบไมโครสปอร์มีความมีชีวิตน้อยที่สุดคือ 2.36 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่3)

ตารางที่ 3 แสดงค่าความมีชีวิตของไมโครสปอร์กลุ่มละสีและไมโครสปอร์

เส้นผ่านศูนย์กลาง ตาดอก (เซนติเมตร)	ระยะของสปอร์เพศผู้	ความมีชีวิต (%)
1.3-1.4	ไมโครสปอร์กลุ่มละสี	60.56±15.20 <sup>a</sup>
1.5-1.6	ไมโครสปอร์กลุ่มละสี	37.63±17.23 <sup>b</sup>
1.7-1.8	ไมโครสปอร์	5.36±2.20 <sup>c</sup>
1.9-2.0	ไมโครสปอร์	3.51±2.19 <sup>c</sup>
ระยะดอกบาน	ไมโครสปอร์	2.36±2.15 <sup>c</sup>

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย (±S.D.) ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT



ภาพที่ 18 แสดงความมีชีวิตของไมโครสปอร์กลุ่มละสีและไมโครสปอร์  
 ก) เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ที่เรืองแสงสีเขียวอมเหลือง  
 ข) เซลล์ที่มีชีวิตในระยะไมโครสปอร์กลุ่มละสี (ศรีษี)  
 ค) ไมโครสปอร์กลุ่มละสีที่เรืองแสงสีเขียวอมเหลือง

## บทที่ 4

### สรุปและอภิปรายผลการศึกษา

จากการศึกษาการเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์ของมังคุด (*Garcinia mangostana* L.) ภายวิภาคและ สันฐานวิทยาการเจริญและการพัฒนาของโครงสร้างดอกมังคุดตั้งแต่ระยะเริ่มสร้างตาดอกจนถึงระยะดอกบาน โดยทำการเก็บตัวอย่างดอกมังคุดในต้นที่มีอายุ 6-10 ปี จากแปลงมังคุด คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ และบริเวณใกล้เคียงในจังหวัดสงขลา ตามช่วงระยะการเจริญของตาดอกและดอก ศึกษาด้วยวิธีทางพาราฟินและตรวจสอบความมีชีวิตของเรณูในดอกมังคุดแต่ละระยะ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) การศึกษากครั้งนี้สามารถสรุปได้ดังรายละเอียดต่อไปนี้

#### ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์และสันฐานวิทยาของดอกมังคุดระยะต่างๆ

จากการศึกษาสามารถแบ่งระยะการเจริญตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของตาดอกและดอกได้ทั้งหมด 11 ระยะ (0.1-0.2 0.3-0.4 0.5-0.6 0.7-0.8 0.9-1.0 1.1-1.2 1.3-1.4 1.5-1.6 1.7-1.8 1.9-2.0 เซนติเมตร และระยะดอกบาน) ก้านดอกจะพบในระยะตาดอกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 0.7-0.8 เซนติเมตร เป็นต้นไป ซึ่งเป็นระยะที่เริ่มมีการสร้างก้านดอกจึงสามารถวัดความยาวก้านได้ จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ความยาวก้านของดอกมังคุดในแต่ละระยะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยความยาวก้านเพิ่มขึ้นในทุกๆระยะและยาวที่สุดในระยะที่ดอกบานเต็มที่ สอดคล้องกับขนาดตาดอกและดอก ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้นในทุกๆระยะจนถึงระยะดอกบาน นอกจากนี้พบลักษณะน้ำยางมีสีเหลือง ในดอกมังคุดทุกๆระยะซึ่งลักษณะน้ำยางสีเหลืองเป็นลักษณะที่พบได้ทั่วไปในมังคุดตั้งแต่ระยะออกดอกไปจนถึงระยะติดผล (Yaacob and Tindall, 1995) จากรายงานการศึกษาพบว่าขนาดของตาดอกหรือดอกจะมีความสัมพันธ์กับการเจริญต่างๆภายในดอก โดยเฉพาะการเจริญในอับเรณู (Koltunow et al., 1990 ; Scott et al., 1991 ; Goldberg et al., 1993) เช่น การศึกษาการเจริญของไมโครสปอร์ในเข็มแดง (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth ex Kurz) (Ghimire et al., 2011) การศึกษาการเจริญและพัฒนาของดอกสกุล *Arabidopsis* (Smyth et al., 1990) ซึ่งได้ใช้ขนาดของตาดอกในการกำหนดการเจริญของสปอร์ระยะต่างๆ การเจริญของสปอร์แต่ละระยะนั้นเกิดในตาดอกขนาดแตกต่างกัน ตาดอกที่มีขนาดเดียวกันอาจมีการเจริญในระยะเดียวกันหรือต่างกันได้ขึ้นอยู่กับชนิดพืช เช่น ดอกส้มโชกุน (*Citrus reticulata* Blanco.) มีการสร้างเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ในตาดอกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.12-0.42 เซนติเมตร (เบญจ-

พร, 2545) ขณะที่ดอกมังคุดสร้างเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-1.2 เซนติเมตร

สำหรับมังคุดได้มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคและฮิสโตเคมีของไมโครสปอร์ ซึ่งได้ใช้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตาดอกเป็นเกณฑ์การจำแนกระยะการเจริญ (นิลบล, 2554) โดยได้ยืนยันว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตาดอกสามารถใช้เป็นแนวทางการจำแนกระยะการเจริญภายในอับเรณูได้ดีกว่าความยาวก้านเนื่องจากพบว่า ความยาวก้านดอกจะค่อนข้างคงที่เมื่อตาดอกมีอายุมากขึ้นตั้งแต่ระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-1.7 เซนติเมตร ถึงระยะดอกบาน ซึ่งเป็นระยะไมโครสปอร์ช่วงต้นจนกระทั่งระยะไมโครสปอร์สลายตัว ดังนั้นจึงสามารถใช้ขนาดของตาดอกหรือดอกในการกำหนดระยะการเจริญต่างๆภายในดอกได้ ดีกว่า แต่จากการศึกษาในครั้งนี้จะเริ่มพบการเจริญของความยาวก้านดอกที่สามารถวัดได้ในตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7-0.8 เซนติเมตร เป็นต้นไป ซึ่งเป็นระยะที่ผ่านพ้นการเจริญช่วงต้น เพราะในระยะตาดอกยังไม่มีการชักนำจุดเริ่มเกิดของโครงสร้างภายในดอก รวมไปถึงระยะการเกิดเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ช่วงต้น ซึ่งเป็นหนึ่งในกระบวนการการเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์ ดังนั้นการใช้ความยาวก้านดอกมังคุดจึงไม่สามารถใช้เป็นเกณฑ์การเจริญเติบโตภายในได้แม่นยำเหมือนพืชชนิดอื่น

เมื่อมีการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโดยวิธีทางพาราฟิน ในตาดอกระยะแรกคือขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.2 เซนติเมตร มีการพัฒนาในระยะตาดอกเริ่มเกิด ทั้งกลีบเลี้ยงและกลีบดอกพัฒนาสมบูรณ์แล้ว โดยที่กลีบเลี้ยงอยู่วงนอกสุด ถัดเข้ามาคือวงกลีบดอก ถัดเข้าไปเป็นวงเกสรเพศผู้และวงในสุดเป็นวงเกสรเพศเมีย แต่เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียพัฒนาไม่สมบูรณ์ สังเกตจากการพบจุดเริ่มเกิดวงเกสรเพศผู้และจุดเริ่มเกิดวงเพศเมีย ที่เป็นกลุ่มของเนื้อเยื่อเจริญ แบ่งตัวหลายครั้งจนได้อย่างน้อย 2-3 ชั้น (ลิลลี่, 2546) จุดเริ่มเกิดเกสรเพศเมียในระยะนี้มีลักษณะเป็น โคมขนาดใหญ่อยู่ตรงกลางและจุดเริ่มเกิดวงเกสรเพศผู้ลักษณะเป็น โคมขนาดเล็ก 2-4 โคมล้อมรอบจุดเริ่มเกิดเกสรเพศเมีย จำนวนของจุดเริ่มเกิดวงเกสรเพศผู้จะแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดแต่จะเกิดในตำแหน่งเดียวกันคือบนบริเวณผิวเนื้อเยื่อเจริญของดอก (floral meristem surface) และจำเพาะอยู่ในตำแหน่งลำดับที่สามนับจากวงนอกเข้ามา การชักนำการเกิดเกสรเพศผู้จะไม่ขึ้นกับการเกิดของจุดเริ่มเกิดกลีบเลี้ยงและกลีบดอก เนื่องจากมีการทดลอง พบว่าเมื่อตัดจุดเริ่มเกิดของกลีบเลี้ยงและกลีบดอกออกไปจุดเริ่มเกิดเกสรเพศผู้ก็ยังสามารถเจริญเป็นเกสรเพศผู้ที่สมบูรณ์ได้ (Goldberg et al., 1993) ซึ่งการเจริญของดอกในระยะเริ่มเกิดนี้สอดคล้องกับการเจริญของตาดอกในพืชโดยทั่วไปที่จะเริ่มพัฒนาจากวงนอกเข้าสู่วงใน (centripetal) นั่นคือ พัฒนาจากกลีบเลี้ยง กลีบดอก เกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย ตามลำดับ (อุปถัมภ์, 2554)



ในระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3-0.4 เซนติเมตร จุดเริ่มเกิดทั้งวงเกสรเพศผู้และวงเกสรเพศเมียมีการพัฒนาชัดเจนขึ้น โดยมีการเจริญยืดยาวของก้านชูอับเรณูที่เริ่มแยกออกกันชัดเจนจากเกสรเพศเมีย ในขณะที่เกสรเพศเมื่อยืดยาวและยกตัวจากจุดเริ่มเกิดพร้อมมีการยวบตัวบริเวณตรงกลางของโครงสร้าง ต่อมาในระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 เซนติเมตร เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียเจริญเต็มที่ เกสรเพศผู้ที่เจริญเต็มที่ประกอบด้วยอับเรณูและก้านชูอับเรณู โดยภายในอับเรณูมีการเจริญของผนังชั้นสมบูรณ์คือ อีพิเคอร์มิส 1 ชั้น เอนโดทีเซียม 1 ชั้น มิติเดลเลอร์ 2 ชั้น ซึ่งมีหน้าที่คือช่วยในการกระจายตัวของเรณู และ ทาพิคัม มีหน้าที่สำคัญเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (Sakata and Higashitani, 2008) โดยเป็นเนื้อเยื่อชั้นในสุดซึ่งใกล้ชิดกับเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างสปอร์ เซลล์ที่พบในระยะนี้คือ เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ ซึ่งมีลักษณะเป็นเซลล์จำนวนมากอัดแน่นเต็มช่องอับเรณู เซลล์กำเนิดไมโครสปอร์และผนังทาพิคัมนี้เป็นบริเวณที่เกิดกระบวนการต่างๆระหว่างการแบ่งแบบไมโอซิส ซึ่งจะเจริญและพัฒนาเป็นไมโครสปอร์ในระยะต่อไป (Shivanna, 2003 ; Sakata and Higashitani, 2008) สำหรับเกสรเพศเมียที่เจริญเต็มที่ของมังคุดจะมีการเจริญของก้านชูเป็นแบบปิด มีเยื่อเชื่อมต่อนื่องเป็นส่วนเดียวกันกับก้านเกสรเพศเมีย ก้านชูแบบปิดนี้ประกอบด้วยเนื้อเยื่อทรานส์มิตติง ตลอดแนวยาวของก้านเกสรซึ่งมีบทบาทสำคัญในการหลังสารและเอนไซม์ที่จำเป็นในการสร้างเส้นทางให้กับหลอดเรณูที่จะเจริญผ่านไปตามช่องของเซลล์เพื่อไปผสมกับเซลล์ไข่ภายในออวูล (อุปัทม์, 2554) ซึ่งระยะนี้จะมีการสร้างออวูลที่มีการพัฒนาไม่สมบูรณ์ภายในรังไข่ โดยเริ่มมีการเจริญของเนื้อเยื่อ อินเทกิวเมนที่ชั้นนอกและชั้นใน แต่การเจริญในส่วนของเซลล์ชั้นนิวเคลียส และเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ยังไม่สามารถตรวจพบหรือแยกออกจากกัน ได้ไม่ชัดเจน โดยทั่วไปการกำเนิดของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์เหล่านี้จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงการเจริญด้านลำดับไปสู่การเจริญด้านการสืบพันธุ์ ซึ่งการเกิดอวัยวะที่ทำหน้าที่แตกต่างกันนี้เกิดจากเนื้อเยื่อเจริญของดอกมีการเจริญในลักษณะที่มีการกำหนดคำสั่งไว้แล้ว ประกอบกับผลจากปฏิสัมพันธ์ของยีนที่ควบคุมและปัจจัยสถานะแวดล้อมที่ได้รับ (ลิลลี่, 2546)

จากการศึกษาพัฒนาการของดอกมังคุดโดย Mansyah (2002) พบว่าการเจริญของมังคุดตั้งแต่ระยะเริ่มชักนำให้เกิดตาดอกไปจนถึงระยะดอกบานใช้เวลา 30-35 วัน ในขณะที่ Rai (2004) พบว่าใช้เวลาทั้งหมด 40 วัน โดยระยะแรกใช้เวลา 4 วัน หลังระยะการชักนำตาดอกจนได้ตูดมตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 มิลลิเมตร จากนั้นจุดเริ่มเกิดวงกลีบเลี้ยงและจุดเริ่มเกิดวงกลีบดอกจะพัฒนาขึ้นตามลำดับและพัฒนาเป็นกลีบเลี้ยงและกลีบดอกเสร็จสมบูรณ์ในวันที่สิบสอง ส่วนจุดเริ่มเกิดเกสรเพศผู้และจุดเริ่มเกิดเกสรเพศเมียจะพัฒนาต่อมาในวันที่สิบหกพร้อมกับเริ่มมีการพัฒนาของก้านดอก โดยเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียจะพัฒนาขยายขนาดจนถึงวันที่ยี่สิบแปด

จากนั้นการเจริญของเกสรเพศผู้จะคงที่ในขณะที่เกสรเพศเมียยังคงขยายขนาด และเริ่มพัฒนาเมล็ดขึ้นในช่วงก่อนวันที่สีลิปซึ่งเป็นระยะก่อนที่ดอกจะบานเต็มที่ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วระยะเวลาในการพัฒนาของดอกตั้งแต่เริ่มไปจนถึงระยะดอกบานและติดผลมีความแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด เช่น สะตอ (*Parkia speciosa* L.) ใช้เวลาในการพัฒนาของดอก 50 วัน (ช่อทิพย์ และ อุปลัมภ์, 2550) ส้มโอพันธุ์หาดใหญ่ใช้เวลาประมาณ 5-6 วัน โดยแบ่งการเจริญได้ 7 ระยะใช้เวลาตั้งแต่ดอกเริ่มเจริญขึ้นมาจนถึงระยะดอกบานเต็มที่ 57 ชั่วโมง และระยะดอกเริ่มบานจนถึงติดผล 67 ชั่วโมง (ไมตรี, 2538)

นอกจากนี้การรายงานยังพบว่าส่วนใหญ่จุดเริ่มเกิดเกสรเพศผู้และจุดเริ่มเกิดเกสรเพศเมียจะเกิดในการเจริญช่วงต้นของดอกทั่วไปโดยเฉพาะดอกแยกเพศ (unisexual flower) (Wu, 2011) ซึ่งพืชสกุล *Garcinia* เป็นสกุลสำคัญที่พบมากในเขตร้อนโดยพบว่าส่วนใหญ่จะมีลักษณะดอกเพศผู้แยกต้นกับดอกเพศเมีย (dioecious) เช่น *Garcinia scortechnii* King ๖1 (*Garcinia hombroniana* Pierre) *Garcinia indica* L. รวมทั้งในมังคุด (*Garcinia mangostana* L.) (Richards, 1990b ; Thomas, 1997) บางงานวิจัยได้รายงานว่ามังคุดมีดอกเพศผู้และดอกเพศเมียแยกต้นแต่ปัจจุบันยังไม่มีการยืนยันแน่ชัดเกี่ยวกับการพบต้นเพศผู้ (Richards, 1990a ; Ramage et al., 2004) พบเฉพาะต้นเพศเมียซึ่งสร้างดอกที่มีทั้งเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียแต่เกสรเพศผู้จะสร้างเรณูที่เป็นหมัน นั่นคือเกสรเพศเมียเท่านั้นที่ยังคงทำหน้าที่ เช่นเดียวกับพืชที่มีดอกแยกเพศชนิดอื่น เช่น ข้าวโพด (*Zea mays* L.) และ white campion (*Silene latifolia* Poir) พบว่ามีการชักนำการเกิดเกสรเพศผู้ในดอกเพศเมียแต่การเจริญของเรณูหรือไมโครสปอร์จะไม่สมบูรณ์ ทำให้เรณูเป็นหมัน (Scott, 2004) เหมือนกับในมังคุด และพืชชนิดอื่นในสกุล *Garcinia* เช่น *Garcinia livingstonii* T. Anderson ชะมวงเล็ก (*Garcinia parviflora* (Miq.) Miq.) (Ha et al., 1988) และ ส้มแขก (*Garcinia atroviridis* L.) (Pangsuban et al., 2007) การศึกษาที่ผ่านมาได้กล่าวถึงสาเหตุเกี่ยวกับการพัฒนาของพืชกลุ่มที่มีดอกเพศผู้และดอกเพศเมียแยกต้นกันแต่ยังคงมีเกสรเพศผู้หรือเกสรเพศเมียที่ไม่ทำหน้าที่นั้น น่าจะเกิดจากการมีเวลาในการวิวัฒนาการไม่เพียงพอที่จะทำให้อวัยวะนั้นหายไป หรืออาจเกิดจากความล่าช้าในกลไกการทำงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของยีนระหว่างอวัยวะในวงเพศผู้และเพศเมียจึงทำให้อวัยวะที่ไม่ทำหน้าที่นั้นยังคงมีอยู่ (Mayer, 1991)

## การเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์ในมังคุด

เมื่อเปรียบเทียบกระบวนการเกิดสปอร์และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียในดอกมังคุด พบว่าช่วงแรกของกระบวนการสร้างสปอร์เกิดขึ้นในระยะใกล้เคียงกัน และจะเริ่มแตกต่างกันในช่วงกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ซึ่งพบว่าขณะที่เพศผู้มีการเจริญในระยะไมโครสปอร์ ในเพศเมีย ภายในอวุลมีการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอเรียบร้อยแล้ว สอดคล้องกับการศึกษาพัฒนาการของดอกมังคุดที่พบว่า อวุลเริ่มพัฒนาเมล็ดขึ้นภายใน 40 วัน ก่อนระยะดอกบานเต็มที่ (Rai, 2004) นอกจากนี้ยังพบการสลายตัวของไมโครสปอร์ที่เกิดจากการสลายของผนังทาทิคมตั้งแต่ระยะเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์และไมโครสปอร์กุ่มละสีโดยเอนไซม์แคเลสทำให้เกิดรูเป็นหมัน ซึ่งการสลายตัวของไมโครสปอร์ที่เกิดขึ้นในขณะที่เพศเมียมีการพัฒนาเอ็มบริโอนี้ น่าจะมีความสัมพันธ์กันและเกี่ยวข้องกับการเกิดลักษณะเมล็ดแบบอะโพมิคซิสในดอกมังคุด

การสร้างสปอร์เพศผู้และเพศเมียเริ่มขึ้นในระยะเดียวกันคือ ในระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 เซนติเมตร โดยสร้างเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ภายในอับเรณู และสร้างเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ภายในอวุล เซลล์กำเนิดสปอร์นี้จะมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสต่อไปได้เป็นไมโครสปอร์หรือเมกะสปอร์ ในเพศผู้ระยะเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์อยู่ในช่วงระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 ถึงระยะ 1.1-1.2 เซนติเมตร โดยเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์มีลักษณะเซลล์ขนาดใหญ่หลายเซลล์อัดตัวกันแน่นเต็มผนังอับเรณู นิวเคลียสปรากฏไม่ชัดเจนในเซลล์ ต่อมาเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์แต่ละเซลล์มีนิวเคลียสที่ปรากฏชัดเจนขึ้น แยกตัวออกจากผนังชั้นทาทิคม โดยเฉพาะในระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.1-1.2 เซนติเมตร พบการสลายตัวของผนังทาทิคมและจะสลายตัวเกือบหมดในทุกอับเรณู ในขณะที่เพศเมียจะมีการสร้างอวุลที่มีการเจริญในช่วงต้นตั้งแต่ระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 ถึง 0.7-0.8 เซนติเมตร และพบเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ที่ชัดเจนโดยเจริญมาจากเซลล์อาร์ชีสปอเรียลในชั้นนิวเคลียสในระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.9-1.0 เซนติเมตร เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์นี้จะแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสได้ 4 เมกะสปอร์ จากการศึกษาในระยะนี้ตรวจพบการแบ่งของเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ในระยะไมโอซิส I ได้เป็น 2 นิวเคลียสของเมกะสปอร์ และจะมีการแบ่งอีกครั้งจนได้เมกะสปอร์ 4 เซลล์ในระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.1-1.2 ถึง 1.5-1.6 เซนติเมตร ต่อมาเมกะสปอร์นี้เสื่อมสลายไป 3 เซลล์ เหลือเพียงเมกะสปอร์เดียวที่ทำหน้าที่ต่อไปโดยเจริญเป็นแกมีโทไฟท์เพศเมียและพัฒนาเป็นเอ็มบริโอในระยะต่อไป ขณะที่เพศผู้จะยังมีการพัฒนาอยู่ในระยะไมโครสปอร์กุ่มละสี แต่จะพบเซลล์ไมโครสปอร์กุ่มละสีที่สมบูรณ์ในบางอับเรณูเท่านั้น จนในระยะตาดอกขนาดเส้น

ผ่านศูนย์กลาง 1.7-1.8 เซนติเมตร ถึงระยะดอกบาน เนื้อเยื่อทาพิต้มสลายตัวไปเกือบหมดในทุกอับเรณู ไมโครสปอร์กลุ่มละสี่บางส่วนสามารถแยกตัวออกเป็นไมโครสปอร์อิสระ และบางอับเรณูพบไมโครสปอร์มีรูปร่างที่ผิดปกติไปโดยมีการยวบตัวและนิกขนาดของผนังไมโครสปอร์ สอดคล้องกับการศึกษาความมีชีวิตของไมโครสปอร์กลุ่มละสี่และไมโครสปอร์ในดอกมังคุดที่ค่าความมีชีวิตเริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบไมโครสปอร์ที่มีชีวิตเรียงแสงสีเขียวมเหลืองในแต่ละอับเรณูน้อยมากและมีค่าความมีชีวิตน้อยที่สุดในระยะดอกบาน ใกล้เคียงกับผลการศึกษาความมีชีวิตของเรณูในดอกมังคุดที่ผ่านมา (นิลกุล, 2554 ; Yapwattanaphun, 2008) ซึ่งไม่พบเรณูที่มีชีวิตจากอับเรณูของดอกมังคุดในระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.7-1.8 เซนติเมตร

จากผลการศึกษาการเจริญของไมโครสปอร์ในมังคุด สังเกตได้ว่าผนังทาพิต้มเริ่มมีการสลายตัวก่อนเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์จะพัฒนาเป็นไมโครสปอร์ที่สมบูรณ์ แตกต่างจากการเจริญของไมโครสปอร์ในพืชดอกทั่วไปที่พบว่าผนังทาพิต้มจะเริ่มมีการสลายตัวในช่วงปลายระยะ ไมโครสปอร์กลุ่มละสี่หรือระยะไมโครสปอร์ช่วงต้น (Pacini et al., 1985 ; Shivanna, 2003) จึงถือว่าผนังทาพิต้มในมังคุดมีการสลายตัวก่อนเวลาที่เจริญเต็มที่ การสลายตัวของชั้นทาพิต้มมีผลต่อการสร้างสปอร์เนื่องจากผนังทาพิต้มมีบทบาทสำคัญ คือ เป็นแหล่งอาหารระหว่างการเจริญของเรณู หลังเอนไซม์แคลเลสที่ช่วยในการสลายผนังแคลโลสของไมโครสปอร์กลุ่มละสี่ให้เป็นไมโครสปอร์อิสระเป็นแหล่งโปรตีนและสารตั้งต้นให้กับสปอร์โรพอลเลินินเพื่อสร้างเป็นผนังชั้นเอกซินหรือผนังชั้นนอกที่สมบูรณ์ของเรณู (Pacini et al., 1985 ; Shivanna, 2003 ; McCormick, 2004 ; Sakata and Higashitani, 2008) ในกรณีของมังคุดมีการรายงานว่าการสลายของไมโครสปอร์เกิดจากการหลังของเอนไซม์แคลเลสซึ่งจะไปย่อยเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์บางส่วนทำให้พบไมโครสปอร์กลุ่มละสี่และไมโครสปอร์ภายในอับเรณูแต่ละระยะเหลืออยู่น้อยและค่อยๆลดลง ไม่สามารถเจริญเป็นเรณูที่สมบูรณ์ส่งผลให้เกิดการเป็นหมันของเรณู (Yapwattanaphun, 2008 ; Nuanjunkong, 2011) การเป็นหมันของเรณูเนื่องจากความผิดปกติในการทำหน้าที่ของทาพิต้มเป็นสาเหตุหนึ่ง ที่พบมากในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น ข้าว (*Oryza sativa* L.) (Shi et al., 2009) มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Polowick and Sawhney, 1993) ยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) (Worrall et al., 1992) สบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.) (Liu et al., 2007) และ ส้ม (*Citrus suavisissima* Hort. ex Tanaka) (Hu et al., 2007) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของค่าพีเอช (pH) กับการทำงานของเอนไซม์แคลเลสภายในอับเรณูของพิทูเนียร์ (*Petunia hybrida* Vilm.) ที่เป็นหมัน (Izhar and Frankel, 1971) พบว่า ค่าพีเอช ลดลงในช่วงต้นของระยะไมโอซิส ในขณะที่พิทูเนียร์สายพันธุ์ปกติจะมีค่าพีเอชลดลงในระยะหลังการไมโอซิสจนได้เป็นไมโครสปอร์กลุ่มละสี่สมบูรณ์

แล้ว ซึ่งค่าพีเอชที่ลดลงนี้จะเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์แคลเลสโดยที่เอนไซม์แคลเลสจะหลังเมื่ออับเรณูมีสภาพเป็นกรดคือ ค่าพีเอชลดลง (pH =5.9-6.2) และจะไม่ทำงานในสภาพที่มีค่าพีเอชสูงขึ้น (pH มากกว่า 6.3) แสดงให้เห็นว่าทาพิคิมของพิทูเนียร์สายพันธุ์ที่เป็นหมันมีการหลังของเอนไซม์แคลเลสก่อนเวลาปกติ สำหรับในม้งคุดปัจจุบันยังไม่มีตรวจสอบค่าพีเอชภายในอับเรณูระยะต่างๆซึ่งถือได้ว่าเป็นประเด็นหนึ่งที่สามารถนำไปศึกษาและตรวจสอบต่อไปเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนเกี่ยวกับกระบวนการเป็นหมันของเรณูในม้งคุด

ในระยะที่ไม่โครสปอร์มีการสลายตัวพบว่าตรงกับระยะที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียพัฒนาเป็นเอ็มบริโอภายในออวุลเรียบร้อยแล้ว คือในระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.7-2.0 เซนติเมตร และระยะดอกบาน ซึ่งการสลายตัวของไมโครสปอร์ในช่วงเวลาที่เพศเมียมีการพัฒนาเอ็มบริโอนี้อาจมีความสัมพันธ์กัน ทั้งนี้เนื่องจากการเจริญของรังไข่และออวุลในพืชดอกทั่วไปจะอาศัยปฏิสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของแกมีโทไฟท์เพศผู้และแกมีโทไฟท์เพศเมีย โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเรณูซึ่งจะเป็นตัวกระตุ้นการเจริญและพัฒนาของออวุล ในพืชดอกหลายชนิด เช่น กล้วยไม้สกุล *Cattleya* *Sophranitis* *Epidendron* *Laelia* *Phalaenopsis* *Dendrobium* และสกุล *Doritis* ออวุลจะไม่พัฒนาในรังไข่ที่ยังไม่ได้รับการถ่ายเรณู หรือออวุลในกล้วยไม้สกุล *Cypripedium* *Paphiopedilum* *Phragmipedium* *Herminium* *Epipacti* และ *Platanthera* มีการพัฒนาในระยะเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์และคงอยู่ในระยะก่อนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสจนกว่าจะมีการถ่ายเรณูมากระตุ้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในออวุลของข้าวโพด (*Zea mays* L.) พบว่าเรณูจะส่งสัญญาณบางอย่างไปชักนำการเจริญของแกมีโทไฟท์เพศเมียในระยะสุดท้ายจนพัฒนาเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียที่พร้อมจะผสมกับเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ สำหรับการศึกษาในเอ็มบริโอแบบอะโพมิกซิสของพืชหลายชนิดพบว่าเรณูเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะเป็นสัญญาณในการชักนำการเกิดเมล็ดแบบอะโพมิกซิส เช่น เรณูจากกล้วยไม้ในสกุล *Oncidium* ไม่พร้อมรับกับออวุลของกล้วยไม้สกุล *Zygopetalum* แต่จะมีผลในการเป็นสัญญาณชักนำให้ *Oncidium* เกิดออวุลโดยไม่ผ่านการปฏิสนธิ เช่นเดียวกับพืชวงศ์หูกวางที่มีเอ็มบริโอแบบอะโพมิกซิส ได้แก่ *Pennisetum setaceum* (Forssk.) Chiov. จะถูกชักนำให้เกิดเอ็มบริโอโดยเรณูของ *Pennisetum ciliare* L. (O'Neill, 1997) อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าไมโครสปอร์ในม้งคุดจะไม่สามารถสร้างและพัฒนาต่อไปเป็นเรณูที่สมบูรณ์พอที่จะไปชักนำให้เกิดเอ็มบริโอได้เหมือนในพืชอะโพมิกซิสกลุ่มอื่นๆดังที่กล่าวมา แต่ก็เป็นที่น่าสังเกตว่า

เอ็มบริโอของมังคุดสามารถพัฒนาขึ้นมาได้และตรงกับระยะที่มีการสลายตัวของไมโครสปอร์ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการสลายตัวของไมโครสปอร์เป็นช่วงเวลาที่มีการสลายของผนังทาทิปัดมที่หุ้มที่หลังสารต่างๆที่อาจเป็นสัญญาณในการชักนำการเกิดเอ็มบริโอ

จากรายงานการวิจัยพบว่ามังคุดมีการสร้างเอ็มบริโอได้โดยไม่ผ่านการปฏิสนธิ เรียกว่า แอควินเทียเอ็มบริโอ เกิดโดยตรงจากเซลล์ในชั้นนิวเคลียส หรือ อินเทกิวเมนต์ (Koltunow, 1993 ; O'Neill and Roberts, 2002 ; Carneiro et al., 2006 ; Tucker and Koltunow, 2009) ซึ่งเป็นเซลล์ในชั้นนอกของถุงเอ็มบริโอที่ไม่มีการลดลงของจำนวนโครโมโซม เรียกกระบวนการแบบนี้ว่า สปอโรไฟติกอะโพมิกซิส ซึ่งเป็นลักษณะอะโพมิกซิสชนิดเดียวกับที่พบใน มะม่วง และส้ม (Lan, 1984 ; Koltunow, 1993 ; O'Neill and Roberts, 2002 ; Carneiro et al., 2006) จากผลการศึกษาทางกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.7-2.0 และดอกบานพบว่าในบางอวูลเกิดการสลายของเอ็มบริโอเป็นผลให้เกิดลักษณะเมล็ดลึบ อวูลที่มีการสลายตัวของเอ็มบริโอ นอกจากเนื้อเยื่ออินเทกิวเมนต์ชั้นนอกซึ่งเจริญไปเป็นเปลือกหุ้มเมล็ดแล้วยังพบเนื้อเยื่อชั้นอีพิเคอร์มิสของอินเทกิวเมนต์ชั้นในติดสีเข้มแสดงถึงลักษณะการเป็นเนื้อเยื่อเจริญ แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของลักษณะการเกิดเอ็มบริโอที่อาจจะพัฒนาจากส่วนอินเทกิวเมนต์ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lan (1984) ที่ระบุว่าเอ็มบริโอของมังคุดมีแนวโน้มในการพัฒนามาจากชั้นอินเทกิวเมนต์ โดยเอ็มบริโอพัฒนาจากเซลล์ชั้นในสุดของอินเทกิวเมนต์ชั้นนอกซึ่งจะมีสภาพเป็นเนื้อเยื่อเจริญที่มีจุดเริ่มเกิดเอ็มบริโอ แต่การศึกษาครั้งนี้พบว่าเอ็มบริโอพัฒนาจากเนื้อเยื่อชั้นอีพิเคอร์มิสของอินเทกิวเมนต์ชั้นใน จากการศึกษาในพืชสกุลส้ม (*citrus*) ซึ่งเป็นพืชตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาการเกิด สปอโรไฟติกอะโพมิกซิส (Koltunow, 1993) พบว่าเอ็มบริโอพัฒนาจากเซลล์นิวเคลียส โดยเซลล์นิวเคลียสเริ่มพัฒนาเป็นเอ็มบริโอ สืบเนื่องจากการมีนิวเคลียสขนาดใหญ่และไซโทพลาซึมที่เข้มข้นซึ่งเซลล์จะติดสีเข้ม (Bruck and Walker, 1985) นอกจากนี้ยังมีการยืนยันว่าเซลล์นิวเคลียสของพืชกลุ่มอะโพมิกซิสมีกลไกที่สามารถเจริญและพัฒนาในระยะเวลาต่างๆได้หลากหลายมากกว่าเซลล์นิวเคลียสในพืชกลุ่มที่มีการสืบพันธุ์ตามปกติ แต่ปัจจุบันยังไม่มีการรายงานที่ระบุเกี่ยวกับความแตกต่างในระดับชีวโมเลกุลระหว่างกระบวนการเกิดอะโพมิกซิสกับการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศทั่วไป และไม่พบการศึกษาในเชิงลึกเกี่ยวกับการเกิดสปอโรไฟติกที่เอ็มบริโอพัฒนาจากอินเทกิวเมนต์ในพืชชนิดอื่นรวมทั้งในมังคุด

ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า ลักษณะการเกิดอะโพมิทซิส แบบสปอโรไฟติกโดยที่ เอ็มบริโอมีแนวโน้มพัฒนามาจากเนื้อเยื่อชั้นอินเทกิวเมนต์ซึ่งจำเป็นจะต้องศึกษาในเกี่ยวกับกลไกการเกิด รวมทั้งความสัมพันธ์ระหว่างการสลายของไมโครสปอร์และการเกิดอวูลทางด้าน สรีรวิทยาและการเจริญในระดับชีวโมเลกุลต่อไป เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนและเป็นพื้นฐานในการศึกษาการเกิดลักษณะอะโพมิทซิส อีกทั้งยังเป็นประโยชน์ในด้านการปรับปรุงเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากเมล็ดที่ได้จากการสืบพันธุ์แบบอะโพมิทซิสเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์มีองค์ประกอบทาง พันธุกรรมเหมือนต้นแม่และรักษาจีโนมไว้โดยไม่มีการกลายพันธุ์ จึงง่ายต่อการปรับปรุงพันธุ์ ทั้งในมังคุดและพืชเศรษฐกิจอื่นซึ่งมีลักษณะอะโพมิทซิสต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

- กวิศร์ วานิชกุล. 2536. *เอกสารเผยแพร่ อันดับที่53 เรื่อง 35 คำถามกับการปลูกมังคุด*. นครปฐม : ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน
- ก่องกานดา ชยามฤต. 2550. *ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้ 2*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: กรมอุทยาน แห่งชาติสัตว์ป่า และพันธุ์พืช
- ช่อทิพย์ บุรินทรวงกุล และ อุปลักษณ์ มีสวัสดิ์. 2550. *การวิจัยชีววิทยาของดอกและการเจริญเติบโต ของดอกสะตอ*. สงขลา : รายงานการวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- เทียมใจ คมกฤต. 2549. *กายวิภาคของพฤษภ*. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- นิลุบล นวลจันทร์คง. 2554. การเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคและฮิสโตเคมีในมังคุด. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- เบญจพร ชูสิงห์. 2545. ชีววิทยาของดอกส้มโชกุน(*Citrus reticulata* Blanco.). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ปรีชาติ คงสุวรรณ. 2549. การตรวจสอบการเกิดลักษณะอะโพมิกซิสในพืชสกุลกลางสาด (*Lansium domesticum* Corr.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะ ทรัพยากร ธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ไมตรี แก้วทับทิม. 2538. ชีววิทยาดอกและการถ่ายละอองเกสรของส้มโอพันธุ์หาดใหญ่. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากร ธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



ละม้าย ทองบุญ. 2552 . *เทคนิคพื้นฐานทางเนื้อเยื่อพืช*. สงขลา: โรงพิมพ์ดิจิตอล คณะ  
วิทยาศาสตร์.

ลิลลี่ กาวีตะ. 2546. *การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและพัฒนาการของพืช*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ :  
สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สมศักดิ์ วรรณศิริ. 2541. *มังคุด*. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม

สายัณห์ สดุดี. 2536. *มังคุดในภาคใต้*. สงขลา : ศูนย์วิจัยพืชยืนต้นและไม้ผลเมืองร้อน  
คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

อิสมะแอ เจ๊ะหลง. 2550. *ชีววิทยาดอกและการถ่ายเรณูของส้มจุก*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์  
มหาบัณฑิต, สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

อุปลัมภ์ มีสวัสดิ์. 2554. *แกมมาโทไฟต์ของพืชดอก*. สงขลา : โรงพิมพ์ดิจิตอล หน่วยโสตทัศนศึกษา  
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Asker, S.E. and Jerling, L.1992. *Apomixis in Plants*. Boca Raton : CRC Press.

Bhat, V., Dwivedi, K. K., Khurana, J. P. and Sopory, S. K. 2005. Apomixis : An enigma with  
potential applications. *Current Science* 89 : 1879–1893.

Bhojwani, S.S. and Soh, W.Y. 2001. *Current Trends in the Embryology of Angiosperms*.  
Dordrecht : Kluwer Academic Publishers.

Bicknell, R.A. and Koltunow, A.M. 2004. Understanding Apomixis : Recent Advance and  
remaining Conundrums. *Plant cell* 16 : 228-245.

Bruck, D.K. and Walker, D.B. 1985. Cell Determination during Embryogenesis in *Citrus  
jambhiri* .I. Ontogeny of the Epidermis. *Botanical Gazette* 146(2): 188-195.

- Carneiro, V. T.C., Dusi, D. M.A. and Ortiz, J. P. A. 2006. Apomixis: Occurrence, Applications and Improvements. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology* 1 : 564-571.
- College of Science. 2013. Floral Morphology, Sexual Conditions and Life Cycle. Department of Plant Biology Southern Illinois University. [http://www.plantbiology.siu.edu/PLB304/lecture09 FloralMor/FloralMorph1.html](http://www.plantbiology.siu.edu/PLB304/lecture09%20FloralMor/FloralMorph1.html) (accessed June 23, 2013).
- Drews, G.N. and Koltunow, A.M.G. 2011. The Female Gametophyte. *American Society of Plant Biologists* : 1-24.
- Ghimire, B., Ghimire, B.K. and Heo. 2011. Microsporogenesis in *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth ex Kurz (Apocynaceae): An evidence for dual cytokinesis in microspore mother cells. *Journal of Medicinal Plants Research* 5(3) : 432-438.
- Goldberg , R.B., Beals, T.P., Sanders, P.M. 1993. Anther Development: Basic Principles and Practical Applications. *The Plant Cell* 5 : 1217-1229.
- Ha C .O., Sands V. E., Soepadmo, E. and Jong, K. 1988. Reproductive patterns of selected understory trees in the Malaysian rain forest: The apomictic species. *Botanical Journal of the Linnean Society* 97 : 317–331.
- Hanna, W.W. and Bashaw, E.C. 1987. Apomixis: its identification and use in plant breeding. *Crop Science* 27 : 1136-113.
- Honsho, C., Yonemori, K. and Sugiura, A. 2004. Durian floral differentiation and flowering habit. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 192(1) : 42-45.
- Honsho, C., Somsri,S.,Tetsumura,T., Yamashita.,K. and Yonemori, K. 2007. Effective pollination period in durian (*Durio zibethinus* Murr.) and the factors regulating it. *Scientia Horticulturae* 111 : 193–196.

- Hony, D., Reňák, D. and Twell, D. 2006. Male Gametophyte Development and Function. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology* 1 : 76-87.
- Hu, Z., Zhang, M., Wen, Q., Wei, J., Yi, H. and Deng X. 2007. Abnormal Microspore Development Leads to Pollen Abortion in a Seedless Mutant of 'Ougan' Mandarin (*Citrus suavissima* Hort. ex Tanaka.). *Journal of the American Society Horticultural Science* 132(6) : 777-782.
- Izhar, S. and Frankel, R. 1971. Mechanism of Male Sterility in Petunia : The Relationship between pH, Callase Activity in the Anthers, and the Breakdown of the Microsporogenesis. *Theoretical and Applied Genetics* 41 : 104-108.
- Khush, G.H. 1994. *Apomixis : Exploiting hybrid vigor in rice*. Manila : International Rice Research Institute.
- Koltunow, A.M. 1993. Apomixis : Embryo Sacs and Embryos Formed without Meiosis or Fertilization in Ovules. *The Plant Cell* 5 : 1425-1437.
- Koltunow, A.M. and Scott, N.S. 2001. The Use of Apomixis in Cloning Horticultural Plants : Current Applications and Molecular Prospects. *Acta Horticulturae* 560 : 333-344.
- Koltunow, A.M., Bicknell, R.A. and Chaudhury, A. 1995. Apomixis : molecular strategies for the generation of genetically identical seeds without fertilization. *Plants Physiology* 108 : 1345-1352.
- Koltunow, A.M., Truettner, J., Cox, K.H., Wallroth, M., and Goidberg, R.B. 1990. Different Temporal and Spatial Gene Expression Patterns Occur during Anther Development. *Plant Cell* 2 : 1201-1224.

- Koltunow, A.M., Johnson, S.D., Lynch, M., Yoshihara, T. and Costantino, P. 2001. Expression of rolB in Apomictic *Hieracium piloselloides* Vill. Causes Ectopic Meristems in Planta and Changes in Ovule Formation, Where Apomixes Initiates at Higher Frequency. *Planta* 214 : 196–205.
- Lan, L.A. 1984. The Embryology of *Garcinia mangostana* L. (Clusiaceae). *Gardens' Bulletin Singapore* 37(1) : 93-103.
- Liu, H.F., Kirchoff, B.K., Wu, G.J. and Liao, J.P. 2007. Microsporogenesis and Male Gametogenesis in *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). *Journal of Torrey Botanical Society* 134 : 335-343.
- Maheshwari, P. 1950. *An Introduction to the Embryology of Angiosperms*. New York : McGraw-Hill.
- Manakasem, Y. 1995. Changes in Apices and Effect of Microclimate on floral Initiation of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). *Suranaree Journal of Science and Technology* 2 : 15-20.
- Mansyah, E. 2002. Genetics Variability Analysis of Mangosteen population in Java and Sumatra island through their Phenotypic performance and RAPD Technique. Master's thesis, Graduated school, Padjadjaran University.
- Mayer, S.S. and Charlesworth, D. 1991. Cryptic dioecy in flowering plants. *Trends Ecology and Evolution* 6: 320-325.
- McCormick, S. 2004. Control of Male Gametophyte Development. *The Plant Cell* 16 : 142–153.
- Meilan, R. 1997. Floral induction in woody angiosperms. *New Forests* 14 : 179–202.

- Morton, J. 1987. Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). In: *Fruits of warm climates*, Morton, J. F.(ed.). 301–304. Miami : Creative Resource Systems, Inc.
- Natural resource conservation service. 2011. Classification : *Garcinia mangostana* L. United states Department of Agriculture. <http://plants.usda.gov/profile?symbol=GAMA10> (accessed November 4, 2011).
- Nogler, G.A. 1994. Genetics of gametophytic apomixis - A historical sketch. *Polish Botanical Studies* 8 : 5-11.
- Nuanjungkong, N and Meesawat, U. 2011. Anatomical changes during pollen development of apomictic mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). Proceedings of the 7<sup>th</sup> IMT-GT UNINET and The 3<sup>rd</sup> International PSU-UNS Conferences on Bioscience : 21-23.
- O'Neill, S.D. 1997. Pollination Regulation of Flower Development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48 : 547–74.
- O'Neill, S.D. and Roberts, J.A. 2002. Plant Reproduction. *Annals of Botany* 90 : 677-679.
- Osman, M.B. and Milan, A.R. 2006. *Mangosteen-Garcinia mangostana* L. Southampton : Centre for Underutilised Crops, University of Southampton.
- Pacini, E., Franchi, G.G. and Hesse, M. 1985. The Tapetum: Its Form, Function, and Possible Phylogeny in *Embryophyta* . *Plant Systematics and Evolution* 149 : 155-185.
- Palapol, Y., Ketsa, S., Stevenson, D., Cooney, J.M., Allan, A.C. and Ferguson, I.B. 2008. Colour Development and Quality of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Fruit During Ripening and After Harvest. *Postharvest Biology and Technology* 51 : 349-353.

- Pangsuban, S., Bamroongruga, N., Kanchanapoom, K and Nualsri, C. 2007. An evaluation of the sexual system of *Garcinia atroviridis* L. (Clusiaceae), based on reproductive feature. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 29(6) : 1457-1468.
- Polowick, P.L. and Sawhney, V.K. 1993. Differentiation of the Tapetum During Microsporogenesis in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), with Special Reference to the Tapetal Cell Wall. *Annals of Botany* 72(6) : 595-605.
- Rai, I.N. 2002. Physiology of Growth and flowering of seedling and grafted mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). Ph. Dissertation, Graduate school, Bogor Agricultural University.
- Ramage, C.M., Sando, L., Peace, C.P., Carroll, B.J. and Drew, R.A. 2004. Genetic diversity revealed in the apomictic fruit species *Garcinia mangostana* L.(mangosteen). *Euphytica* 136 : 1–10.
- Richards, A. J. 1990a. Studies in *Garcinia*, dioecious tropical forest trees : agamospermy. *Botanical Journal of the Linnean Society* 103(3) : 233-250. (a)
- Richards, A. J. 1990b. Studies in *Garcinia*, dioecious tropical forest trees: the origin of the Mangosteen (*G. mangostana* L.). *Botanical Journal of the Linnean Society* 103(3) : 301–308. (b)
- Richard, A. J. 2003. Apomixis in flowering plants: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 358 : 1085–1093.
- Rukayah, A. and Zabedah, M.1992. Studies on Early Growth of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). *Acta Horticulturae* 292 : 93-100.
- Ruzin, S. 1999. *Plant microtechnique and microscopy*. New York : Oxford university Press Inc.

- Sakata, T. and Higashitani, A. 2008. Male Sterility Accompanied with Abnormal Anther Development in Plants-Gene and Environmental Stresses with Special Reference to High Temperature Injury. *International of Plant developmental Biology* 2(1) : 42-51.
- Scott, R., Hodge, R., Paul, W., and Draper, J. 1991. The Molecular Biology of Anther Differentiation. *Plant Science* 80 : 167-191.
- Sdoodee, S. 2007. The Influence of Global Warming on Phenological Change of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) in Songkhla Province. 33<sup>rd</sup> Congress on Science and Technology of Thailand.
- Shi, Y., Zhao, S. and Yao, J. 2009. Premature Tapetum Degeneration : A Major Cause of Abortive Pollen Development in Photoperiod Sensitive Genic Male Sterility in Rice. *Journal of Integrative Plant Biology* : 1-8.
- Shivanna, K.R. 2003. *Pollen Biology and Biotechnology*. New Hampshire : Science publishers, Inc.
- Simpson, M. G. 2010. *Plant Systematics*. 2<sup>nd</sup> ed. Burlington : Elsevier Academic Press Publication.
- Smyth, D.R., Bowman, J.L. and Meyerowitz, E.M. 1990. Early Flower Development in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 2 : 755-767.
- Sorbia, R.P. 2007. Mangosteen Genetics and Improvement. *International Journal of Plant Breeding* 1(2) : 105-111.
- Sorbia, R.P., Santosa, E., Sinaga, S., and Mansyah, E. 2011. Genetic Variability in Apomictic Mangosteen (*Garcinia mangostana*) and its close relatives (*Garcinia* spp.) based on ISSR markers. *Biodiversitas* 12 : 59-63.

- Sundaresan, V. and Alandete-Saez, M. 2010. Pattern formation in miniature: the female gametophyte of flowering plants. *Development* 137(2) : 179-89.
- Te-chato, S. 2007. Floral and Fruit Morphology of Some Species in *Garcinia* spp. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology* 29 : 245-252.
- Te-chato, S. and Lim, M. 2004. Early Fruit Setting from Tissue Culture-Derived Mangosteen Tree. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology* 26 : 447-453.
- Te-chato, S. and Lim, M. 2005. *Garcinia mangostana* mangosteen. In: *Biotechnology of fruit and crops*, Litz, R.E.(ed.). 211-220. Wallingford: CAB International.
- Thomas, S.G. 1997. Geographic parthenogenesis in a tropical forest tree. *American Journal of Botany* 84(8) : 1012-1015.
- Tucker, M.R. and Koltunow, A.M. G. 2009. Sexual and asexual (apomictic) seed development in flowering plants: molecular, morphological and evolutionary relationships. *Functional Plant Biology* 36 : 490-504.
- Wieble, J., Chacko, E.K. and Downton, W.J.S. 1992. Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) – A Potential Crop for Tropical Northern Australia. *Acta Horticulturae* 321 : 132-137.
- Worrall, D., Hird, D.L., Hodge, R., Paul, W., Draper, J. and Scott, R. 1992. Premature Dissolution of the Microsporocyte Callose Wall Causes Male Sterility in Transgenic Tobacco. *The Plant Cell* 4 : 759-771.
- Wu, J., Liu, Y., Tang, L., Zhang, F. and Chen, F. 2003. A Study on Structural Features in Early Flower Development of *Jatropha curcas* L. and The Classification of Its Inflorescences. *African Journal of Agricultural Research* 6(2) : 275-284.



- Yaacob, O. and Tindall, H.D. 1995. *Mangosteen cultivation*. Rome: FAO Plant Production and Protection Paper No. 129.
- Yadegaria, R. and Drews, G.N. 2004. Female Gametophyte Development. *The plant cell* 16: 133-141.
- Yapwattanaphun, C. and Subhadrabandhu, S. 2004. Phylogenetic Relationship of Mangosteen (*Garcinia mangostana*) and Several Wild Relatives (*Garcinia* spp.) Revealed by ITS Sequence Data. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 129(3) : 368-373.
- Yapwattanaphun, C., Subhadrabandhu, S., Sugiura, A., Yonemori, K. and Utsunomiya, N. 2002. Utilization of some *Garcinia* species in Thailand. *Acta Horticulturae* 575 : 563-570.
- Yapwattanaphun, C., Tachibana, K. and Yonemori, K. 2008. Pollen Abortion in the Flower of Mangosteen. *Acta Horticulturae* 787 : 245-250.
- Zhao, W., Wei-wei, W., Chun-miao, L., Xue, L. and Li-juan, W. 2012. Microsporogenesis and Male Gametophyte Development of *Euphorbia pulcherrima*. *Journal of Northeast Agricultural University* 19 : 36-41.

**ภาคผนวก**

## ภาคผนวก ก

## 1. การเตรียมสารนำยาคงสภาพพีทรวงเควิทซ์ (petrunkewisch's fluid)

ตารางที่ 1 สูตรนำยาคงสภาพพีทรวงเควิทซ์ (petrunkewisch's fluid)

สารเคมี	ปริมาณ
เอซิลแอลกอฮอล์ 40%	125.0 มิลลิลิตร
กรดเกลือเชิลแอซีติก	27.5 มิลลิลิตร
กรดไนตริกเข้มข้น	2.5 มิลลิลิตร
เมอร์คิวริกคลอไรด์	เกือบอิมตัว

## 2. การเตรียมน้ำยาดึงน้ำออกจากเซลล์พืช 12 ลำดับ

ตารางที่ 2 สูตรการเตรียมน้ำยาดึงน้ำออกจากเซลล์พืช 12 ลำดับ

ลำดับ	ส่วนผสม	ลำดับ	ส่วนผสม
1	น้ำกลั่น 95 มิลลิลิตร เอซิลแอลกอฮอล์ 95% 5 มิลลิลิตร บิวทิลแอลกอฮอล์ 0 มิลลิลิตร	7	น้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร เอซิลแอลกอฮอล์ 95% 50 มิลลิลิตร บิวทิลแอลกอฮอล์ 35 มิลลิลิตร
2	น้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร เอซิลแอลกอฮอล์ 95% 10 มิลลิลิตร บิวทิลแอลกอฮอล์ 0 มิลลิลิตร	8	น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เอซิลแอลกอฮอล์ 95% 40 มิลลิลิตร บิวทิลแอลกอฮอล์ 55 มิลลิลิตร
3	น้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร เอซิลแอลกอฮอล์ 95% 20 มิลลิลิตร บิวทิลแอลกอฮอล์ 0 มิลลิลิตร	9	น้ำกลั่น 0 มิลลิลิตร เอซิลแอลกอฮอล์ 95% 25 มิลลิลิตร บิวทิลแอลกอฮอล์ 75 มิลลิลิตร
4	น้ำกลั่น 70 มิลลิลิตร เอซิลแอลกอฮอล์ 95% 30 มิลลิลิตร บิวทิลแอลกอฮอล์ 0 มิลลิลิตร	10	บิวทิลแอลกอฮอล์บริสุทธิ์+ อีไอซิน
5	น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เอซิลแอลกอฮอล์ 95% 40 มิลลิลิตร บิวทิลแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร	11	บิวทิลแอลกอฮอล์บริสุทธิ์
6	น้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร เอซิลแอลกอฮอล์ 95% 50 มิลลิลิตร บิวทิลแอลกอฮอล์ 20 มิลลิลิตร	12	บิวทิลแอลกอฮอล์ 50 มิลลิลิตร พาราฟินออย 50 มิลลิลิตร

### 3. ขั้นตอนการย้อมสีด้วยสีฮีมาท็อกไซลินและซาฟรานิน (Hematoxylin & safranin O)

- |  |            |             |
|--|------------|-------------|
| 1. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างในไซลีนซับทิวด์           | 2 ครั้งๆละ | 5 นาที      |
| 2. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างในเอธิลแอลกอฮอล์100% :    | ไซลีน      | 2 นาที      |
| 3. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างในเอธิลแอลกอฮอล์100%      | 2 ครั้งๆละ | 2 นาที      |
| 4. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างในเอธิลแอลกอฮอล์ 95%      | 2 ครั้งๆละ | 2 นาที      |
| 5. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างในเอธิลแอลกอฮอล์ 70%      | 2 ครั้งๆละ | 2 นาที      |
| 6. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างในเอธิลแอลกอฮอล์ 50%      | 2 ครั้งๆละ | 2 นาที      |
| 7. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างในน้ำกลั่น                |            | 2 นาที      |
| 8. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างในสี ฮีมาท็อกไซลิน        |            | 20 นาที     |
| 9. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างในน้ำกลั่น                |            | 2 นาที      |
| 10. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างใน แอซิดคูเลตวอเตอร์     |            | 5-10 วินาที |
| 11. จุ่มสไลด์ ตัวอย่างในน้ำกลั่น               |            | 2 นาที      |
| 12. จุ่มสไลด์ ตัวอย่างในซาฟรานินโอ             |            | 10 วินาที   |
| 13. แชนส์ไลด์ตัวอย่างในน้ำกลั่น                |            | 2 นาที      |
| 14. แชนส์ไลด์ตัวอย่างใน แอซิดคูเลตวอเตอร์      |            | 2 นาที      |
| 15. แชนส์ไลด์ตัวอย่างในน้ำกลั่น                |            | 2 นาที      |
| 16. แชนส์ไลด์ตัวอย่างในเอธิลแอลกอฮอล์ 70%      |            | 2 นาที      |
| 17. แชนส์ไลด์ตัวอย่างในเอธิลแอลกอฮอล์ 95%      |            | 2 นาที      |
| 18. แชนส์ไลด์ตัวอย่างในเอธิลแอลกอฮอล์ 100%     | 2 ครั้งๆละ | 2 นาที      |
| 19. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างใน เอธิลแอลกอฮอล์ 100% : | ไซลีน      | 2 นาที      |
| 20. แชนส์ไลด์ ตัวอย่างใน ไซลีนซับทิวด์         | 2 ครั้งๆละ | 5 นาที      |
| 21. เมาท์สไลด์ด้วยน้ำยาเปอร์เมาท์              |            |             |

#### 4. สูตรการเตรียมสีฮีมาท็อกไซลิน (Delafield's hematoxylin) (ละม้าย, 2552)

สีฮีมาท็อกไซลินเป็นสีจากธรรมชาติ และเป็นสีประเภทต่างสีกัดจากแก่นไม้ ใช้สำหรับย้อมติดสีน้ำเงินหรือม่วงเข้มของนิวเคลียส ในการเตรียมควรเตรียมก่อน 1-2 สัปดาห์และเก็บในที่มืดเพื่อให้สีเกิดปฏิกิริยาเองตามธรรมชาติ

##### สารเคมีที่ใช้

ฮีมาท็อกไซลิน	8	กรัม
เอทิลแอลกอฮอล์ 95%	250	มิลลิลิตร
อลูมิเนียม แอมโมเนียมซัลเฟต (แอมโมเนียมอะลัม)	16	กรัม
โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต	0.4	กรัม
กลีเซอริน	400	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	800	มิลลิลิตร

##### วิธีเตรียม

- ใช้กระบอกตวงตวงเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์
- ชั่งสีฮีมาท็อกไซลินหนัก 8 กรัม ใส่ลงไปคนให้สีละลายเข้ากันดีโดยใช้แท่งแม่เหล็กช่วยคนและใช้ความร้อนช่วยให้สีละลายดี
- กรองสีที่ได้ด้วยกระดาษกรอง
- ใช้กระบอกตวงตวงน้ำกลั่น ปริมาตร 800 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร
- ชั่ง แอมโมเนียมอะลัม หนัก 16 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่น คนจนสารละลายหมด
- ผสมสีที่ได้จากข้อ 3 กับสารละลาย แอมโมเนียมอะลัม เข้าด้วยกัน
- ใช้กระบอกตวงตวงกลีเซอริน ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายที่ได้ในข้อ 6
- ชั่งโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร
- ใส่สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตลงในสารละลายในข้อ 7 คนให้สารละลายเข้ากันดีสารละลายที่ได้จะมีสีเข้ม
- ใส่สีที่ได้ในขวดใส่สารสีชา ตีคนลากข้างขวด ปิดฝาให้แน่น และเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง

## 6. สูตรการเตรียมสีซาฟรานิน (safranin: $C_{20}H_{19}N_4Cl$ ) (ละม้าย, 2552)

เป็นสีแดงที่ใช้ย้อมเซลล์ที่มีผนังเซลล์เป็นสารลิกนินซึ่งเป็นผนังเซลล์ชั้นที่สองและมักใช้ย้อมติดเป็นสีชมพูแดงของไซโทพลาซึม

### สารเคมีที่ใช้

ซาฟรานิน โอ	2	กรัม
เมทิลเซลลูโลส	100	มิลลิลิตร
เอธิลแอลกอฮอล์ 95%	50	มิลลิลิตร
โซเดียมอะซิเตท	2	มิลลิลิตร
ฟอร์มาลิน	4	มิลลิลิตร

### วิธีเตรียม

1. ใช้กระบอกล้างเมทิลเซลลูโลส ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์
2. ชั่งสีซาฟรานิน โอ หนัก 2 มิลลิลิตร ค่อยๆ ใสลงไป คนให้สีละลายเข้ากันดี โดยใช้แท่งแม่เหล็กช่วยคน
3. ใช้กระบอกล้าง เอธิลแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมลงไป แล้วคนให้เข้ากัน
4. ชั่งโซเดียมอะซิเตทหนัก 2 มิลลิลิตร ค่อยๆ ใสลงในสารละลายข้างต้นและคนจนกระทั่งโซเดียมอะซิเตทละลายหมด
5. ใช้ปิเปตต์ดูดฟอร์มาลิน ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เทผสมลงในสารละลาย คนให้เข้ากันดี
6. ใสสีที่ได้ในขวดใสสารสีชาติดมลาข้างขวด ปิดฝาให้แน่น และเก็บในที่มืด อุณหภูมิห้อง

### 7. สูตรน้ำยาคงสภาพตัวอย่าง SEM fixative

1. ฟอรัมาลิน 10% (ปริมาตร/ปริมาตร)
2. กรดแอซีติก 5% (ปริมาตร/ปริมาตร)
3. เอธิลแอลกอฮอล์ 45% (อาจเตรียมจากเอธิลแอลกอฮอล์ 95% ได้) (ปริมาตร/ปริมาตร)
4. ไตรตัน เอกซ์ 1% 100 (ปริมาตร/ปริมาตร)

### 8. การเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์สำหรับเตรียมตัวอย่าง SEM

1.1 ในการทดลองนี้จะใช้สารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์โดยซึ่งสาร A และสาร B ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่งตามความเหมาะสมโดยเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น (stock solution) 2 ขวด คือ สารละลาย A และสารละลาย B (ตารางที่ 3) ซึ่งเตรียมสารละลาย working solution

ตารางที่ 3 ปริมาณการเตรียมสารละลายเข้มข้น (stock solution)

สารละลาย	สารเคมี	ปริมาณต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร (กรัม)
A	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	14.196
B	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	15.602

ตารางที่ 4 ปริมาณการเตรียมสารละลาย working solution

สารละลาย	สารเคมี	ปริมาณ (มิลลิลิตร)
A	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	57.7
B	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	42.3

## 8. การศึกษาความมีชีวิตของไมโครสปอร์กลุ่มละสีและไมโครสปอร์โดยใช้ Fluorochromatic Reaction (FCR test )

### วิธีการเตรียมสารละลายน้ำตาล 15%

ชั่งน้ำตาลซูโครส 7.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปิเปตต์ดูดสารละลายที่ได้มา 5 มิลลิลิตร ผสมกับแคลเซียมคาร์บอเนต 1.5 กรัม นำสารละลายที่ได้ไปใช้ในการทดสอบความมีชีวิตในขั้นตอนต่อไป

### วิธีการเตรียมสารละลายของสีฟลูออเรสซินไดอะซีเตต (FDA) และการทดสอบความมีชีวิต

ชั่งสีฟลูออเรสซินไดอะซีเตต 0.02 กรัม ละลายในอะซีโตน จนได้ 10 มิลลิลิตร หยด 2-5 มิลลิลิตร ของสารละลายน้ำตาล 15% ในขวดแก้วเล็ก (vial) หยดสารละลายของสีฟลูออเรสซินไดอะซีเตต (FDA) ลงในขวดแก้วเล็กนั้นจนชุ่ม แล้วจึงหยดสารที่ชุ่มนั้นลงในสไลด์ วางใน humidity chamber อย่างง่าย (จานเพาะเชื้อที่มีกระดาษอเนกประสงค์ที่ชุ่มน้ำ) 10 นาที ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์เซลล์ที่มีชีวิต จะติดสีเขียวอมเหลือง พร้อมคำนวณ % ความมีชีวิต ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต} = \frac{\text{จำนวนไมโครสปอร์กลุ่มละสีหรือไมโครสปอร์ที่เรืองแสง}}{\text{จำนวนไมโครสปอร์กลุ่มละสีหรือไมโครสปอร์ทั้งหมด}} \times 100$$



ภาคผนวก ข

ตารางที่ 3 แสดงข้อมูลความยาวก้านดอกมังกูด (เซนติเมตร) ระยะต่างๆ

ลำดับ ที่	ระยะการเจริญของดอกแบ่งตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตาดอกและดอก (เซนติเมตร)										
	0.1-0.2	0.3-0.4	0.5-0.6	0.7-0.8	0.9-1.0	1.1-1.2	1.3-1.4	1.5-1.6	1.7-1.8	1.9-2.0	ดอกบาน
1				0.6	0.8	1.0	0.8	1.4	1.5	1.7	1.8
2				0.5	0.7	1.0	0.9	1.3	1.5	1.9	1.9
3				0.6	0.8	1.0	1.0	1.2	1.5	1.7	2.2
4				0.4	0.7	0.9	1.1	1.2	1.5	1.9	2.3
5				0.6	0.5	1.1	1.0	1.2	1.2	1.9	2.2
6				0.2	0.6	0.8	1.0	1.4	1.3	1.4	2.2
7				0.3	0.7	0.9	1.1	1.3	1.5	1.6	1.7
8				0.5	0.4	0.9	1.1	1.2	1.3	1.5	1.9
9				0.4	0.6	0.9	1.1	1.2	1.4	1.4	2.0

ลำดับ ที่	ระยะการเจริญของดอกแบ่งตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตาดอกและดอก (เซนติเมตร)										
	0.1-0.2	0.3-0.4	0.5-0.6	0.7-0.8	0.9-1.0	1.1-1.2	1.3-1.4	1.5-1.6	1.7-1.8	1.9-2.0	ดอกบาน
10				0.5	0.6	0.9	1.2	1.2	1.3	1.8	1.8
11				0.4	0.8	1.0	1.0	1.5	1.7	1.8	2.0
12				0.3	0.9	1.1	1.1	1.8	1.4	1.82	1.8
13				0.3	0.7	0.9	1.1	1.15	1.9	1.87	2.0
14				0.3	0.7	0.9	1.1	1.29	1.7	1.89	2.0
15				0.4	1	0.9	1.11	1.35	1.9	1.91	2.1
16				0.5	0.6	0.8	1.14	1.35	1.58	1.96	1.7
17				0.4	0.7	1.01	1.18	1.55	1.7	2.03	1.8
18				0.3	0.6	0.91	1.42	1.56	1.73	2.04	2.0
19				0.2	0.7	0.92	1.71	1.7	1.94	2.08	2.0
20				0.4	0.8	0.95	1.74	1.74	2.08	2.2	2.1

หมายเหตุ : ระยะตาดอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.2, 0.3-0.4 และ 0.5-0.6 เซนติเมตร ตาดอกยังไม่สร้างก้านดอก

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลจำนวนของไมโครสปอร์กลุ่มละสี่และไมโครสปอร์ที่มีชีวิต (Vi) และค่า% ความมีชีวิตทั้งหมด

ระยะ	1.3-1.4 (เซนติเมตร)			1.5-1.6 (เซนติเมตร)			1.7-1.8 (เซนติเมตร)			1.9-2.0 (เซนติเมตร)			ดอกบาน		
	Vi	total	%	Vi	total	%	Vi	total	%	Vi	total	%	Vi	total	%
1	23	40	57.5	5	37	13.51	3	36	8.33	3	35	8.57	1	29	3.45
2	60	76	78.95	7	57	12.28	4	45	8.89	1	32	3.12	0	22	0
3	24	35	68.57	13	38	34.21	2	45	4.44	1	25	4	0	31	0
4	20	39	51.28	33	59	55.93	2	34	5.88	0	20	0	2	56	3.57
5	22	37	59.46	49	79	62.02	2	47	4.26	1	25	4	1	35	2.86
6	10	40	25	13	47	27.66	1	49	2.04	2	45	4.44	2	44	4.55
7	38	49	77.55	22	57	38.60	2	48	4.17	1	45	2.22	0	18	0
8	43	67	64.18	22	56	39.28	3	66	4.55	1	47	2.13	0	24	0
9	43	67	64.18	12	34	35.29	1	27	3.70	2	56	3.57	1	27	3.70
10	46	78	58.97	38	66	57.58	2	27	7.41	1	33	3.03	1	18.15	5.51

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS

1. การวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของความยาวก้านในระยะต่างๆ

Descriptives

peduncle\_length

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0.7-0.8	20	.4050	.12344	.02760	.3472	.4628	.20	.60
0.9-1.0	20	.6950	.13563	.03033	.6315	.7585	.40	1.00
1.1-1.2	20	.9395	.08075	.01806	.9017	.9773	.80	1.10
1.3-1.4	20	1.1450	.23302	.05211	1.0359	1.2541	.80	1.74
1.5-1.6	20	1.3795	.19933	.04457	1.2862	1.4728	1.15	1.80
1.7-1.8	20	1.5815	.24349	.05445	1.4675	1.6955	1.20	2.08
1.9-2.0	20	1.8200	.21667	.04845	1.7186	1.9214	1.40	2.20
ระยะดอกบาน	20	1.9750	.17434	.03898	1.8934	2.0566	1.70	2.30
Total	160	1.2426	.54525	.04311	1.1574	1.3277	.20	2.30

ANOVA

peduncle\_length

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.125	7	6.018	177.770	.000
Within Groups	5.145	152	.034		
Total	47.270	159			

Peduncle\_length

Duncan<sup>a</sup>

stage	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0.7-0.8	20	.4050							
0.9-1.0	20		.6950						
1.1-1.2	20			.9395					
1.3-1.4	20				1.1450				
1.5-1.6	20					1.3795			
1.7-1.8	20						1.5815		
1.9-2.0	20							1.8200	
ระยะดอกบาน	20								1.9750
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า % ความมีชีวิตไมโครสปอร์กลุ่มละติและไมโครสปอร์ ระยะต่างๆ

Descriptives

viability\_per

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.3-1.4	10	60.5644	15.20545	4.80839	49.6871	71.4417	25.00	78.95
1.5-1.6	10	37.6374	17.23163	5.44912	25.3106	49.9642	12.28	62.03
1.7-1.8	10	5.3668	2.20264	.69653	3.7912	6.9425	2.04	8.89
1.9-2.0	10	3.5092	2.19198	.69316	1.9412	5.0773	.00	8.57
ระยะดอกบาน	10	2.3636	2.15198	.68052	.8241	3.9030	.00	5.51
Total	50	21.8883	25.65078	3.62757	14.5984	29.1782	.00	78.95

## ANOVA

viability\_per

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27358.373	4	6839.593	63.047	.000
Within Groups	4881.799	45	108.484		
Total	32240.172	49			

## Viability\_per

Duncan<sup>a</sup>

stage	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ระยะดอกบาน	10	2.3636		
1.9-2.0	10	3.5092		
1.7-1.8	10	5.3668		
1.5-1.6	10		37.6374	
1.3-1.4	10			60.5644
Sig.		.549	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล    นางสาวพรสวรรค์ สุขชินนท์  
รหัสประจำตัวนักศึกษา                          5410220035

### วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) เกียรตินิยมอันดับสอง	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2553

### ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

โครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ และทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิต  
วิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปีงบประมาณ 2554

### การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

พรสวรรค์ สุขชินนท์ อุปถัมภ์ มีสวัสดิ์ และช่อทิพย์ ปุรินทวรกุล. 2556. ภายวิภาคศาสตร์  
การเจริญของสปอร์เพศผู้และเพศเมียในมังคุด (*Garcinia mangostana* L.). การประชุมวิชาการ  
พฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 7 ระหว่างวันที่ 3-5 เมษายน 2556 ณ อาคารหอประชุมพ่อขุน  
รามคำแหงมหาราช มหาวิทยาลัยรามคำแหง กรุงเทพมหานคร

Sutthinson, P., Panon, K., Jantasil, A. and Meesawat, U. 2011. Effect of Chitosan and  
Nutrient Concentrations on Growth of Tiger Orchid (*Grammatophyllum speciosum* Blume.)  
Using DRFT Hydroponic Culture System. Proceeding of the 37<sup>th</sup> Congress on Science and  
Technology of Thailand, Bangkok, Thailand, October 10-12, 2011.