บทที่ 4

วิจารณ์

เทคนิคทางเซลล์วิทยา เนื้อเยื่อวิทยา ชีวเคมี เครื่องหมายโมเลกุล และการทดสอบรุ่นลูก สามารถใช้ตรวจสอบการเกิดอะโพมิกซีสในพืชได้ โดยเฉพาะการตรวจสอบการพัฒนาของออวุล และถุงเอ็มบริโอร่วมกับเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลถูกใช้สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของลักษณะอะโพมิกซีสในรุ่นลูก (Khush *et al*., 1994 อ้างโดย Naumova, 1997) สำหรับการตรวจสอบการเกิดอะโพมิกซีสของพืชสกุลลางสาดเมื่อศึกษาในระดับเนื้อเยื่อเพื่อระบุองค์ประกอบโครงสร้างของถุงเอ็มบริโอภายในรังไข่ เนื่องจากส่วนแกนของรังไข่ของพืชสกุลนี้มีลักษณะแข็ง การแทรกซึมของพาราฟินเข้าสู่เนื้อเยื่อทำได้ไม่ดี ส่งผลให้เมื่อตัดเนื้อเยื่อที่ระดับความหนาประมาณ 4-7 ไมโครเมตร เนื้อเยื่อส่วนใหญ่จะขาด การระบุองค์ประกอบต่างๆ ภายในถุงเอ็มบริโอให้ครบถ้วนจึงเป็นไปได้ยาก อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างของถุงเอ็มบริโอที่พบกับ งานทดลองของ Prakash และคณะ (1977) พบตรงกันว่าภายในออวุลของพืชสกุลลางสาดมี นิวเซลลัสอยู่เต็ม นิวเซลลัสบางเซลล์พัฒนาเป็นถุงเอ็มบริโอได้โดยตรงไม่ผ่านการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส เรียกถุงเอ็มบริโอลักษณะนี้ว่า aposporous embryo sac ภายในถุงเอ็มบริโอชนิดนี้ส่วนใหญ่ที่พบมักประกอบด้วย 4 นิวเคลียส คือ เซลล์ไข่ 1 เซลล์ polar nuclei 1 เซลล์ และ synergid 2 เซลล์ แต่ภายในถุงเอ็มบริโอของลองกอง และลางสาด เท่าที่พบน่าจะมีเฉพาะเซลล์ไข่ และ polar nuclei Quarin และคณะ (2001) อธิบายว่าคุณสมบัติค่อนข้างเด่นชัดของถุงเอ็มบริโอชนิด aposporous embryo sac คือ การที่ไม่มีเซลล์ antipodal และเซลล์ synergid และเซลล์เหล่านี้มักจะเกิดการสลายตัวไปในที่สุด สำหรับในระยะที่ดอกพร้อมรับการผสมของพืชสกุลลางสาดโดยเฉพาะลองกอง และลางสาด การพัฒนาของถุงเอ็มบริโอเกิดอย่างสมบูรณ์ โดยพบว่าภายในหนึ่งออวุลมีหลายถุงเอ็มบริโอ แต่การพัฒนาของแต่ละถุงเอ็มบริโอจะเกิดขึ้นไม่พร้อมกัน ในลองกอง และลางสาดจะตรวจพบ multiple aposporous embryo sac ชัดเจนในระยะดอกบาน ผลการศึกษาครั้งนี้ตรวจไม่พบเซลล์แม่เมกะสปอร์ภายในออวุลของลองกอง ลางสาด และดูกู จึงไม่พบการพัฒนาของถุงเอ็มบริโอชนิด polygonum ซึ่งกระบวนการพัฒนาของถุงเอ็มบริโอชนิดนี้ต้องผ่านการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส เพื่อสร้าง 4 เซลล์เมกะสปอร์ และจะมีเพียง 1 เซลล์ เมกะสปอร์เท่านั้นที่จะมีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซีสของนิวเคลียส 3 ครั้ง ภายในถุงเอ็มบริโอชนิดนี้จึงประกอบด้วยเซลล์ที่มี 8 นิวเคลียส คือ เซลล์ไข่ 1 เซลล์ และ synergid 2 เซลล์อยู่ด้านบน polar nuclei 2 เซลล์อยู่บริเวณ ตรงกลาง และ

antipodal 3 เซลล์อยู่ด้านล่างของถุงเอ็มบริโอ ซึ่งสอดคล้องกับผลการรายงานของภูวดล (2531) และสมพร (2538) ในขณะที่ Prakash และคณะ (1977) รายงานว่า เนื้อเยื่อของ นิวเซลลัสภายในออวุลของทั้งลางสาด และดูกู มีการพัฒนาเป็นเซลล์แม่เมกะสปอร์ที่สามารถเจริญพัฒนาต่อไปเป็นถุงเอ็มบริโอชนิด polygonum ที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มี 8 นิวเคลียส นอกจากนี้พบนิวเซลลัสเซลล์จำนวนมากมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นถุงเอ็มบริโอชนิด aposporous embryo sac ร่วมด้วย ซึ่งการศึกษาเซลล์วิทยาของพืชสกุลลางสาดในครั้งนี้น่าจะตรวจพบการสร้างถุงเอ็มบริโอชนิด polygonum ด้วยเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะในดูกู และลางสาดเนื่องจากพืชทั้ง 2 ชนิดนี้มีรายงานว่าพบความหลากหลายทางพันธุกรรมเมื่อตรวจสอบด้วยเครื่องหมายโมเลกุลในระดับดีเอ็นเอ (จรัสศรี และสุวิมล, 2546) มีรายงานว่าพืชที่เป็น facultative aposporous apomixis จะพบการพัฒนาของถุงเอ็มบริโอทั้งแบบ aposporous embryo sac และ sexual embryo sac เกิดร่วมกันภายในออวุลเดียวได้ (Caceres *et al*., 2001) Nogler (1984) อ้างโดย Koltunow (1993) อธิบายว่าถุงเอ็มบริโอชนิด aposporous embryo sac จะมีการพัฒนาได้เร็วกว่าถุงเอ็มบริโอชนิด polygonum เนื่องจากกระบวนการพัฒนาไม่ต้องผ่านขั้นตอนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสนั่นเอง นอกจากนี้ช่วงเวลาที่เนื้อเยื่อนิวเซลลัสเกิดการเปลี่ยนแปลงพัฒนากลายเป็นเซลล์กำเนิดถุงเอ็มบริโอชนิด aposporous embryo sac เป็นสาเหตุสำคัญที่มีผลทำให้ภายในแต่ละออวุลสามารถเกิดถุงเอ็มบริโอทั้ง 2 ชนิดร่วมกันได้ กล่าวคือ กรณีที่เซลล์ aposporous initial เกิดการพัฒนาขึ้นก่อนจะมีผลทำให้ขั้นตอนของกระบวนการ sexual megagametophyte ถูกยับยั้ง แต่ถ้ากระบวนการพัฒนาของเซลล์ชนิดนี้เกิดขึ้นภายหลังจะสามารถตรวจพบถุงเอ็มบริโอทั้ง 2 ชนิดเกิดร่วมกันภายในออวุลเดียวกันได้ ดังนั้นในการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของพืชสกุลลางสาดสามารถระบุได้ว่าการเกิดลักษณะอะโพมิกซีสในพืชสกุลนี้เป็นชนิด apospory แต่ยังไม่สามารถชี้ชัดถึงระดับการเกิดลักษณะอะโพมิกซีสว่ามากหรือน้อยเพียงใด จึงต้องอาศัยการตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมร่วมด้วย

จากผลการศึกษาโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีตรวจสอบพันธุกรรมของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดในพืชสกุลลางสาด เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบแถบดีเอ็นเอระหว่างต้นแม่ของลองกองทั้ง 3 ต้นพบว่า มีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันทุกต้นถึงแม้ว่าแต่ละต้นจะมาจากต่างพื้นที่ก็ตาม ทั้งนี้อาจเนื่องจากลองกองทั้ง 3 ต้นเก็บรวมรวบมาจากสวนเกษตรกรที่ปลูกเป็นการค้า เกษตรกรผู้ปลูกมีความรู้เรื่องพันธุ์ และการคัดเลือกต้นพันธุ์ก่อนปลูกเพื่อให้ได้ลองกองที่ตรงตามพันธุ์ รวมทั้งการขยายพันธุ์ก็มักใช้วิธีการเสียบยอดโดยใช้ดูกูเป็นต้นตอจึงทำให้ได้ต้นที่มีพันธุกรรมเหมือนกับต้นแม่ ซึ่งเมื่อตรวจสอบพันธุกรรมของต้นกล้าลองกองที่ได้จากการเพาะเมล็ดทุกต้นมีลักษณะพันธุกรรมเหมือนกัน นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะพันธุกรรมเมื่อเปรียบเทียบระหว่างต้นกล้า และต้นแม่ทุกต้นที่นำมาตรวจสอบครั้งนี้ไม่มีความแตกต่างกัน แสดงว่าลองกองมีลักษณะอะโพมิกซีสแบบ

สมบูรณ์ (obligate apomixis) คือ เมล็ดที่พัฒนาไม่ได้เกิดจากการผสมข้ามระหว่างไข่ และละอองเกสร แต่พัฒนามาจากเซลล์เนื้อเยื่อร่างกาย เช่น นิวเซลลัส เป็นต้น เพียงอย่างเดียว สอดคล้องกับงานทดลองของจรัสศรี และคณะ (2544) ที่รายงานว่าไม่พบความแตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดกับต้นแม่ลองกอง และลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นลูกทุกต้นไม่มีความแตกต่างกัน รวมทั้งงานทดลองของ Konlasuk และคณะ (2001) ที่พบว่าลองกองที่สุ่มจากสวนเกษตรกรจังหวัดนราธิวาส ปัตตานี และสงขลา ไม่มีความแตกต่างของรูปแบบของแถบดีเอ็นเอเมื่อตรวจสอบโดยเทคนิคอาร์เอพีดีเช่นกัน อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าลักษณะอะโพมิกซีสมักมีความสัมพันธ์กับการที่พืชมีโครโมโซมมากกว่า 2 ชุด (Richards, 1997) และพบว่าพืชที่เป็น อะโพมิกซีสจะมีลักษณะที่เรียกว่า โพลีเอ็มบริโอนี คือ การที่เมล็ดหนึ่งเมล็ดสามารถให้ต้นกล้ามากกว่าหนึ่งต้นเมื่อนำไปเพาะ ซึ่งในพืชตระกูลส้ม พบว่าต้นกล้าหลายต้นที่พัฒนามาจากเมล็ดเดียวกันมีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกัน เนื่องจากบางต้นพัฒนามาจากเนื้อเยื่อนิวเซลลัสและบางต้นเกิดจากการผสมระหว่างไข่อ่อน และละอองเกสร (Chin and Roberts, 1980 อ้างโดย จรัสศรี และคณะ, 2543) แต่จากผลการศึกษาครั้งนี้ซึ่งต้นกล้าบางส่วนเป็นต้นกล้า 2-3 ต้นที่ได้จากเมล็ดเดียวกันก็ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน แสดงว่าต้นกล้าลองกองจากเมล็ดเดียวกันเป็นต้นกล้านิวเซลลาทั้งหมด การที่ลองกองมีรูปแบบการสืบพันธุ์ด้วยลักษณะอะโพมิกซีสดังกล่าวนี้ทำให้ลองกองไม่กลายพันธุ์แม้จะปลูกหรือขยายพันธุ์โดยเมล็ดก็ตาม ดังนั้นข้อสงสัยหรือสาเหตุที่พบว่าภายในกลุ่มลองกองมีลักษณะสัณฐานบางอย่างแตกต่างกัน เช่น ใบ และผล รวมทั้งเรื่องของรสชาติ น่าจะมีสาเหตุมาจากผลของสภาพแวดล้อม และการดูแลจัดการสวนของเกษตรกรเป็นสำคัญ อย่างไรก็ตาม จรัสศรี และสุวิมล (2546) รายงานว่าพบความแตกต่างของรูปแบบของแถบดีเอ็นเอจากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในการตรวจสอบพันธุกรรมของต้นลองกองในสวนเกษตรกรแถบภาคใต้ตอนล่าง (จังหวัดสงขลา นราธิวาส และปัตตานี) กับภาคใต้ตอนบน(จังหวัดสุราษฎร์ธานี และระนอง) ทั้งนี้ส่วนหนึ่งอาจเป็นเพราะเกษตรกรมีความรู้เรื่องของพันธุ์น้อย การขาดความพิถีพิถันในการคัดเลือกต้นพันธุ์ลองกองที่ปลูก รวมทั้งมักใช้รสชาติเป็นหลักในการคัดเลือก ต้นไหนมีรสชาติคล้ายลองกองก็มักเรียกรวมๆ ว่าเป็นลองกอง ทั้งที่ความเป็นจริงแล้วอาจจะไม่ใช่ลองกองแท้ ตัวอย่างเช่นกรณีของลองกองน้ำที่มีผล และรสชาติคล้ายลองกองแต่จำน้ำ และเปลือกบางกว่า ซึ่งชาวสวนในพื้นที่ดังกล่าวก็เรียกว่าลองกอง แต่เมื่อพิจารณารูปแบบของแถบดีเอ็นเอ พบว่า มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับดูกูมากกว่าลองกอง หรือในกรณีของลองกอง กาแลแม ที่มีลักษณะผลคล้ายลางสาด คือ เปลือกบาง มียางเล็กน้อย แต่รสชาติดีกว่า เมื่อพิจารณาจากเดนโดรแกรมก็พบว่ามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับลางสาดเขา และลางสุกมากกว่าลองกองเช่นเดียวกัน (จรัสศรี และมงคล, 2547)

สำหรับรูปแบบแถบดีเอ็นเอของต้นแม่ในกลุ่มลางสาดและดูกูมีความแตกต่างกันในแต่ละต้นทั้งที่เก็บตัวอย่างต้นแม่มาจากแหล่งเดียวกัน และเมื่อตรวจสอบพันธุกรรมของต้นกล้าลางสาด และดูกูที่ได้จากการเพาะเมล็ด พบว่ามีต้นกล้าบางส่วนที่มีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอเหมือนต้นแม่ โดยในลางสาดมีจำนวนต้นกล้าที่มีลักษณะพันธุกรรมเหมือนกันภายในกลุ่มต้นกล้า และเหมือนกับต้นแม่สูงกว่าในดูกู นอกจากนี้มีต้นกล้าบางส่วนเป็นต้นกล้า 2 ต้นที่ได้จากเมล็ดเดียวกันของลางสาดให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน แสดงว่าต้นกล้าลางสาดจากเมล็ดเดียวกันเหล่านี้เป็นต้นกล้านิวเซลลาเช่นเดียวกับในต้นกล้าลองกอง ในกลุ่มต้นกล้าดูกูส่วนใหญ่แต่ละต้นจะมีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอต่างกัน และการศึกษาครั้งนี้ไม่พบลักษณะโพลีเอ็มบริโอนีในกลุ่มต้นกล้าของดูกู แสดงว่าลางสาด และดูกูมีลักษณะอะโพมิกซีสเช่นเดียวกับลองกอง แต่ระดับของการเกิดเมล็ดแบบอะโพมิกซีสในลางสาดสูงกว่าดูกู จากผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ต้นกล้าของลางสาด และดูกูประมาณ 71.37 และ 12.78 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เป็นต้นกล้านิวเซลลาที่พัฒนามาจากเนื้อเยื่อ นิวเซลลัส ส่วนที่เหลือน่าจะเป็นต้นกล้าไซโกติก ซึ่งเป็นต้นกล้าที่เกิดจากการผสมระหว่างไข่และสเปิร์ม แสดงว่าทั้งลางสาด และดูกู มีลักษณะอะโพมิกซีสชนิด facultative apomixis ซึ่งลักษณะ อะโพมิกซีสชนิดนี้สามารถพบได้ในพืชชนิดอื่นๆ หลายชนิด เช่น มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) (Nassar *et al*., 1998) Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) (Mazzucato *et al*., 1995) และ *Hieracium auranticum* L. (Skalinska, 1987) เป็นต้น นอกจากนี้จากผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเปอร์เซ็นต์ของต้นกล้าดูกูที่เป็นต้นกล้านิวเซลลาแตกต่างจากผลการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้าดูกูที่ได้จากการเพาะเมล็ดโดยจรัสศรี และคณะ (2544) ที่รายงานว่าต้นกล้าดูกูให้ต้นกล้าที่มีจีโนไทป์เหมือนต้นแม่ประมาณ 49 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบต้นกล้าทั้งสิ้น 32 ต้น โดยใช้ไพรเมอร์เพียง 5 ชนิด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากจำนวนตัวอย่างต้นกล้าดูกูที่ศึกษาในครั้งนี้มีจำนวนมากกว่า และมาจากต้นแม่จำนวน 3 ต้น และใช้ไพรเมอร์มากกว่า (8 ชนิด) ซึ่งจากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุลลางสาดในเขตภาคใต้ของประเทศไทยโดยการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี พบว่า การสุ่มเก็บตัวอย่างพืชกลุ่มนี้ในจำนวนมากขึ้น และกระจายครอบคลุมหลายพื้นที่ พบความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานทดลองของ Konlasuk และคณะ (2001) ที่รายงานถึงความแตกต่างของรูปแบบของแถบดีเอ็นเอในประชากรดูกู และลางสาด โดยในกลุ่มของดูกูจากจังหวัดสงขลา นราธิวาส และปัตตานี แต่ละต้นจะมีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอต่างกัน มีดูกูเพียง 2 ต้น จากจังหวัดปัตตานี ที่มีพันธุกรรมเหมือนกัน จรัสศรี และคณะ (2544) รายงานว่า มีเมล็ดดูกูบางส่วนเกิดเมล็ดแบบ อะโพมิกซีส อีกส่วนหนึ่งจะเป็นเมล็ดปกติที่เกิดจากการผสมระหว่างไข่และละอองเกสร จึงมีผลทำให้ต้นลูกที่ได้ส่วนใหญ่มีความแตกต่างจากต้นแม่ โดยทั่วไปพืชที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสามารถผสมข้ามกันได้ง่าย

หากละอองเกสรและไข่ของคู่ผสมปกติ ในกรณีของพืชสกุลลางสาดนั้นมีการศึกษาถึงความมีชีวิตของละอองเกสร พบว่าลองกองไม่มีการสร้างละอองเกสร (สมพร, 2538) หรือสร้างละอองเกสรน้อยมาก นอกจากนี้แล้วละอองเกสรของลองกองทั้งหมดที่สร้างเป็นหมัน ส่วนลางสาด และดูกูพบการสร้างละอองเกสรแต่ละอองเกสรส่วนใหญ่เป็นหมันเช่นกัน มีส่วนน้อยที่ปกติ อย่างไรก็ตามพบว่าดูกูบางต้นมีการติดดอกเป็นจำนวนมากแต่ไม่เคยติดผลแม้จะมีการติดดอกอย่างต่อเนื่องทุกปี เมื่อนำดอกดูกูตัวผู้เหล่านั้นมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีการสร้างละอองเกสรเป็นจำนวนมากและเกสรเหล่านั้นสามารถงอกประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ (อุไรวรรณ, 2543) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้สูงที่ละอองเกสรของดูกูเหล่านี้สามารถผสมข้ามกับดูกูต้นอื่นๆ ที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงกันหรือแม้แต่ผสมตัวเอง จึงทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นพืชในกลุ่มดูกู ละอองเกสรของดูกูตัวผู้เหล่านี้อาจไม่สามารถผสมข้ามกับลองกองได้ หรือแม้สามารถผสมได้แต่ส่วนของตัวเมียในลองกองอาจเป็นหมันเช่นเดียวกับละอองเกสร มีการทดลองผสมข้ามระหว่างดูกูกับดูกู ดูกูกับลองกอง และดูกูกับลางสาด โดยใช้ละอองเกสรดูกูที่ผ่านการทดสอบความงอกแล้วมาผสม รวมไปถึงการให้ดูกูผสมตัวเอง ลางสาดและลองกองคลุมถุง โดยการคลุมถุงตั้งแต่ดอกยังอ่อน ซึ่งผลปรากฏว่าไม่พบการงอกของละอองเกสรเลย ยกเว้นในดูกูผสมตัวเองที่มีการงอกของละอองเกสรในช่วงระยะเวลา 2 วันหลังผสมเพียง 2-3 ละอองเกสรเท่านั้น แต่การทดลองครั้งนี้ยังไม่สมบูรณ์เพียงพอที่จะสรุปได้ว่าไม่เกิดการผสมข้ามในกลุ่มประชากรของพืชสกุลลางสาด เนื่องจากการผสมข้ามไม่ประสบความสำเร็จอาจเป็นเพราะสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือช่วงเวลาของการผสมเกสรนั้น แม้ละอองเกสรอยู่ในช่วงพร้อมผสม แต่ส่วนของตัวเมียอาจยังไม่พร้อมรับการผสม (จรัสศรี และคณะ, 2545) อย่างไรก็ตามความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืชอาจเกิดขึ้นได้ในธรรมชาติเนื่องจากเกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งแม้จะไม่มีรายงานยืนยันการกลายพันธุ์ในพืชสกุลลางสาด แต่เชื่อว่ามีโอกาสเกิดขึ้นได้ ดังรายงานในพืชสกุลส้ม (*Citrus*) เช่น *C. paradisi* และ *C. sinensis* ที่แม้จะมีการขยายพันธุ์ที่ไม่ใช้เพศแต่มีความแปรปรวนเกิดขึ้นได้ ซึ่งความแปรปรวนของลักษณะดังกล่าวเกิดจากการกลายพันธุ์ของเซลล์ร่างกาย (somatic mutation) (Vardi, 1988)

การใช้เทคนิคอาร์เอพีดีเพื่อศึกษาระดับการเกิดลักษณะอะโพมิกซีสในต้นกล้าลองกอง ลางสาด และดูกูสามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ และจากการศึกษาในพืชหลายชนิดยืนยันได้ว่าเทคนิคดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูงพอที่จะใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทาง พันธุกรรมของพืช เช่น แอปเปิล (Oraguzie *et al*., 2001) *Arachis* spp. (Gimenes *et al*., 2000) *Pyrus* (Teng *et al*.,2002) มันสำปะหลัง (Asante and Offei, 2003) เกรฟฟรุต และส้มโอ (Corazza-Nunes *et al*., 2002; จรัสศรี และคณะ, 2546) *Lithocerasus* (Shimada *et al.,* 2001) และพืชสกุลลางสาด (Song *et al*., 2000) เป็นต้น อย่างไรก็ตามในการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำพีซีอาร์ จะคิด

เฉพาะแถบดีเอ็นเอที่มีความเข้มชัดเจนเพียงพอ และสามารถเพิ่มปริมาณได้อย่างสม่ำเสมอในการทำพีซีอาร์แต่ละครั้ง โดยจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ได้ทั้งหมด และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันเป็นตัวบ่งชี้ถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชนั้นๆ (Fanizza *et al*., 1999) มีรายงานไว้ว่าในการทดลองทำพีซีอาร์จากแหล่งต่างกัน 6 ห้องปฏิบัติการ โดยใช้ความเข้มข้นของสารที่เป็นองค์ประกอบในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเหมือนกัน แต่ใช้เครื่องพีซีอาร์ต่างกัน พบว่าผลการทดลองที่ได้มีความแปรปรวนเกิดขึ้น (Penner *et al*., 1995 อ้างโดย Weising *et al*., 2000) แต่ตลอดการทดลองของขั้นตอนการทำพีซีอาร์เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอครั้งนี้ใช้เครื่องพีซีอาร์เพียงเครื่องเดียว ผลการทดลองที่ได้จึงเชื่อถือได้ว่าไม่ได้มีความแปรปรวนจากเครื่องพีซีอาร์เกิดขึ้น เทคนิคอาร์เอพีดีเป็นเทคนิคที่ทำพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์เพียงชนิดเดียวและมีขนาดสั้น ซึ่งไพรเมอร์แต่ละชนิดก็มีความเฉพาะเจาะจงที่แตกต่างกันไป ดังนั้นการคัดเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพเพียงพอในการใช้แยกความแตกต่างลักษณะทางพันธุกรรมจึงมีความสำคัญ ซึ่งจากผลการตรวจสอบลักษณะอะโพมิกซีสในต้นกล้าด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีครั้งนี้ พบว่า ไพรเมอร์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการใช้แยกความแตกต่างลักษณะทางพันธุกรรมของพืชสกุลลางสาด คือ ไพรเมอร์ OPC-05, OPD-03 และ OPT-08