บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ไม้ผลสกุลลางสาด (*Lansium domesticum* Corr.) เป็นไม้ผลเมืองร้อน ปลูกมากที่จังหวัดนราธิวาส ยะลา จันทบุรี ชุมพร และปัตตานี ปัจจุบันไม้ผลสกุลลางสาดโดยเฉพาะลองกองจัดเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญที่มีศักยภาพในการผลิตสูง พื้นที่ปลูกลองกองได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จากปี 2538 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกลองกอง 160,783 ไร่ เพิ่มขึ้นเป็น 393,572 ไร่ ในปี 2546 (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2546) เนื่องจากความต้องการของผู้บริโภคและผลตอบแทนต่อไร่ค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตามการผลิตลองกองยังมีปัญหาหลายประการ เช่น ผลผลิตไม่สม่ำเสมอ คุณภาพผลไม่แน่นอน ปัญหาโรคและแมลง ปัญหาการเก็บเกี่ยว รวมไปถึงความไม่แน่นอนของพันธุ์ที่ใช้ปลูก เป็นที่น่าสังเกตว่าสวนเกษตรกรในหลายพื้นที่ที่มีการปลูกลองกองมานานประมาณ 10-20 ปี เช่น จังหวัดนราธิวาส ปัตตานี ยะลา และสงขลา เป็นต้น มักมีลางสาด และดูกูปะปนแทบทุกสวน หากมีดูกูปะปนมากก็ทำความเสียหายให้แก่เกษตรกรเพราะผลผลิตดูกูไม่เป็นที่นิยมบริโภค นอกจากนี้ยังพบว่าดูกูบางต้นสามารถติดดอกแต่ไม่ติดผลเลย การขยายพันธุ์ลองกองเพื่อให้ได้ต้นพันธุ์ที่ตรงตามพันธุ์นิยมใช้วิธีการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ คือ การเสียบยอดโดยใช้ดูกูเป็นต้นตอ แต่ชาวสวนส่วนหนึ่งคงใช้วิธีปลูกโดยการเพาะเมล็ด เนื่องจากเชื่อว่าเมล็ดลองกองจะไม่มีการกลายพันธุ์

ในพืชหลายชนิด เช่น ส้ม มะม่วง แบล็คเบอรี่ มันสำปะหลัง มีการสร้างเมล็ดโดยที่เมล็ดดังกล่าวไม่ได้เกิดจากการผสมข้ามระหว่างไข่และสเปิร์มแต่เมล็ดพัฒนามาจากส่วนเนื้อเยื่อร่างกายบริเวณรอบๆ ถุงเอ็มบริโอ เช่น นิวเซลลัส หรือ เปลือกหุ้มเมล็ด ดังนั้นต้นกล้าที่พัฒนามาจากเมล็ดดังกล่าวจะมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ เรียกการเกิดเมล็ดแบบนี้ว่า อะโพมิกซีส สำหรับพืชสกุลลางสาด Bernardo และคณะ (1961) รายงานว่าการเกิดเมล็ดของลางสาด และดูกูเป็นแบบอะโพมิกซีส และพบลักษณะโพลีเอ็มบริโอนี คือการที่เมล็ดหนึ่งเมล็ดสามารถให้ต้นกล้ามากกว่า 1 ต้น ในพืชตระกูลส้ม พบว่าต้นกล้าหลายต้นที่พัฒนามาจากเมล็ดเดียวกันมีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกัน เนื่องจากบางต้นพัฒนามาจากเนื้อเยื่อนิวเซลลัส และบางต้นเกิดจากการผสมระหว่างไข่อ่อนและละอองเกสร (Chin and Roberts, 1980 อ้างโดย จรัสศรี และคณะ, 2543) สำหรับพืชสกุลลางสาดโดยเฉพาะลองกองมีรายงานว่าต้นกล้าที่ได้จากการเพาะ

เมล็ดเกือบทั้งหมดจากต้นแม่เดียวกันมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกันเมื่อมีการทดสอบโดยการใช้เทคนิคอาร์เอพีดี โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 5 ไพรเมอร์ ในขณะที่ดูกูมีบางส่วนของต้นกล้ามีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอแตกต่างจากต้นแม่ (จรัสศรี และคณะ, 2543) ส่วนในลางสาดยังไม่มีรายงาน ดังนั้นการหาข้อสรุปการเกิดลักษณะอะโพมิกซีสในพืชสกุลลางสาดโดยศึกษาการพัฒนาในส่วนของตัวเมียด้วยวิธีทางเนื้อเยื่อวิทยาควบคู่ไปกับการใช้เครื่องหมายระดับดีเอ็นเอ ตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดโดยใช้จำนวน ไพรเมอร์มากขึ้นจะสามารถตรวจสอบการเกิดลักษณะอะโพมิกซีสในพืชสกุลลางสาดให้ชัดเจนมากขึ้น เพื่อจะเป็นประโยชน์ต่อชาวสวนลองกองในการขยายพันธุ์ที่ถูกต้องและข้อมูลเหล่านี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาขั้นสูงต่อไป

ตรวจเอกสาร

ลองกอง ลางสาด และดูกู จัดเป็นไม้ผลเมืองร้อนชนิดเดียวกัน อยู่ในอันดับ Maliales วงศ์ Maliaceae สกุล *Lansium* มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lansium domesticum* Corr. แต่ เต็ม (2523) จัดให้พืชสกุลลางสาดอยู่ในสกุล *Aglaia* โดยให้ลองกอง และดูกูอยู่ในกลุ่มเดียวกัน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Aglaia dookkoo* Griff. และให้ชื่อวิทยาศาสตร์ของลางสาดว่า *Aglaia domesticum* Pellag. มงคล (2538) เรียกพืชกลุ่มนี้เป็นภาษาไทยว่า “พืชสกุลลางสาด” พืชสกุลนี้มีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ในป่าแถบหมู่เกาะมลายู อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และภาคใต้ของประเทศไทย นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถปลูกได้ในส่วนอื่นๆ ของโลก เช่น ประเทศเปอร์โตริโก ประเทศ ออสเตรเลีย เป็นต้น (Othman and Subhadrabandhu, 1995)

1. การจำแนกพันธุ์

การจัดกลุ่มพืชสกุลลางสาดมีความแตกต่างกันในแต่ละประเทศ ประเทศมาเลเซีย Song และคณะ (2000) แบ่งกลุ่ม *Lansium domesticum* เป็น 4 ชนิดคือ

1. ดูกู (Duku)
2. ลางสาด (Langsat)
3. ดูกู-ลางสาด (Duku-langsat)
4. โดก็อง (Dokong)

โดยกล่าวถึงความแตกต่างระหว่างดูกู และลางสาดไว้ชัดเจน คือ ผลของลางสาดค่อนข้างรี เปลือกผลบาง และมียางที่เปลือก ส่วนดูกูผลจะยาว เปลือกหนา และไม่มียาง สำหรับดูกู-ลางสาดนั้นมีลักษณะกึ่งกลางระหว่างดูกูและลางสาด โดยทั่วไปดูกู-ลางสาดมีคุณภาพผลดีกว่าลางสาด และดูกูพืชกลุ่มนี้เชื่อว่าเป็นพืชดั้งเดิมในคาบสมุทรมาเลเซีย ส่วนโดก็องเป็นพันธุ์ที่มาจากทางภาคใต้ของประเทศไทยและมีการนำมาปลูกในประเทศมาเลเซียนานกว่า 20 ปีแล้ว

สำหรับประเทศอินโดนีเซีย มีการแบ่งพืชสกุลลางสาดออกเป็น 3 กลุ่ม (IBPGR, 1986) คือ

1. ดูกู
2. ลางสาด
3. โคโคซาน (Kokosan)

ลักษณะของดูกูมีความแตกต่างจากที่อธิบายไว้ในประเทศมาเลเซีย คือ ลักษณะผลรี และกลม ผลใหญ่ เปลือกบาง รสชาติหวาน และมีเมล็ดน้อย ส่วนโคโคซานมีผลขนาดเล็ก ผลกลม ผิวผลมีสีเหลืองคล้ำ รสชาติเปรี้ยว

ในประเทศไทย ณรงค์และมงคล (2528) ได้จำแนกพืชสกุลลางสาดออกเป็น 3 ชนิด ตามลักษณะผลดังนี้

1. ลางสาด (*Lansium domesticum* cv. Langsat) ลักษณะรูปร่างผลยาว ขนาดผล 2.4-2.8 เซนติเมตร เปลือกบางเรียบ สีผิวเปลือกมีสีเหลืองอ่อนคล้ายสีฟางข้าว เปลือกมียางมาก พันธุ์ลางสาดที่พบในภาคใต้ ได้แก่ ลางสาดปาดี ลางสาดซาวอร์ และลางสาดละแม

2. ดูกู (*Lansium domesticum* cv. Duku) มีลักษณะรูปร่างผลกลม ขนาดใหญ่ และเปลือกหนากว่าลางสาด ไม่มียาง พันธุ์ดูกูที่พบในภาคใต้ ได้แก่ ดูกู (พื้นเมือง) ดูกูแปรแมร์ ดูกูปาเล็มบัง ดูกูมะละกะ (มะละกู) และดูกูน้ำ

3. ลองกอง (*Lansium domesticum* cv. Longkong) คุณภาพผลดีที่สุดในพืชสกุลลางสาดด้วยกัน เนื้อผลมีกลิ่นหอม ผลสุกมีรสชาติหวาน ขนาดผลโดยเฉลี่ยอยู่กึ่งกลางระหว่างดูกูและลางสาด ลักษณะ รูปร่าง สีผิวคล้ายดูกู สำหรับลองกองเท่าที่พบมีการแยกความแตกต่างตามคุณภาพผลได้เป็น ลองกองกะละแม และลองกองน้ำ

การจัดกลุ่มพืชสกุลลางสาดที่แตกต่างกันในแต่ละประเทศขึ้นอยู่กับพันธุ์และความหลากหลายของพันธุ์ในแต่ละพื้นที่ ซึ่งปัจจัยที่สำคัญขึ้นอยู่กับความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้น สาเหตุของความแปรปรวนทางพันธุกรรมในพืชโดยทั่วไปเกิดจากการผสมข้ามพันธุ์หรือข้ามชนิด หรืออาจเกิดจากการกลายพันธุ์ ลักษณะความแปรปรวนทางพันธุกรรมในพืชสามารถตรวจสอบได้ในระดับที่มองเห็นด้วยสายตา โดยอาศัยความแตกต่างทางสัณฐาน แต่ในบางครั้งการเปลี่ยนแปลงเกิดเพียงเล็กน้อยที่ระดับยีนหรือโครโมโซมซึ่งไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐาน ดังนั้นจึงต้องอาศัยเทคโนโลยีชั้นสูง เช่น การใช้เครื่องหมายโมเลกุลซึ่งเป็นการศึกษาในระดับยีนหรือดีเอ็นเอเป็นเครื่องมือในการตรวจสอบ

ประพันธ์ (2534) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานในพืชสกุลลางสาดโดยเปรียบเทียบใบของลองกอง ลางสาด และดูกู ในระยะต้นกล้า พบว่าต้นกล้าลางสาดมีใบรูปไข่ : ใบรูปรี ประมาณ 1 : 3 แต่ต้นกล้าลองกอง และดูกู มีใบรูปไข่ : ใบรูปรี ประมาณ 1 : 1 ในส่วนของลองกองและดูกูอาจแยกความแตกต่างด้วยการสังเกตผิวใบ คือผิวใบของดูกูค่อนข้างเรียบเป็นคลื่นน้อยกว่าผิวใบของลองกอง และผิวใบของลองกองเป็นมันมีสีเข้มและค่อนข้างหนากว่า แต่ลักษณะประจำพันธุ์ในระยะต้นกล้าของลองกอง ลางสาด และดูกู มีความใกล้เคียงกันมากทำให้ยากต่อการแยกความแตกต่างอย่างชัดเจน ดังนั้นการแยกความแตกต่างจึงต้องอาศัยลักษณะผล ซึ่งต้องใช้เวลานาน

ประมาณ 7 ปี ถึงจะให้ผลผลิต และแยกชนิดได้ โดยลางสาดมีรูปร่างผลค่อนข้างยาว เปลือกบาง เรียบ สีผิวเปลือกมีสีเหลืองคล้ายฟางข้าว เปลือกมียางมาก ส่วนดูกูมีขนาดผลใหญ่ เปลือกหนากว่าลางสาด และไม่มียาง สำหรับลองกองมีคุณภาพผลดีที่สุด ลักษณะรูปร่าง และสีผิวผลคล้ายดูกู ผลสุกมีกลิ่นหอม รสชาติหวาน ขนาดผลอยู่กึ่งกลางระหว่างลางสาด และดูกู ส่วนใหญ่มีเมล็ดน้อยหรือไม่มีเลย (สมพร, 2538; ภูวดล, 2531) แต่การแยกความแตกต่างด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากการรายงานข้างต้นก็ยังไม่มีความชัดเจน ต่อมามีการนำเทคนิคทางชีวโมเลกุลมาใช้ประโยชน์เพื่อแยกความแตกต่างของพืชสกุลนี้ Te-chato และคณะ (1995) ใช้เทคนิคไอโซไซม์ตรวจสอบ *Lansium domesticum* Corr. 4 พันธุ์ คือ ลองกอง ลางสาด ดูกู และดูกูแปรแมร์ ผลการศึกษาพบว่าเอ็นไซม์เปอร์ออกซิเดสให้รายละเอียดความแตกต่างของ 4 พันธุ์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือเอ็นไซม์เอสเตอเรส แอสิดฟอสฟาเตส และฟอสโฟกลูโคไอโซเมอเรส ตามลำดับ Konlasuk และคณะ (2001) แยกความแตกต่างระหว่างลองกอง ลางสาด และดูกู ซึ่งสุ่มเก็บตัวอย่างจากสวนเกษตรกรในเขตจังหวัดสงขลา ปัตตานี และนราธิวาสโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี และรายงานว่า ลองกองให้แถบดีเอ็นเอเหมือนกันทุกต้นในทุกไพรเมอร์ แต่พบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในกลุ่มประชากรของลางสาด และดูกูค่อนข้างชัดเจน Song และคณะ (2000) หาความสัมพันธ์ของพืชในกลุ่ม *Lansium domesticum* ในประเทศมาเลเซียด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี โดยสุ่มตัวอย่าง 85 ตัวอย่าง ใช้ไพรเมอร์ 10 ชนิด ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอจำนวน 113 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันจำนวน 107 แถบ สามารถแบ่งกลุ่มพืชได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 มี 56 ตัวอย่าง ซึ่งลักษณะเปลือกผลบาง ส่วนใหญ่เป็นโดก็อง และลางสาด กลุ่มที่ 2 มี 28 ตัวอย่าง ลักษณะเปลือกผลหนา ส่วนใหญ่เป็นดูกู-ลางสาด ดูกู Terengganu และดูกู Johor กลุ่มที่ 3 มี 1 ตัวอย่าง เป็นดูกู hutan จรัสศรี และมงคล (2547) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืชสกุลลางสาดที่เก็บรวบรวมพันธุ์จากแหล่งปลูกต่างๆ ในจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย ได้แก่ สงขลา ปัตตานี นราธิวาส นครศรีธรรมราช พัทลุง สุราษฎร์ธานี และระนอง จำนวนทั้งสิ้น 101 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี ทดสอบกับไพรเมอร์จำนวน 7 ชนิด พบว่าให้แถบดีเอ็นเอจำนวน 116 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน 109 แถบ โดยแถบดีเอ็นเอของลองกองพันธุ์การค้าที่เก็บมาจากจังหวัดสงขลา ปัตตานี และนราธิวาส มีรูปแบบเหมือนกัน แต่แตกต่างจากลองกองที่เก็บจากแหล่งอื่นๆ ส่วนกลุ่มประชากรดูกู และลางสาดนั้นแต่ละต้นให้แถบดีเอ็นเอต่างกัน สามารถแบ่งกลุ่มพืชสกุลลางสาดได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย ลองกอง ลางสาด และดูกู จำนวน 40 ตัวอย่าง เกือบทั้งหมดเป็นต้นที่ปลูกในเขตจังหวัดสงขลา ปัตตานี และนราธิวาส กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย ลองกอง ลางสาด และดูกู จากพื้นที่จังหวัดทางภาคใต้ตอนบน กลุ่มที่ 3 มีเพียงตัวอย่างเดียว คือ ลองกองจากจังหวัดระนอง

2. ลักษณะอะโพมิกซีส

อะโพมิกซีสเป็นรูปแบบหนึ่งของการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ แต่เป็นการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศโดยผ่านทางเมล็ดซึ่งโดยทั่วไปเมล็ดที่สร้างขึ้นภายในจีโนไทป์ของฝ่ายแม่เป็นเมล็ดที่ไม่ได้เกิดจากการผสมระหว่างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้กับเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย แต่เมล็ดสามารถพัฒนาขึ้นโดยตรงจากเนื้อเยื่อเซลล์ร่างกายของต้นแม่ เช่น พัฒนามาจากส่วนของเนื้อเยื่อรอบๆ ถุงเอ็มบริโอที่เรียกว่า นิวเซลลัส หรือเปลือกหุ้มเมล็ด เมล็ดที่พัฒนาจากเนื้อเยื่อดังกล่าวเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์เหมือนกับเมล็ดที่เกิดจากการรวมกันระหว่างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้กับเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (Grossniklaus, 2001) แต่เมล็ดที่ได้จากการสืบพันธุ์แบบใช้เพศจะมีความหลากหลายทางพันธุกรรม ในขณะที่เมล็ดแบบอะโพมิกซีสจะมีองค์ประกอบทางพันธุกรรมเหมือนกับต้นแม่ ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ต่อโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์พืช และการผลิตเมล็ดพันธุ์ (Koltunow *et al*., 1995)

อะโพมิกซีสพบในพืชหลายชนิด เช่น พืชอาหารสัตว์ตระกูลหญ้าหลายชนิด (Carman, 1995) ส้ม (Garcia *et al*., 1999) มะม่วง (van Dijk and van Damme, 2000) มังคุด (Grossniklaus, 2001) แบล็คเบอรี่ และราสเบอรี่ (Nybom and Schaal, 1990; Schaal and Rogstad, 1989) บีท (Asker, 1979 อ้างโดย Nassar *et al*., 1998a) มันสำปะหลัง (Nassar *et al*., 1998b) กุหลาบ (Bartish *et al*., 2001) กล้วยไม้ (Schmidt and Antlfinger, 1992) และพืชสกุลลางสาด (Bernado *et al*., 1961) เป็นต้น

3. ชนิดและการเกิดอะโพมิกซีส

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของ Koltunow (1993) ได้อธิบายเน้นย้ำถึงความแตกต่างระหว่างกลไกการเกิดอะโพมิกซีสในลักษณะต่างๆ และช่วยให้สามารถจำแนกประเภทของลักษณะอะโพมิกซีสโดยอาศัยตำแหน่ง และจุดเริ่มต้นของเซลล์ที่เกิดการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอ (ภาพที่ 1) ได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. Sporophytic apomixis หรือ adventitious embryony เป็นลักษณะที่เอ็มบริโอพัฒนาขึ้นโดยตรงจากเนื้อเยื่อภายในออวุลที่เรียกว่า นิวเซลลัส ซึ่งประกอบด้วยเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมสองชุด และจะเกิดภายนอกถุงเอ็มบริโอ พบมากในพวกส้ม มะม่วง มังคุด กุหลาบ และกล้วยไม้ เป็นต้น

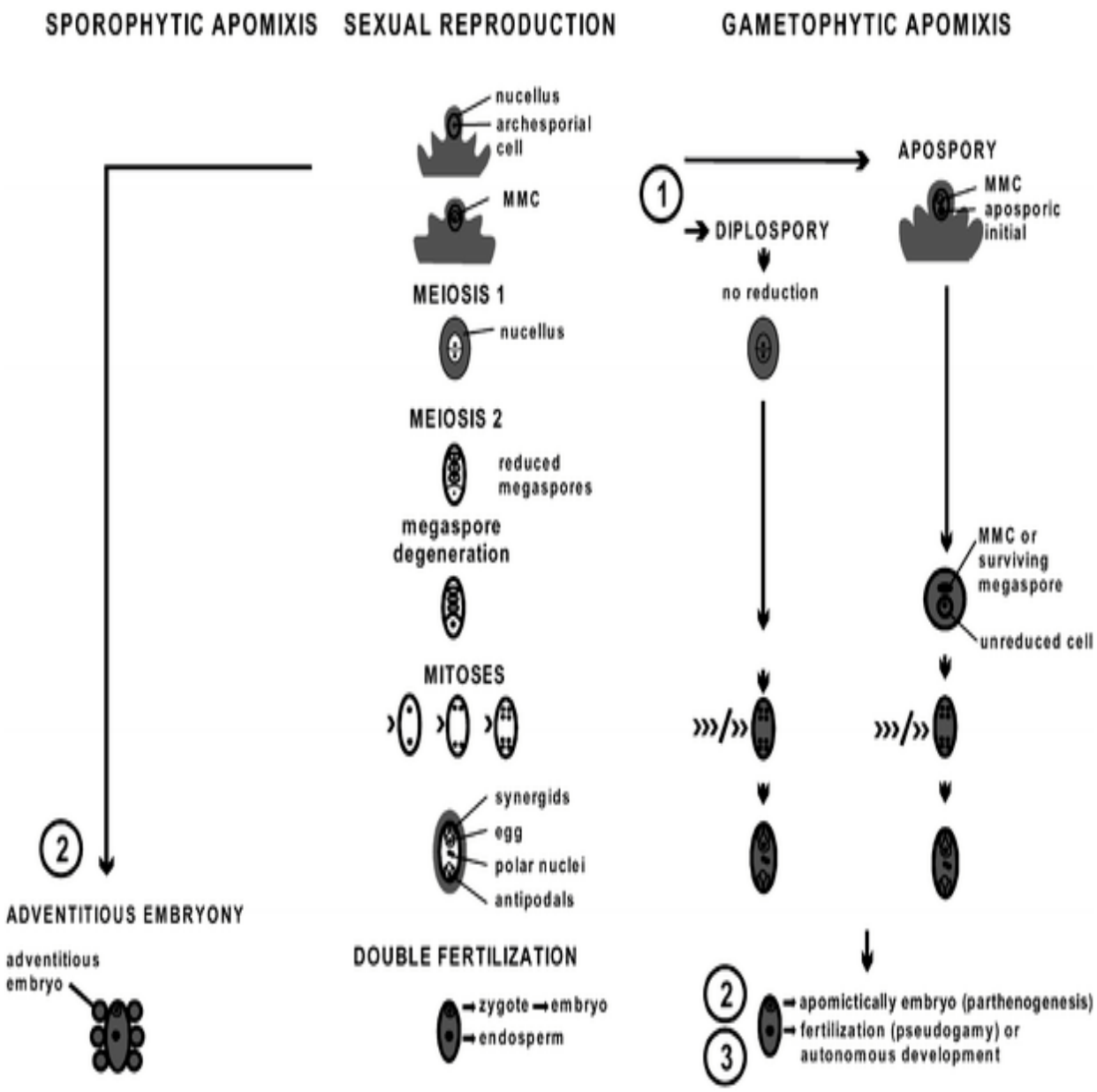
2. Gametophytic apomixis เป็นลักษณะที่เอ็มบริโอสามารถพัฒนาขึ้นได้จากเซลล์ไข่ที่ไม่มีการลดจำนวนโครโมโซม (unreduced embryo sac) ซึ่งมีได้หลายแบบ เช่น

- Diplospory เอ็มบริโอพัฒนามาจากเมกะสปอโรไซท์ (megesporocyte หรือ megaspore mother cell) ที่เกิดการพัฒนามาจากนิวเซลลัสเซลล์ที่ไม่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสหรือกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสผิดปกติ ทำให้มีจำนวนโครโมโซม 2 ชุดเท่าเดิม ตัวอย่างพืช เช่น พืชอาหารสัตว์สกุล *Tripsacum* พืชดอกสกุล *Erigeron* และ *Taraxacum* ในพืชสกุล *Antennaria* ถุงเอ็มบริโอเกิดจากเซลล์แม่เมกะสปอร์ (megaspore mother cell) ที่ไม่เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส ทำให้มีจำนวนโครโมโซมเท่าเดิม ขณะที่ในพืช *Taraxacum* และ *Ixeris* เกิดความผิดปกติในขั้นตอนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส I ทำให้เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสจึงได้เซลล์เมกะสปอร์ที่จะพัฒนาต่อไปเป็นถุงเอ็มบริโอเพียง 1 เซลล์เท่านั้น ส่วนในพืชสกุล *Allium* พบว่า เกิดความผิดปกติของขั้นตอนการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอที่ระยะ S phase ก่อนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส I ลักษณะอะโพมิกซีสชนิด diplospory นี้เอ็มบริโอพัฒนามาจากเซลล์ไข่ภายในถุงเอ็มบริโอโดยตรง โดยที่ไม่มีการปฏิสนธิกับเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้แต่อย่างใด

- Apospory เอ็มบริโอพัฒนาจากถุงเอ็มบริโอที่เจริญมาจากส่วนเนื้อเยื่อร่างกายภายในออวุลที่ไม่ใช่เซลล์แม่เมกะสปอร์ โดยไม่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส ตัวอย่างพืชในกลุ่มนี้ เช่น มันสำปะหลัง องุ่นพันธุ์สำหรับการทำไวน์ หญ้าอาหารสัตว์ Bahaigrass และ Buffelgrass ในพืชสกุล *Panicum* ถุงเอ็มบริโอที่สมบูรณ์พัฒนามาจากนิวเซลลัสที่เกิดการพัฒนา และแบ่งเซลล์แบบไมโทซีสเพียง 2 ครั้งทำให้ภายในถุงเอ็มบริโอประกอบด้วย 4 นิวเคลียสเท่านั้น ขณะที่พืชสกุล *Hieracium* เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโทซีส 3 ครั้ง ภายในถุงเอ็มบริโอจึงประกอบด้วย 8 นิวเคลียสตามปกติ

- Pseudogamy การพัฒนาของเอ็มบริโอต้องอาศัยการถ่ายละอองเกสร (pollination) โดยละอองเกสรจะเป็นตัวกระตุ้นให้เซลล์บริเวณรังไข่ที่มีโครโมโซม 2 ชุด มีการพัฒนาเกิดเป็นเอ็มบริโอ ตัวอย่างพืชในกลุ่มนี้ เช่น มันฝรั่ง สตรอเบอรี่ แบล็คเบอรี่ แพร์ แอปเปิล นอกจากนี้ในพืชอาหารสัตว์สกุล *Elymus*, *Poa* และ *Eragrostis* พบว่าการถ่ายละอองเกสรมีความสำคัญต่อการพัฒนาของเอนโดสเปิร์ม ในพืชกลุ่มนี้ polar nuclei (2n) จะรวมกับสเปิร์มเซลล์เพื่อพัฒนาเป็นเอนโดสเปิร์ม ทำให้พืชสกุลนี้ติดเมล็ดอย่างสมบูรณ์

รูปแบบความแตกต่างของอะโพมิซีสเป็นผลจากกลไกการพัฒนาที่สามารถเกิดขึ้นได้หลากหลายรูปแบบ ทำให้สามารถจำแนกพืชที่มีลักษณะอะโพมิกซีสออกเป็น subdivisions ได้ และในพืชแต่ละต้นก็สามารถเกิดลักษณะอะโพมิกซีส 2 ลักษณะร่วมกันได้ ตัวอย่างเช่น ใน *Paspalum minus* พบลักษณะ apospory และ diplospory ในพืชต้นเดียวกัน



ภาพที่ 1 เปรียบเทียบกระบวนการเกิดอะโพมิกซีส 3 รูปแบบ (diplospory, apospory และ adventitious embryony) กับกระบวนการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ

ที่มา : Spillane และคณะ (2001); Koltunow (1993)

พืชที่มีลักษณะอะโพมิกซีสมักจะมีลักษณะสำคัญต่อไปนี้

1. มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า 2 ชุด (polyploid) ลักษณะอะโพมิกซีสมักมีความสัมพันธ์กับการที่พืชมีโครโมโซมมากกว่า 2 ชุด (Richards, 1997) มีรายงานการศึกษาในพืชอะโพมิกซีสหลายกลุ่ม เช่น ในกลุ่มประชากรแบล็คเบอรี่ (*Rubus nessensis*) (Schaal and Rogstad, 1989) และในมันฝรั่ง (Yamada *et al*., 1998) เป็นพืชที่มีลักษณะอะโพมิกซีสชนิด pseudogamy มีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด ในพืชตระกูล Rosaceae สกุล *Cotoneaster* ซึ่งเป็นไม้ยืนต้นสูงประมาณ 15-20 เมตร พบปลูกในหลายพื้นที่ เช่น ในยุโรป แอฟริกาเหนือ และเอเชีย เช่น ในประเทศจีน ญี่ปุ่น เป็นต้น พืชสกุลนี้มีลักษณะอะโพมิกซีสแบบ pseudogamy และพบว่ามีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด (2n=4x=68) (Bartish *et al*., 2001) ในพืชสกุล *Paspalum* ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นพวกโพลีพลอยด์ ในจำนวนนี้ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์จะมีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด ตัวอย่างเช่น bahiagrass (2n=4x=40) ซึ่งเป็นพวก aposporous apomixis (Quarin *et al*., 2001) ที่เหลือมีจำนวนโครโมโซม 5 ชุด ในส้มซึ่งมีลักษณะอะโพมิกซีสแบบ adventitious apomixis พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด (2n=4x=36) เช่นกัน (Frost and Krug, 1942) Bernardo และ Ramize (1959) ศึกษาในลางสาดและรายงานว่าพืชชนิดนี้มีลักษณะอะโพมิกซีส และมีจำนวนโครโมโซมถึง 8 ชุด (2n=8x=144) สุวิมล (2544) ที่ทำการนับจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของลองกอง ลางสาด และดูกู พบว่า พืชในกลุ่มนี้มีโครโมโซมจำนวนมาก และมีขนาดเล็กจึงทำให้ยากที่จะระบุจำนวนชัดเจน แต่จากการประมาณจำนวนโครโมโซม พบว่า จำนวนโครโมโซมของพืชกลุ่มนี้น่าจะแตกต่างกัน โดยลางสาดมีจำนวนโครโมโซมมากที่สุด คือ อยู่ในช่วง 137-144 แท่ง ในขณะที่ลองกอง และดูกูมีจำนวนโครโมโซมใกล้เคียงกัน คือประมาณ 121-129 แท่ง ในพืชกลุ่ม *Hieracium* พบว่ามีจำนวนโครโมโซมตั้งแต่ 3 ชุด (2n=3x=27) ถึง 8 ชุด (2n=8x=72) (Koltunow *et al*., 2000)

2. โพลีเอ็มบริโอนี การที่เมล็ดหนึ่งเมล็ดสามารถให้ต้นกล้ามากกว่า 1 ต้นเมื่อนำไปเพาะ เราเรียกลักษณะดังกล่าวนี้ว่า โพลีเอ็มบริโอนี มีรายงานว่าลักษณะดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการเกิดอะโพมิกซีส จากการศึกษาของ Prakash และคณะ (1977) เมื่อมีการนำเมล็ดลางสาด และดูกูไปเพาะพบว่า 30 เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดดูกู และ 52 เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดลางสาดให้ต้นกล้ามากกว่า 1 ต้น ประพันธ์ (2534) พบลักษณะโพลีเอ็มบริโอนีในลองกอง ลางสาด และดูกูประมาณ 55.8, 12.6 และ 1.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในพืชตระกูลส้ม พบว่า ต้นกล้าหลายต้นที่พัฒนามาจากเมล็ดเดียวกันมีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกัน เนื่องจากบางต้นพัฒนามาจากเนื้อเยื่อนิวเซลลัส และบางต้นเกิดจากการผสมระหว่างไข่อ่อนและละอองเกสร (Chin and Roberts, 1980 อ้างโดย จรัสศรี และคณะ, 2543)

4. ประโยชน์ของอะโพมิกซีส

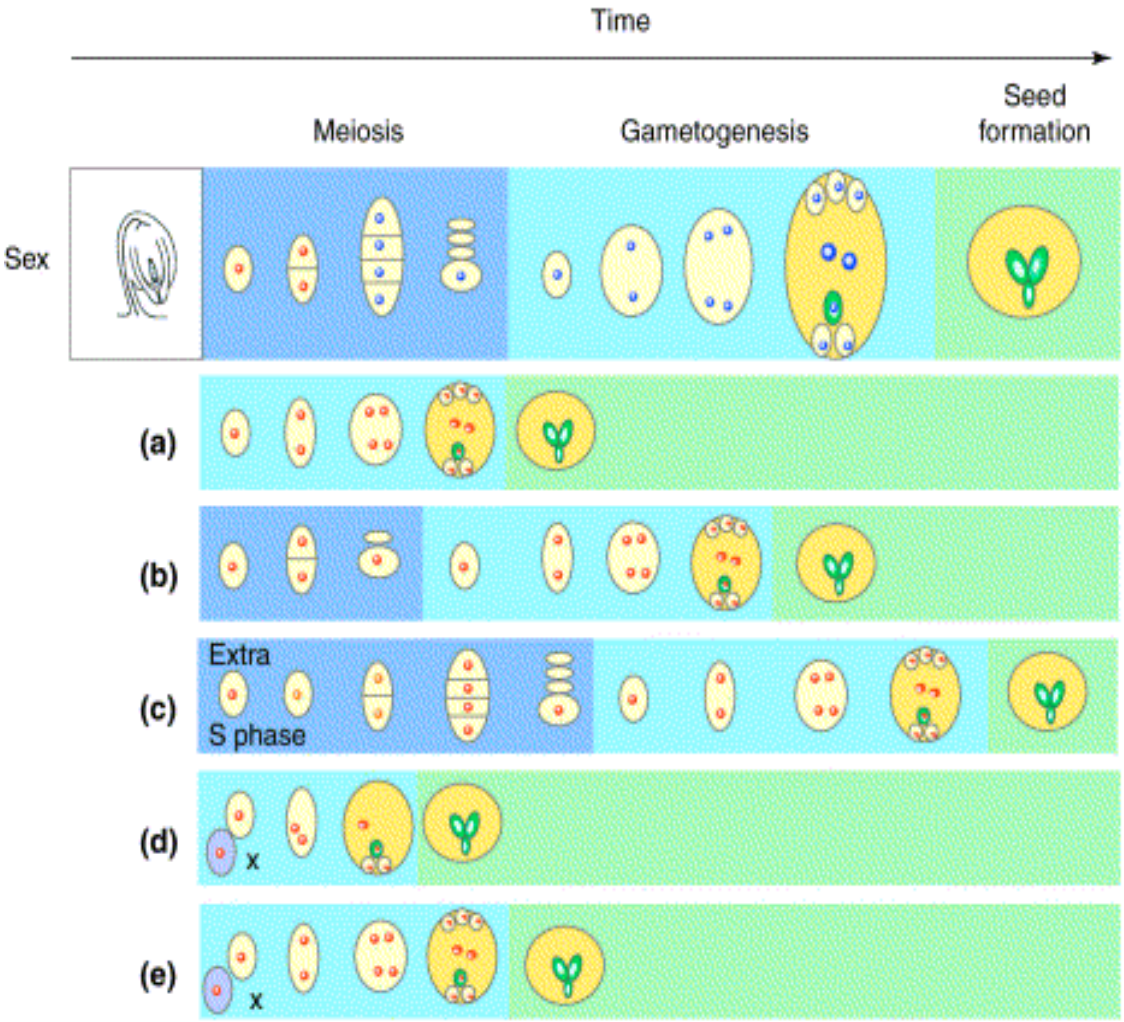
อะโพมิกซีสได้รับความสนใจจากนักปรับปรุงพันธุ์พืชและนักผลิตเมล็ดพันธุ์พืช เนื่องจากเป็นลักษณะที่เปิดโอกาสให้สามารถตรึงลักษณะ heterosis ที่ดีได้โดยใช้เมล็ด ซึ่ง Koltunow และคณะ (1995) รายงานว่า เมล็ดที่ได้จากการสืบพันธุ์แบบอะโพมิกซีสเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์เหมือนกับเมล็ดที่เกิดจากการผสมระหว่างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้กับเพศเมีย และยังมีองค์ประกอบทางพันธุกรรมที่เหมือนต้นแม่ นอกจากนี้ยังรักษาพันธุกรรมของจีโนไทป์พืชที่คัดเลือกไว้ให้คงที่โดยไม่มีการกลายพันธุ์ ซึ่งเป็นลักษณะที่มีคุณประโยชน์อย่างยิ่งต่อโปรแกรมการ ปรับปรุงพันธุ์พืช และการผลิตเมล็ดพันธุ์ โดยเฉพาะในพืชผสมข้าม (Savidan *et al*., 2001) เนื่องจากโดยปกติหากเป็นการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีมาตรฐาน ต้องอาศัยกลุ่มประชากรที่มีการกระจายตัว ทำการคัดเลือกจำนวน 5-7 รอบเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่ดี 2 สายพันธุ์มาผสมข้ามเพื่อผลิตเป็นพันธุ์ลูกผสม ซึ่งขั้นตอนของการคัดเลือกเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่ดีนั้นต้องใช้ระยะเวลาค่อนข้างนาน แต่ถ้าเป็นการปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมด้วยลักษณะอะโพมิกซีสจะสามารถผสมข้ามระหว่างกลุ่มประชากรที่มีการกระจายตัวกับพันธุ์พ่อที่มีลักษณะอะโพมิกซีส แล้วคัดเลือกเฉพาะลักษณะที่ดีเด่นและเป็นอะโพมิกซีสเพื่อผลิตเป็นพันธุ์ลูกผสมได้เลย นอกจากนี้ตัวเกษตรกรเองก็สามารถเก็บเมล็ดพันธุ์ลูกผสมที่ดีเพื่อการขยายพันธุ์ในชั่วต่อๆ ไป และจะได้ต้นที่ไม่มีการกลายพันธุ์

5. การศึกษาการพัฒนาของถุงเอ็มบริโอของพืชอะโพมิกซีส

อะโพมิกซีสเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติในพืชจำนวนมาก และต้องอาศัยระยะเวลาที่ยาวนานในการเกิดวิวัฒนาการจากบรรพบุรุษที่สืบพันธุ์แบบใช้เพศมาเป็นลักษณะอะโพมิกซีสซึ่งในพืชบางชนิดมีการขยายพันธุ์โดยอะโพมิกซีส แต่บางครั้งก็สามารถผลิตเมล็ดที่เกิดจากการผสมจริงระหว่างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียได้ เรียกว่า facultative apomixis ดังนั้นจะเห็นได้ว่ากลไกการควบคุมลักษณะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ และแบบอะโพมิกซีสมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมาก ถึงแม้ว่ากลไกการเกิดการสืบพันธุ์แบบอะโพมิกซีสจะมีความหลากหลายก็ตาม (Koltunow, 1993; Savidan *et al*., 2001) จากการศึกษาของ Koltunow และคณะ (2002) พบว่า มีพืชจำนวนมากที่การวิวัฒนาการเป็นผลมาจากการเกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ หรือเป็นผลของการกลายพันธุ์ทำให้เกิดกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียที่ผิดปกติ ซึ่งเป็นสาเหตุให้พืชหลายชนิดที่มีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศสามารถแทนที่ได้ด้วยกลไกแบบ อะโพมิกซีส ซึ่งกลไกของการเกิดอะโพมิกซีสที่เป็นผลมาจากความผิดปกติของขั้นตอนการสร้างเซลล์สืบ

พันธุ์เพศเมียสามารถเกิดขึ้นได้หลายรูปแบบ เช่น ส่วนที่เป็นถุงเอ็มบริโอสามารถเกิดการพัฒนาได้เองโดยอัตโนมัติจากเซลล์แม่เมกะสปอร์ที่ไม่เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส หรือเกิดความผิดปกติของกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสทำให้เกิดการพัฒนาเป็นเมกะสปอร์ที่ไม่มีการลดจำนวนโครโมโซม (ภาพที่ 2: a, b, c) หรือเซลล์เนื้อเยื่อบางส่วนภายในออวุลเป็นจุดเริ่มต้นของการพัฒนาเป็นเมกะสปอร์ และพัฒนาต่อไปเป็นถุงเอ็มบริโอ ซึ่งการพัฒนาของเอ็มบริโอเกิดได้เองโดยอัตโนมัติโดยไม่ต้องมีการปฏิสนธิ เอ็มบริโอที่ได้จะมีจำนวนโครโมโซมเท่าเดิมและมีพันธุกรรมที่เหมือนต้นแม่ (ภาพที่ 2: d, e)

เมื่อศึกษาในระดับเนื้อเยื่อเพื่อดูการพัฒนาของถุงเอ็มบริโอภายในออวุลของพืชอะโพมิกซีส พบว่า การพัฒนาของถุงเอ็มบริโอมีรูปแบบที่หลากหลาย Caceres และคณะ (2001) ศึกษาการพัฒนาของถุงเอ็มบริภายในออวุลของ *Paspalum simplex* ซึ่งเป็นพืชอาหารสัตว์เขตร้อนที่จัดเป็นอะโพมิกซีสชนิด apospory พบเนื้อเยื่อนิวเซลลัสมีการเจริญเติบโตต่อไปเป็นถุงเอ็มบริโอที่ไม่มีการลดจำนวนโครโมโซม ภายในถุงเอ็มบริโอประกอบด้วย 8 นิวเคลียส ขณะที่ภายในออวุลของ *P. simplex* พันธุ์ที่มีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศจะมีการพัฒนาของเซลล์เมกะสปอร์ โดยเมกะสปอร์ 4 เซลล์ จะมีเพียงเซลล์เดียวที่สามารถพัฒนาต่อไปได้ เรียกว่า functional megaspore ส่วนอีก 3 เซลล์จะสลายไปในที่สุด เซลล์ที่เป็น functional megaspore นี้จะมีการพัฒนาต่อไปเป็นถุงเอ็มบริโอที่มี 8 นิวเคลียสเช่นเดียวกัน Quarin และคณะ (2001) พบว่า การพัฒนาของถุงเอ็มบริโอที่เป็น aposporous embryo sacs เกิดขึ้นจากนิวเซลลัสเซลล์เพียง 1 เซลล์ หรือมากกว่า 1 เซลล์ภายในออวุล นิวเซลลัสเซลล์เหล่านี้เป็นเซลล์เริ่มต้นของการพัฒนาต่อไปเป็นถุงเอ็มบริโอที่ประกอบด้วย 6 นิวเคลียส หรืออาจจะพบเฉพาะเซลล์ไข่ 1 เซลล์ และ polar nuclei 2 เซลล์ เท่านั้น นอกจากนี้การศึกษาใน Kentucky bluegrass พบเซลล์ aposporous initial ที่พัฒนามาจากเซลล์ร่างกายบริเวณที่อยู่ตรงกลางของเนื้อเยื่อนิวเซลลัสสามารถจะแยกความแตกต่างจากนิวเซลลัสเซลล์อื่นๆ ได้ง่าย เนื่องจากภายในเซลล์ aposporous initial ประกอบด้วยนิวเคลียส และแวคิวโอลขนาดใหญ่ ทำให้เซลล์ชนิดนี้มีขนาดใหญ่กว่านิวเซลลัสเซลล์อื่นๆ ลักษณะที่น่าสนใจในพืชชนิดนี้ คือในพันธุ์ที่มีลักษณะอะโพมิกซีสแบบ apospory พบเซลล์เมกะสปอร์ที่ผ่านการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสเริ่มมีการสลายตัวไป ในขณะที่นิวเซลลัสเซลล์ที่จะพัฒนาต่อไปเป็นเซลล์ aposporous initial เริ่มขยายตัว และพร้อมที่จะเกิดการแบ่งเซลล์พัฒนาต่อไปเป็น aposporous embryo sac ที่สมบูรณ์ ภายในประกอบด้วย เซลล์ไข่ 1 เซลล์ และ antipodal ภายในหนึ่งออวุลของแต่ละจีโนไทป์อาจ จะพบเพียง 1 หรือ มากกว่า 1 aposporous embryo sac ก็ได้ (Albertini *et al*., 2001) Nassar และคณะ (1998b) พบว่าในมันสำปะหลังซึ่งจัดเป็นพวก facultative aposporous apomixis มีการพัฒนาของถุง



ภาพที่ 2 กลไกของการพัฒนาลักษณะอะโพมิกซีส (สีแดง = unreduced nuclei สีน้ำเงิน = reduced nuclei)

ที่มา Grimanelli และคณะ (2001)

เอ็มบริโอทั้งแบบ aposporous embryo sac และ sexual embryo sac เกิดร่วมกันภายในออวุลเดียว ตำแหน่งการเกิดภายในออวุลเป็นลักษณะที่สามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างถุงเอ็มบริโอทั้ง 2 ชนิดได้ โดย sexual embryo sac จะอยู่ตรงข้ามกับบริเวณไมโครไพล ภายใน aposporous embryo sac ที่พัฒนามาจากเนื้อเยื่อนิวเซลลัส ประกอบด้วย polar nuclei 1 เซลล์ และเซลล์ไข่ 1 เซลล์ ไม่พบ synergid และ antipodal ส่วน sexual embryo sac พัฒนามาจากเซลล์แม่เมกะสปอร์ประกอบด้วย 8 นิวเคลียสตามปกติ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการรายงานของ Young และคณะ (1979)ใน *Cenchrus ciliaris* Prakash และคณะ (1977) พบว่า ภายในออวุลของดูกู และลางสาดมีเซลล์ไข่

polar nuclei และ synergid โดยเซลล์ไข่เจริญไปเป็นเมล็ดซึ่งไม่มีการผสมเกสร ส่วนในลองกอง ภูวดล (2531) พบว่า ภายในออวุลมีกลุ่มเนื้อนิวเซลลัส เป็นเซลล์ผนังบางเรียงตัวกันแน่น เซลล์บริเวณตรงกลางของนิวเซลลัสมีขนาดใหญ่ แต่ไม่มีการเจริญไปเป็นเซลล์แม่เมกะสปอร์

6. การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาลักษณะอะโพมิกซีส

ปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลมาประยุกต์ใช้ในด้านการเกษตรมากมาย เช่น เพื่อการจำแนกหรือตรวจสอบพันธุ์พืช รวมถึงการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มพืช โดยอาศัยหลักการของความจำเพาะเจาะจงของดีเอ็นเอ เครื่องหมายโมเลกุลจึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาเอกลักษณ์ที่เฉพาะกับพืชแต่ละพันธุ์ ระยะแรกมีการใช้ไอโซไซม์ซึ่งเป็นการตรวจสอบระดับโปรตีนแต่ส่วนของยีนที่แสดงออกยังมีข้อจำกัดอยู่มาก เช่น มีอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม ระยะการเจริญเติบโตของพืช ทำให้แยกความแตกต่างได้น้อย (Claros *et al*., 2000; Degani *et al*., 2001) ต่อมามีการพัฒนาเทคนิค RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) แต่เทคนิคนี้มีข้อเสีย คือ ต้องใช้ดีเอ็นเอต้นแบบจำนวนมาก และต้องมีคุณภาพดี ถ้าติดฉลากโพรบด้วยสารกัมมันตรังสีอาจมีอันตรายจึงต้องทำด้วยความระมัดระวัง นอกจากนี้มีค่าใช้จ่ายสูง เสียเวลามากเนื่องจากประกอบด้วยหลายขั้นตอนจึงค่อนข้างยุ่งยากทางกรรมวิธี (Kaundun *et al*., 2000) มีการพัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR : Polymerase Chain Reaction) ซึ่งง่ายและรวดเร็ว สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้ปริมาณมากเป็นหลายล้านเท่าในระยะเวลาอันสั้น โดยอาศัยการทำงานของเอ็นไซม์DNA polymerase ในหลอดทดลอง หลักการทำพีซีอาร์ คือ ขั้นแรกต้องทราบลำดับเบสของยีนหรือดีเอ็นเอเป้าหมายก่อน หรือทราบเฉพาะลำดับเบสของส่วนปลาย 3′ ของแต่ละเส้นก็ได้ เพื่อการสังเคราะห์สายโอลิโกนิวคลีโอไทด์สายสั้นๆ 2 ชนิดที่เรียกว่า ไพรเมอร์ (primer) ขนาดประมาณ 20-30 เบส (สกล, 2536) แต่ละชนิดมีเบสเป็นคู่สมกับส่วนปลาย 3′ ของสายดีเอ็นเอที่ต้องการ การค้นพบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์นำไปสู่การเกิดเทคนิคใหม่โดยอาศัยการเพิ่มปริมาณโดยใช้พีซีอาร์ เช่น เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA) เอเอฟแอลพี (AFLP : Amplification Fragment Length Polymorphism) และไมโคร แซทเทลไลท์ (Microsatellite) เป็นต้น

เครื่องหมายอาร์เอพีดี เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่มีการนำมาประยุกต์ใช้ในด้านการเกษตรมากมายไม่ว่าจะเป็นการปรับปรุงพันธุ์ การศึกษาวิวัฒนาการ การแยกเพศ รวมทั้งการหาความหลากหลายทางพันธุกรรม ทั้งนี้เนื่องจากเทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย ประหยัดเวลา และมีค่าใช้จ่ายต่ำเมื่อเทียบกับเทคนิคอื่น (Williams *et al*., 1990) อาร์เอพีดีเป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการเพิ่มขยาย

ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอโดยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแต่ไม่จำเป็นต้องทราบลำดับเบสของ ดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษา ใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้นประมาณ 10 เบส เพียงชนิดเดียวในแต่ละปฏิกิริยา แล้วนำมาแยกขนาดของดีเอ็นเอที่ได้โดยการทำอิเล็กโทรโฟรีซีสบนอะกาโรสเจล ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ แม้ว่าเทคนิคอาร์เอพีดีทำได้ง่าย รวดเร็ว ให้ข้อมูลมาก ใช้ปริมาณดีเอ็นเอน้อยประมาณ 25-100 นาโนกรัมต่อปฏิกิริยา (Winter and Kahl, 1995) แต่มีข้อเสียในเรื่องการทดลองซ้ำทำให้ได้ผลที่ต่างจากเดิม เนื่องจากอาร์เอพีดีมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะต่างๆ สูงจึงต้องควบคุมสภาพการทดลองให้คงที่ และอาร์เอพีดียังแสดงการข่มต่อการไม่เกิดแถบ ดีเอ็นเอ ทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างลักษณะพันธุ์แท้ยีนเด่น และพันธุ์ทางได้ (Cipriani *et al.*, 1996)

การนำเครื่องหมายอาร์เอพีดีมาใช้ในการศึกษาลักษณะอะโพมิกซีสประสบความสำเร็จในพืชหลายชนิด โดยเครื่องหมายอาร์เอพีดีสามารถใช้ตรวจสอบลักษณะอะโพมิกซีสที่เกิดขึ้นในชั่วรุ่นลูกเปรียบเทียบกับลักษณะที่มีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศตามปกติ (Ur-Rahman *et al*., 1997; Werlemark *et al*., 1999) และเครื่องหมายอาร์เอพีดียังสามารถใช้ประเมินลักษณะอะโพมิกซีสที่จะเกิดขึ้นในลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามทั้งแบบ intraspecific และ interspecific (Schneller *et al*., 1998) Nassar และคณะ (1998b) นำเครื่องหมายอาร์เอพีดีมาใช้ในการตรวจสอบหาลักษณะอะโพมิกซีสจากต้นกล้าของลูกผสมข้ามแบบ interspecific ระหว่างมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* X *M. glaziovii*) Clone 200 และ Clone 031 ที่ได้จากการคัดเลือกลักษณะที่ดีเด่นจากประชากร F_2 ของลูกผสมระหว่าง *M. dichotoma* กับ *M. esculenta* โดยใช้ไพรเมอร์ 24 ชนิดเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มของต้นแม่ พบว่ามีไพรเมอร์ 16 ชนิดที่ใช้ได้ผลดี สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนระหว่าง 5–14 แถบ จึงเลือกใช้ไพรเมอร์ทั้ง 16 ชนิด เพื่อตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นกล้าจาก Clone 200 และ 031 พบว่า มีต้นกล้าที่ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกับต้นแม่ (เป็นต้นกล้าที่มีลักษณะอะโพมิกซีส) ของทั้ง 2 Clone 2.70 และ 3.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า ลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามแบบ interspecific ของ มันสำปะหลัง เป็นพวก facultative apomixis โดยพบต้นที่เป็นอะโพมิกซีสค่อนข้างน้อยมาก Pessino และคณะ (1997) นำเครื่องหมายอาร์เอพีดีเพื่อจำแนกลักษณะอะโพมิกซีสในกลุ่มประชากร F_1 ของ *Brachiaria* ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่าง *B. ruziziensis* R44 (พันธุ์ปกติ) กับ *B. brizantha* cv. Manrandu (พันธุ์ aposporous apomixis) โดยทำการคัดเลือกไพรเมอร์จำนวน 184 ชนิด พบว่า มีไพรเมอร์ 2 ชนิด คือ OPC4 และ OPC15 สามารถใช้ตรวจสอบลักษณะอะโพมิกซีสในต้นกล้าของลูกผสมแต่ละต้นได้อย่างชัดเจน โดยไพรเมอร์ OPC4 ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความใกล้ชิดกับลักษณะ อะโพมิกซีสสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ Werlemark (2000) คัดเลือกไพร

เมอร์เพื่อใช้ตรวจสอบลักษณะอะโพมิกซีสของลูกผสมระหว่าง *Rosa dumalis* กับ *R. rubiginosa* จำนวน 9 ต้น พบว่า ไพรเมอร์จำนวน 21 ชนิด ให้แถบดีเอ็นเอเหมือนกับต้นแม่ได้อย่างชัดเจน นอกจากนี้มีตัวอย่างงานทดลองนำเครื่องหมายอาร์เอพีดีมาตรวจสอบลักษณะอะโพมิกซีสและลักษณะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศในลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามแบบ intraspecific ของ *Hypericum perforatum* ระหว่าง 4 กลุ่ม คือ กลุ่ม AxB, BxA, CxD และ DxC โดยทำการคัดเลือกไพรเมอร์ทั้งหมด 260 ชนิด ในจำนวนนี้มีไพรเมอร์ 68 ชนิดที่สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 127 แถบ ระหว่างสายพันธุ์พ่อ-แม่ เมื่อตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นกล้าในรุ่นลูก พบว่า ลูกผสมที่ได้จากการผสมระหว่างพันธุ์ AxB, BxA และ DxC จำนวน 22, 9 และ 10 ต้น ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกับต้นแม่ แสดงว่าลูกผสมที่ได้มีลักษณะอะโพมิกซีสทั้งหมด ส่วนลูกผสมระหว่าง CxD พบว่ามีจำนวน 6 ต้นจากทั้งหมด 45 ต้น มีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ จากการศึกษานี้เป็นการยืนยันว่าเครื่องหมายอาร์เอพีดีสามารถใช้ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างลักษณะอะโพมิกซีสกับลักษณะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศตามปกติของลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามแบบ intraspecific ของ *H. perforatum* ได้ (Steck *et* al., 2001) Shi และคณะ (1996) ใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีและไอโซไซม์ตรวจสอบภายในกลุ่มประชากรที่เป็น agamospecies (apomictic group) ของ *Hieracium* sect *Alpine* (Asteraceae) 4 กลุ่มประชากรเพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชในกลุ่มนี้กับความแปรปรวนของพันธุ์ในระดับโมเลกุล พบว่า *H. holosericeum* ที่เก็บตัวอย่าง จากสถานที่ต่างๆ คือ บนภูเขาของประเทศสก็อตแลนด์ อังกฤษ และเวลส์ ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหมือนกันและตรวจสอบจำนวนโครโมโซมพบว่ากลุ่มประชากรของสปีชีส์นี้มีจำนวนโครโมโซม 3 ชุด (2n=3x=27) เหมือนกันทั้ง 3 แหล่ง เมื่อตรวจสอบความแปรปรวนภายในกลุ่มประชากรจากแต่ละแหล่งในระดับโมเลกุล ไม่พบความแตกต่างไม่ว่าจะใช้เทคนิคอาร์เอพีดี หรือไอโซไซม์ก็ตาม แสดงว่าไม่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืชสปีชีส์นี้ แต่ในกลุ่มประชากร *H. tenuifrons* จากแหล่งต่างกัน คือ จากภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคกลางของเกาะอังกฤษ พบว่า ในแต่ละแหล่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันโดย *H. tenuifrons* จากภาคตะวันออก และตะวันตกมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เหมือนกันและมีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด (2n=4x=36) แต่พบความแตกต่างของลักษณะดังกล่าวในประชากรจากภาคกลาง รวมทั้งจำนวนโครโมโซมแตกต่างกันด้วย (2n=3x=27) เมื่อตรวจสอบความแปรปรวนภายในกลุ่มประชากรในระดับโมเลกุล พบว่า มี 7 ไพรเมอร์ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกลุ่มประชากรจากแต่ละแหล่งที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน เช่นเดียวกับใน *H. calenduliflorum* (2n=4x=36) และ *H. alpinum* (2n=3x=27) ที่ได้จากประเทศ สก็อตแลนด์ สวิตเซอร์แลนด์ และหมู่เกาะไอร์แลนด์ เมื่อใช้เทคนิคอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ 9 ชนิด และไอโซไซม์ aspartate aminotransferase และ

phosphoglucomutase แยกความแตกต่างระหว่างสปีชีส์จากแต่ละพื้นที่ได้อย่างชัดเจน นอกจากนี้ Bartish และคณะ (2001) ตรวจสอบ อะโพมิกซีสด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีในต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดจากต้นแม่เดียวกันของ *Cotoneaster scandinavicus* B. Hylmö (รหัส 1237) *C. canescens* Vestergo. ex B. Hylmö (รหัส 9499) และ *C. canescens* (รหัส 9934) จำนวน 3, 4 และ 3 ต้น ตามลำดับ โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 20 ชนิด พบว่า มีไพรเมอร์ 12 ชนิดที่ใช้ได้ผลดี ให้แถบดีเอ็นเอของต้นกล้า *Cotoneaster* รหัส 9934 เหมือนกับต้นแม่อย่างชัดเจน ในขณะที่ต้นกล้ารหัส 9499 จำนวน 2 ต้นให้แถบดีเอ็นเอแตกต่างจากต้นแม่ 2 ตำแหน่ง และพบแถบดีเอ็นเอแตกต่างจากต้นแม่ 1 ตำแหน่งในต้นกล้ารหัส 1237 แสดงให้เห็นว่าต้นกล้าทั้ง 3 ต้นของ *C. canescens* เป็นต้นกล้าอะโพมิกซีส ขณะที่ต้นกล้ารหัส 9499 และรหัส 1237 มีจำนวน 2 ต้นเท่านั้นที่เป็นอะโพมิกซีส สำหรับในพืชสกุลลางสาด สุวิมล (2544) ได้ทดสอบหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการแยกความแตกต่างระหว่างลองกอง ลางสาด และดูกูโดยใช้ไพรเมอร์ 100 ชนิด พบว่า มีไพรเมอร์เพียง 10 ชนิดเท่านั้นที่ให้แถบดีเอ็นเอซึ่งสามารถใช้ในการแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มของลองกอง ลางสาด และดูกูได้อย่างชัดเจน คือ OPA-10, OPB-04, OPB-07, OPC-04, OPC-05, OPC-08, OPD-01, OPD-03, OPT-01 และ OPT-08 ซึ่งจรัสศรี และคณะ (2543) ได้ใช้ไพรเมอร์จำนวน 5 ชนิด คือ OPB-07, OPC-05, OPC-08, OPD-01 และ OPD-03 เพื่อศึกษาความแปรปรวนของทางพันธุกรรมของต้นกล้าลองกอง และดูกูที่ได้จากการเพาะเมล็ดโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี พบว่าจากจำนวนต้นกล้าลองกอง 149 ต้น รวมทั้งต้นแม่ 9 ต้นที่ทำการทดสอบเกือบทั้งหมดให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกันกับต้นแม่ ในขณะที่ต้นกล้าดูกูให้แถบ ดีเอ็นเอต่างจากต้นแม่ประมาณ 49 เปอร์เซ็นต์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเกิดอะโพมิกซีสของพืชสกุลลางสาดทั้งลองกอง ลางสาด และดูกู โดยใช้วิธีการทางเนื้อเยื่อวิทยา

2. เพื่อตรวจสอบลักษณะอะโพมิกซีสของพืชสกุลลางสาดทั้งลองกอง ลางสาด และดูกู โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี