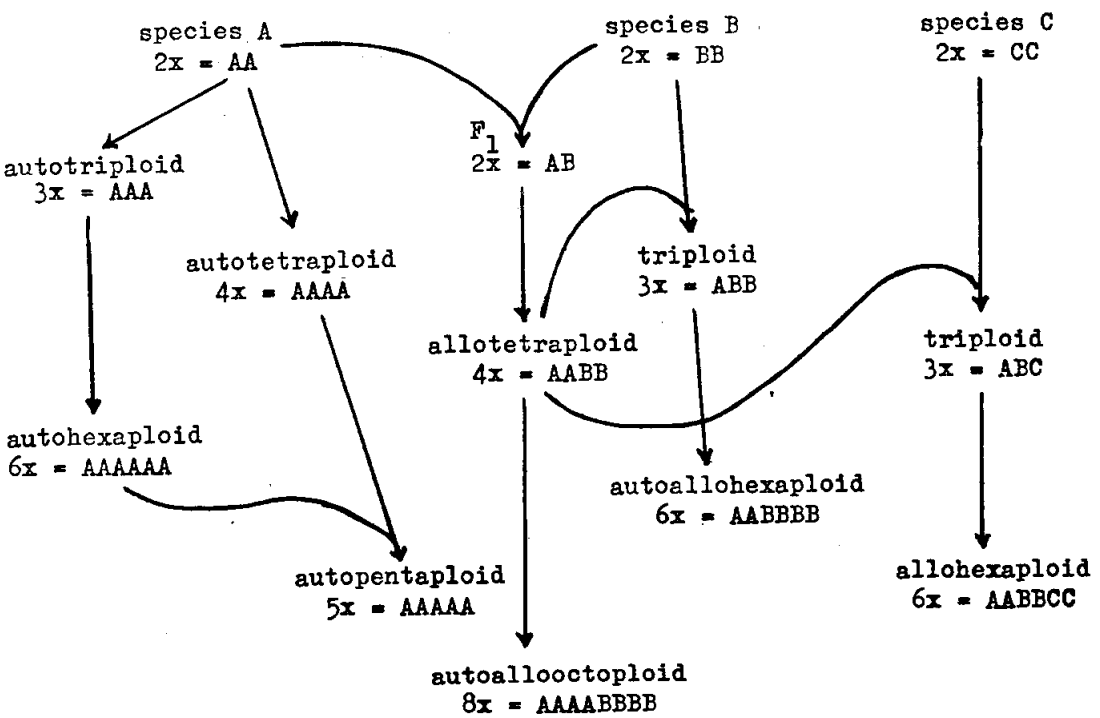
Polyploidy

Polyploid หมายถึงสิ่งมีชีวิตที่มีโครโมโซมอยู่มากกว่าสองชุดขึ้นไป การที่มันมีโครโมโซมเพิ่มขึ้นมานี้ อาจจะเป็นการเพิ่มขึ้นของโครโมโซม genome เดียวกับที่มันมีอยู่เดิม หรืออาจเป็นต่าง genomes ก็ได้ จึงสามารถจะแบ่ง polyploid ออกไปได้อีกเป็นสองพวกด้วยกัน คือ พวกที่เกิดจากการเพิ่มของโครโมโซมชุดเดียวกัน เรียกว่า autopolyploid เช่น ถ้าใน diploid มี genome เป็น AA พวก AAA เรียกว่า autotriploid พวก AAAA เรียกว่า autotetraploid ส่วนอีกพวกหนึ่งที่เกิดจากการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมจากต่าง genomes กัน เรียกว่า allopolyploid เช่น พวก AABB เรียกว่า allotetraploid พวก AABBCC เรียกว่า allohexaploid แต่ถ้าเป็น polyploid ที่เกิดจากการเพิ่มของโครโมโซมจากทั้งของชุดเดิมและต่างชุดกัน ก็จะมีชื่อเรียกรวม ๆ กันเป็น autoallopolyploid รูปที่ 16–23 แสดงถึงกำเนิดและความสัมพันธ์ระหว่าง polyploids ชนิดต่าง ๆ



รูปที่ 16–23 แสดงถึงกำเนิดและความสัมพันธ์ระหว่าง polyploids ชนิดต่าง ๆ

Polyploid species อาจเป็นผลดีในแง่การวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต เมื่อคิดถึงว่าลูกหลานที่มีกำเนิดจาก polyploids นั้น จะมียีนส์จำนวนมากขึ้น และเปิดโอกาสให้ยีนส์บางส่วนซึ่งทำหน้าที่ซ้ำกันอยู่ ได้เปลี่ยนไปทำหน้าที่อื่นแทน เช่น ยีนส์ที่ทำหน้าที่ code โปรตีนชนิดหนึ่ง เมื่อไปอยู่ใน polyploid ทำให้มียีนส์ที่ทำหน้าที่เดียวกันมากขึ้น ภายหลังมันอาจวิวัฒนาการไปโดยเหลือยีนส์ไว้เพียงคู่เดียวคอยทำหน้าที่สร้างโปรตีนตัวเดิม ส่วนยีนส์ที่เหลือจะเปลี่ยนไปทำหน้าที่อื่นที่ใกล้เคียงกันหรือไม่ก็ mutate ไปเป็นยีนส์ที่ทำหน้าที่ใหม่เลย

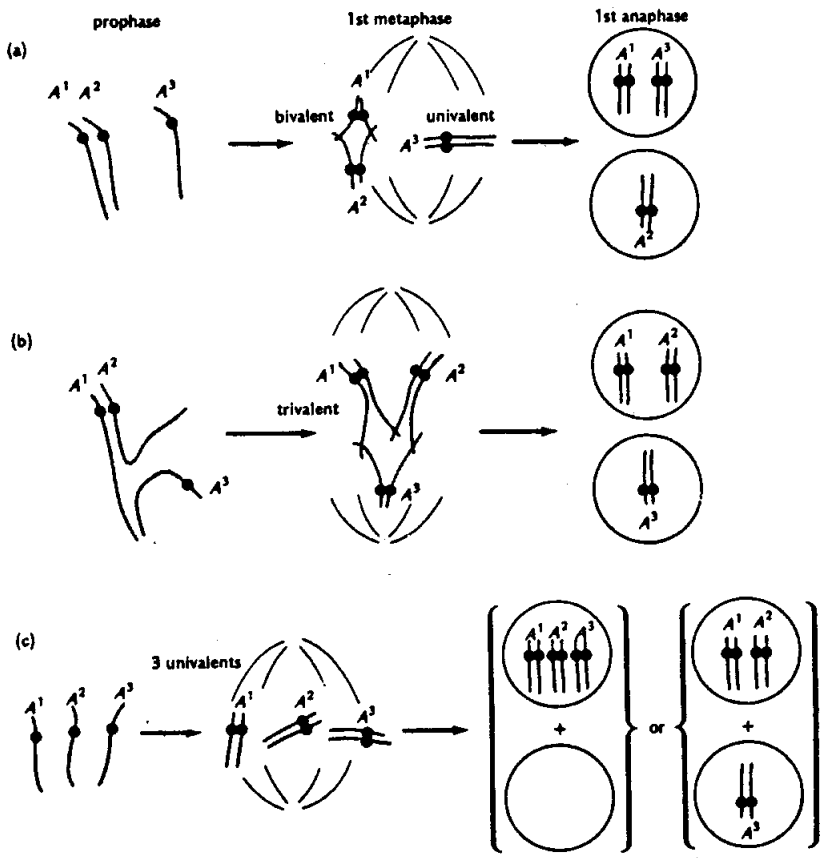
Autopolyploidy

การเกิดขึ้นของ autopolyploidy ในสิ่งมีชีวิตที่สืบพันธุ์โดยใช้เพศนั้น อาจมีสาเหตุหลายอย่างด้วยกัน เช่น เกิดจากการปฏิสนธิระหว่างไข่หนึ่งฟองกับสเปอร์มมากกว่าหนึ่งตัว ทำให้ได้ zygote nucleus ที่มีโครโมโซมมากกว่าหนึ่งชุด หรืออาจจะเกิดจากความผิดพลาดของการแบ่งตัวแบบ mitosis ในเซลของอวัยวะสืบพันธุ์ ทำให้เซลเหล่านั้นมีโครโมโซมเพิ่มขึ้น เมื่อสร้าง gametes จึงได้ gametes ที่มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นด้วย หรืออาจเกิดจากความผิดพลาดของการแบ่งตัวแบบ meiosis โดยตรง ทำให้มีการสร้าง diploid gamete ขึ้นมาแทนที่ จะเป็น haploid gamete เมื่อไปรวมเข้ากับ haploid หรือ diploid gamete ก็จะทำให้ได้ autotriploid หรือ autotetraploid ขึ้นมา ส่วนในสิ่งมีชีวิตที่สามารถจะสืบพันธุ์ได้โดยไม่ใช้เพศนั้น ถ้าหากมีการแบ่งตัวแบบ mitosis ผิดปกติขึ้นมา เช่น spindle fibers ไม่ทำงาน ก็อาจยังผลให้มีการสร้าง nucleus ที่มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นมาเป็นสองเท่า เช่น การเกิดขึ้นของ polyploid tissue หรือมีหน่อใหม่เป็น polyploid ในพืชเป็นต้น เมื่อส่วนเหล่านี้เจริญเติบโตต่อไป และสร้าง gametes ได้ ก็อาจมีการสร้าง diploid gametes เช่นเดียวกัน หรืออาจขยายพันธุ์ต่อไปทาง vegetative

พวก autotriploid ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เป็นผลจากการปฏิสนธิระหว่าง haploid gamete (n) กับ diploid gamete (2n) ที่เกิดจากความผิดปกติของ meiosis ในสิ่งมีชีวิต species เดียวกัน ส่วน autotriploid ที่เกิดจากการสร้างของมนุษย์นั้น จะได้จากการผสมระหว่าง autotetraploid กับ diploid

ปกติพวก autotriploid จะหายาก เพราะถึงแม้ว่ามันอาจอยู่รอดและเจริญเติบโตจนสามารถสร้าง gametes ได้แต่ก็มีความเป็นหมันสูง ซึ่งเป็นผลจากการจับคู่และกระจายตัวของโครโมโซมใน meiosis การที่มันมีโครโมโซมของคู่ต่าง ๆ มาปรากฏอยู่ร่ำ

กันถึงสามอัน จึงอาจทำให้มันจับคู่กันเป็นแบบ trivalent หรือ bivalent กับ univalent หรือ univalents หมดก็ได้ เมื่อมีการแยกตัวของโครโมโซมมันจึงแยกกันไปโดยสุ่ม จึงทำให้มีการสร้าง aneuploid gametes ขึ้นมาเป็นส่วนใหญ่ การที่มันจะทำหน้าที่ได้หรือไม่ก็ขึ้นอยู่กับว่ามันมีโครโมโซมอยู่ครบชุดหรือไม่ เช่น n หรือ 2n หรือสามารถจะทนต่อการขาดหรือเกินมาของโครโมโซมบางอันได้มากน้อยแค่ไหน เช่น gametes ที่เป็น n+1, n+1+1, 2n-1, 2n-1- 1 เป็นต้น ในรูปที่ 16-24 แสดงถึง gametes ที่ถูกสร้างขึ้นจากการจับคู่ของโครโมโซมสามแบบด้วยกันใน autotriploid ที่มาจาก diploid ปกติที่มีโครโมโซมเพียงคู่เดียว ซึ่งถ้าหากนำเอาโครโมโซมหลาย ๆ คู่มาเกี่ยวข้องจะได้ gametes มากชนิดกว่านี้ อย่าง เช่น Darlington และ Mather พบว่า triploid strain หนึ่งของ hyacinths มีโครโมโซมเป็น 3x = 8+8+8 = 24 สร้าง gametes แบบต่าง ๆ ที่มีโครโมโซมอยู่ตั้งแต่ 8-16 อัน



รูปที่ 16-24 การจับคู่ของโครโมโซมสามแบบที่เกิดขึ้นใน meiosis ของ autotriploid และ gametes ที่จะเกิดขึ้นจากการจับคู่แต่ละแบบ

ความเป็นหมันแบบที่พบใน triploid นั้น ยังสามารถจะเกิดขึ้นได้เช่นเดียวกันในสิ่งมีชีวิตที่มีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ และมีจำนวนชุดของโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นเลขคี่ เช่นใน pentaploids (5x) septaploids (7x) เป็นต้น ส่วนทางด้านสิ่งมีชีวิตที่มีจำนวนชุดของโครโมโซมเป็นเลขคู่นั้น มีโอกาสดีกว่าในการที่โครโมโซมจะแยกกันไปสู่ขั้วของเซลได้ข้างละเท่า ๆ กัน เมื่อไม่มีการเรียงตัวแบบ univalents และ trivalents เกิดขึ้น จากการศึกษา autotetraploid ของ Datura พบว่า meiosis ของมัน โครโมโซมจะแยกไปสู่ขั้วของเซลอย่างเท่า ๆ กันเป็นส่วนมาก นอกจากนั้นยังพบว่าในพวก tulip และ lotus ซึ่งมีบาง species เป็น autotetraploid มีการสร้าง gametes ขึ้นได้อย่างปกติ เนื่องจากโครโมโซมที่มีอยู่ซ้ำกันสี่อันนั้น มันจับคู่กันเป็นสอง bivalents อย่างไรก็ตาม อาจกล่าวได้ว่า พวก autopolyploids นั้นจะสร้าง sterile gametes ขึ้นมาเป็นบางส่วนเสมอ และส่วนมากจะขยายพันธุ์โดยไม่ใช้เพศเกี่ยวข้องได้อีกด้วย เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงปัญหาความเป็นหมัน

ถึงแม้พวก autopolyploids จะมีปัญหาความเป็นหมันดังที่กล่าวมาแล้วก็ตาม แต่ก็พบว่ามีพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของโลกหลายชนิดด้วยกันที่มีกำเนิดจาก autopolyploidy เช่น พวกกล้วยเป็น autotriploid ซึ่งความเป็นหมันของมันกลับกลายเป็นสิ่งที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ เพราะว่ามันสร้างเมล็ดไม่ได้ หรือในแตงโมพันธุ์ที่ใช้ปลูกกันเป็นการค้า ซึ่งมนุษย์สร้างขึ้นก็เป็น triploid เช่นเดียวกัน ส่วนในพืชที่พบว่าเป็นพวก autotetraploid ที่สำคัญได้แก่ มันฝรั่ง ถั่วลิสง กาแฟ สัปปะรด สตรอว์เบอรี่ alfalfa และไม้ดอกไม้ประดับอีกเป็นจำนวนมาก

Allopolyploidy

Allopolyploid เป็นผลจากการผสมข้ามระหว่าง species ซึ่งมีโครโมโซมในชุดที่แตกต่างกัน ถ้าให้ชุดของโครโมโซมในพืชทั้งสอง species เป็น AA และ BB ใน interspecific hybrid จะมีชุดโครโมโซมเป็น AB และเป็นหมัน เนื่องจากความแตกต่างกันระหว่างโครโมโซมชุด A และ B ทำให้มันไม่มีการจับคู่กัน เมื่อมีการแบ่งตัวแบบ meiosis จึงได้ gametes ที่มีโครโมโซมไม่ครบชุด อาจไม่ทำหน้าที่ หรือถ้าหากทำหน้าที่ได้ ก็อาจให้ zygote ที่อยู่รอดไม่ได้ แต่ในบางครั้งอาจมีการสร้าง gametes ที่มีโครโมโซมครบชุดเกิดขึ้น หรือไม่ก็มี chromosome doubling เกิดขึ้น ทำให้ได้ allotetraploid ขึ้นมา เช่น

จาก AB ⟶ AABB ดังนั้น ใน meiosis ของมันจึงมีการจับคู่ของโครโมโซมชุดเดียวกันได้ มีการสร้าง gametes ที่ทำหน้าที่ได้ตามปกติคล้ายกับพวก diploid ดังนั้นพวก allotetraploid จึงมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า amphidiploid

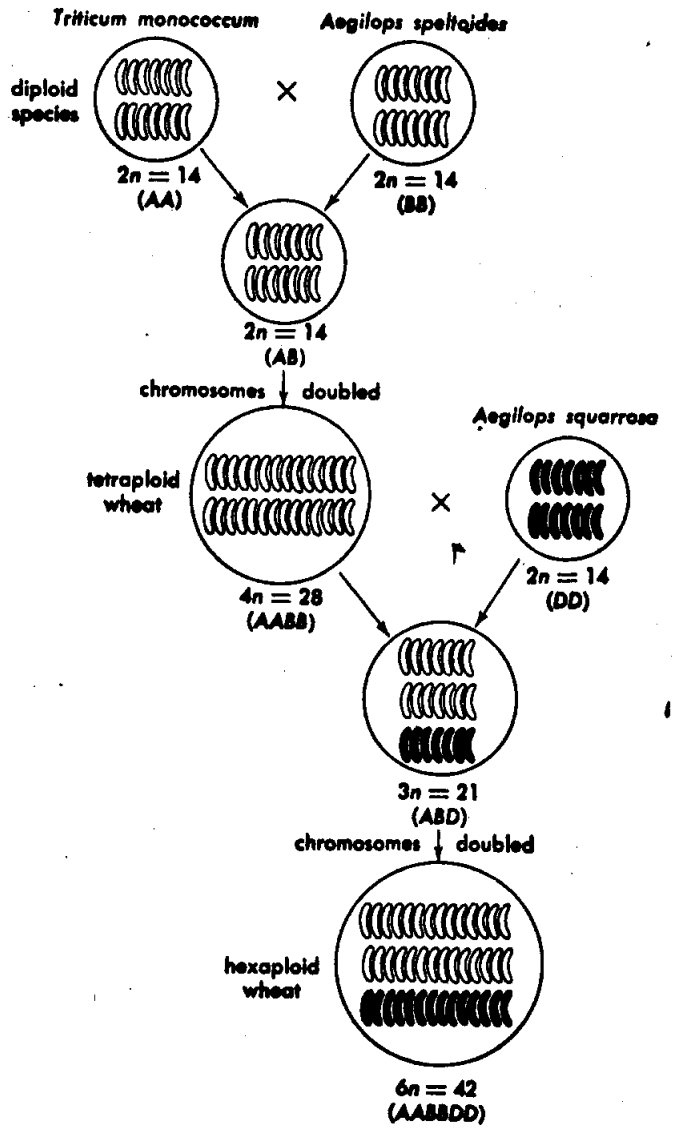
พวก allopolyploid ก็เป็นอีกพวกหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเษตร เป็นอย่างมาก เพราะพืชปลูกสำคัญ ๆ หลายชนิดด้วยกัน เช่น ข้าวสาลี ข้าวโอต ฝ้าย ยาสูบ ออย กล้วยไม้ บางพวกล้วนมีกำเนิดมาจากการผสมข้ามระหว่าง species (interspecific hybrid) หรือระหว่าง genus (intergeneric hybrid)

กำเนิดของข้าวสาลีเป็นตัวอย่างอันดีของการที่พืชต่างชนิดกันมีการผสมข้ามพันธุ์ตามธรรมชาติแล้วให้กำเนิด polyploid series ต่าง ๆ ขึ้นมา จากการสำรวจพฤกษาของข้าวสาลีชนิดต่าง ๆ ใน genus Triticum และพืชที่ใกล้ชิดของมันซึ่งมีทั้งที่เป็นพืชป่าและพืชปลูก สามารถจะแบ่งพืชเหล่านั้นออกได้เป็น diploid, tetraploid, และ hexaploid groups ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n = 14, 28 และ42 ตามลำดับ (ตารางที่ 16–4) โดยพวก tetraploid จะมีกำเนิดมาจากการผสมระหว่างสอง diploid species ตามชนิดของ

ตารางที่ 16–4 Genome formulas ของพืช species ต่าง ๆ ใน genus Triticum และพืชอื่น ๆ ที่มีความใกล้ชิดกัน

Species	Chromosome number (2n)	Genome formula	Common name	Use
Diploid species				
Triticum aegilopoides	14	AA	wild einkorn	wild
Triticum monococcum	14	AA	einkorn	cultivated
Aegilops speltoides	14	BB		wild
Aegilops caudata	14	CC		wild
Aegilops squarrosa	14	DD		wild
Secale cereale	14	EE	rye	cultivated
Tetraploid species				
Triticum dicoccoides	28	AABB	wild emmer	wild
Triticum dicoccum	28	AABB	emmer	cultivated
Triticum durum	28	AABB	durum wheat	cultivated
Triticum persicum	28	AABB	Persian wheat	cultivated
Triticum polonicum	28	AABB	Polish wheat	cultivated
Triticum turgidum	28	AABB	(solid stem) wheat	
Triticum timopheevi	28	AAGG	timopheevi	wild
Aegilops cylindrica	28	CCDD	goat grass	wild
Hexaploid species				
Triticum compactum	42	AABBDD	club wheat	cultivated
Triticum spelta	42	AABBDD	spelt	cultivated
Triticum vulgare	42	AABBDD	common wheat	cultivated

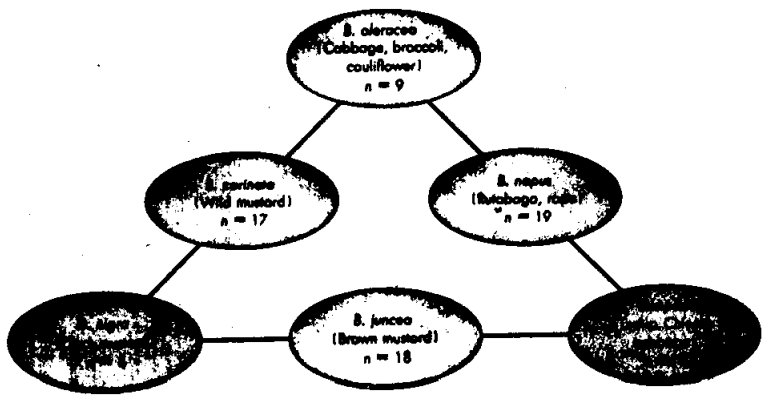
genomes ที่แสดงไว้ ส่วนพวก hexaploids นั้นเกิดจากการที่มี diploid อีก species หนึ่งมาผสมกับ tetraploid species แล้วมี chromosome doubling ขึ้น จากการศึกษาอย่างละเอียด แสดงให้เห็นว่าข้าวสาลีที่เป็น tetraploid ซึ่งมี genome AABB นั้นมีกำเนิดจากการผสมระหว่าง T. monococcum (AA) กับ Aegilops speltoides (BB) หรือบรรพบุรุษของมัน ส่วนข้าวสาลีพวก hexaploid นั้นเป็น amphiploid ระหว่างพวก tetraploid กับ Ae. squarrosa (รูปที่ 16-25)



รูปที่ 16-25 กำเนิดของข้าวสาลีที่เป็น polyploids

โดยทั่วไปแล้วพวก polyploids จะมีโครโมโซมเพิ่มขึ้นมาเป็นเท่าของทั้งชุด แต่ในบางครั้งเมื่อมีการผสมข้าม species ระหว่างพืชที่มีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกันและทำให้เกิด polyploids ตามมา จำนวนโครโมโซมใน polyploids ที่ได้จะเท่ากับผลรวมของจำนวนโครโมโซมใน species ที่เกี่ยวข้อง แทนที่จะเป็นจำนวนเท่าของทั้งชุด

รูปที่ 16–26 เป็น Nagahara U's triangle ของพืชในตระกูลกะหล่ำ species ที่อยู่ตามมุมของสามเหลี่ยมมี gametic chromosome numbers เป็น 8, 9, 10 ส่วน species ที่เหลือ ซึ่งมี gametic number เป็น 17, 18, 19 นั้น สันนิษฐานว่าคง เป็น polyploids ที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างพืชสอง species ที่อยู่ตามมุมของสามเหลี่ยม และเกิดการ double chromosomes ตามมา



รูปที่ 16–26 U's triangle ของพืชในตระกูลกะหล่ำที่มีทั้ง diploid และ amphidiploid species

Genetic segregations in polyploids

การที่พวก polyploids มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้น จะมีผลทำให้ genetic segregations ของมันแตกต่างไปจากพวก diploids สามประการด้วยกัน คือ

1. การเพิ่มขึ้นของโครโมโซมจะเปิดโอกาสให้มี alleles ของยีนส์ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งปรากฏอยู่ด้วยกันในจำนวนและชนิดที่มากขึ้น

2. meiotic segregation ใน polyploids มักทำให้มีการสร้าง sterile gametes เกิดขึ้นด้วย จะทำให้ genetic ratio เปลี่ยนแปลง

3. meiotic segregation จะขึ้นอยู่กับ linkage relationship ระหว่างยีนส์กับ centromere และยังขึ้นอยู่กับการจับคู่ของโครโมโซมเป็น multivalent complexes ว่ามีมากน้อยเพียงใดอีกด้วย

ในกรณีของ multiple allelic loci ใน polyploid cells จะเปิดโอกาสให้มี alleles ปรากฏอยู่ด้วยกันได้ในจำนวนและชนิดที่มากกว่าที่ปรากฏอยู่ใน diploid เช่น ถ้าพิจารณาจากพวก autotetraploid จะมี genotypes ได้หลายแบบด้วยกัน และสามารถจะเรียกชื่อได้ตามจำนวนของ alleles ที่ปรากฏอยู่ เช่น

Monoallelic	$S_1S_1S_1S_1$	$S_2S_2S_2S_2$	etc.
Diallelic	$S_1S_1S_1S_2$	$S_1S_1S_2S_2$	etc.
Triallelic	$S_1S_2S_3S_3$	$S_1S_1S_2S_3$	etc.
Tetra-allelic	$S_1S_2S_3S_4$	$S_2S_3S_4S_5$	etc.

จะเห็นได้ว่าพวกที่จะมี alleles มากกว่าสองชนิดปรากฏอยู่ในเซลเดียวกันนั้น จะพบได้แต่ในพวก polyploid เท่านั้น

ในการสร้าง gametes ของพวก polyploids นอกจากปัญหาความเป็นหมันดังที่ได้กล่าวมาแล้วซึ่งจะทำให้ phenotypic และ genotypic ratios ในชั่วต่อ ๆ มาเปลี่ยนแปลงไปแล้ว จำนวนชนิดของ gametesที่มันสร้างขึ้นก็สามารถจะมีได้มากกว่าพวก diploids อีกด้วย เมื่อยีนส์นั้นเป็น multiple allele series เช่น $S_1S_2S_3S_4$ ถ้าสมมุติว่ามันสร้างได้แต่ dihaploid gametes จะได้ gametes ถึงหกชนิดด้วยกันคือ S_1S_2, S_1S_3, S_1S_4, S_2S_3, S_2S_4, S_3S_4 และถ้าหากว่ายีนส์ตำแหน่งนี้อยู่ห่างจาก centromere มากพอ จนเกิด crossing over ระหว่างยีนส์นั้นกับ centromere ได้ก็จะทำให้มันสร้าง homozygous gametes ขึ้นมาได้อีกสี่ชนิด คือ S_1S_1, S_2S_2, S_3S_3, S_4S_4 ดังนั้นจะเห็นว่าผลจากการผสมพันธุ์ของ $S_1S_2S_3S_4$ จะทำให้เกิด genotypes ต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก

ในกรณีของยีนส์ตำแหน่งเดียวที่มีเพียงสอง alleles พวก polyploids นอกจากจะมีจำนวน alleles เพิ่มขึ้นตามจำนวนชุดของโครโมโซมแล้ว มันก็ยังมี genotypes ได้มากกว่าพวก diploids เช่นเดียวกัน ถ้าสมมุติใน autotetraploid มียีนส์ A-a อยู่ มันสามารถจะมี genotypes ได้ถึงห้าแบบด้วยกัน คือ

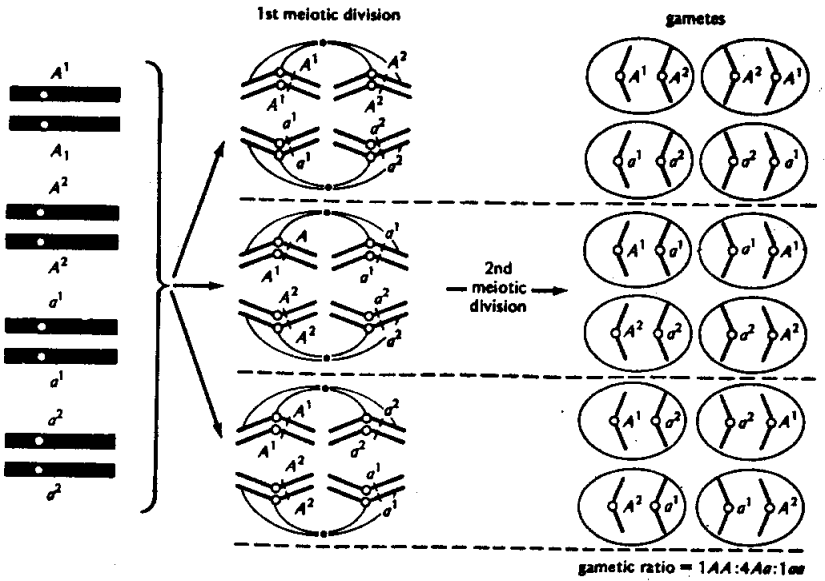
Quadruplex	AAAA
Triplex	AAAa
Duplex	AAaa
Simplex	Aaaa
Nulliplex	aaaa

แต่ละ genotype จะสร้าง gametes ได้ในอัตราส่วนที่ไม่เหมือนกัน ในการคาดหมายถึงชนิดและอัตราส่วนของ gametes ที่จะสร้างขึ้น ตลอดจน phenotypic และ genotypic ratios ที่จะได้จากการผสมพันธุ์ จำเป็นจะต้องพิจารณาจากการจัดเรียงตัว และการแยกตัวของยีนส์บนโครโมโซมใน meiosis และ crossing over ที่จะเกิดขึ้นระหว่างยีนส์ที่ศึกษากับ centromere อีกด้วย ทั้งนี้เพราะว่าถ้าไม่มี crossing over เกิดขึ้นเลย การกระจายตัวของยีนส์ไปอยู่ใน gametes ต่าง ๆ จะขึ้นอยู่กับการแยกตัวของโครโมโซมใน meiotic I เรียกว่า random chromosome segregation แต่ถ้ามี crossing over เกิดขึ้น การกระจายตัวของยีนส์ยังต้องขึ้นอยู่กับการแยกตัวของ chromatids ใน meiotic II อีกด้วย เรียกว่า random chromatid segregation

<u>Random chromosome segregation</u>

การคำนวณหาชนิดและอัตราส่วนของ gametes ที่จะเกิดขึ้น กำหนดว่ายีนส์ต้องอยู่ชิดกับ centromere มากจนไม่มี crossing over เกิดขึ้นระหว่างยีนส์นั้นกับ centromere และการกระจายตัวของโครโมโซมเป็นไปโดยสุ่ม

ถ้าสมมุติว่า autotetraploid มีการแยกตัวอย่างปกติ คือโครโมโซมทั้งสี่อันมีการแยกตัวแบบสองคอสองไปสู่คนละขั้ว genotype AAaa จะสร้าง gametes ได้ในอัตราส่วน 1AA:4Aa:1aa (รูปที่ 16-27) และผลจากการผสมตัวเอง จะได้ phenotypic ratio = 35A:1a เมื่อ alleles ทั้งสองมีการข่มกันอย่างสมบูรณ์ ในกรณีนี้การแยกตัวของ



selfing of autotetraploid

	1AA	4Aa	1aa
1AA	1AAAA	4AAAa	1AAaa
4Aa	4AAAa	16AAaa	4Aaaa
1aa	1AAaa	4Aaaa	1aaaa

= 35A – :1aaaa

รูปที่ 16–27 ชนิดและอัตราส่วนของ gametes ที่ autotetraploid AAaa สร้างขึ้นมาและผลที่คาดว่าจะเกิดขึ้นจากการผสมตัวเอง ในรูปนี้แสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวของโครโมโซมใน meiotic metaphase I ซึ่งเป็นไปได้สามแบบด้วยกัน

ยีนส์ไปอยู่ใน gametes ต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับการแยกตัวไปด้วยกันของโครโมโซมทั้งสี่ จึงมีเพียง 4 segregating units ถ้าหากให้หมายเลขโครโมโซมแต่ละอันไว้ จะเห็นว่าการกระจายตัวของโครโมโซมไปข้างละสองอันนั้น จะเกิดขึ้นได้ถึง 6 แบบด้วยกัน ดังตารางที่ 16–5

ตารางที่ 16–5 ชนิดและอัตราส่วนของ gametes ที่ได้จาก AAaa เมื่อมี random chromosome segretation

	A^1	A^2	a^1	a^2
A^1		AA	Aa	Aa
A^2			Aa	Aa
a^1				aa
a^2				

จะได้ gametic ratio 1AA:4Aa:1aa

Random chromatid segregation

การคำนวณหาชนิดและอัตราส่วนของ gametes ที่จะเกิดขึ้นจาก meiosis กำหนดว่ายีนส์จะต้องอยู่ห่างจาก centromere มากจนเกิด maximum crossing over การเกาะตัวของโครโมโซมคงเป็นแบบ multivalent การกระจายตัวของโครโมโซมและ chromatids เป็นไปโดยสุ่ม

จาก autotetraploid AAaa เมื่อมันสร้าง chromatids ขึ้นมาแล้ว จะได้ 8 segregating units ด้วยกัน คือ AAAAaaaa ถ้าหากมันมีการแยกตัวตามปกติ คือแต่ละ gamete มีสอง chromatids ซึ่งอาจมี alleles ที่เป็นผลจาก duplication ในโครโมโซมต่างอันกัน หรือของโครโมโซมเดียวกัน แต่เกิดจาก crossing over มาอยู่ด้วยกันก็ได้ จะทำให้มันสร้าง gametes ขึ้นมาได้ถึง 28 แบบด้วยกัน ดังแสดงไว้ในตารางที่ 16-6

ตารางที่ 16-6 ชนิดและอัตราส่วนของ gametes ที่ได้จาก AAaa เมื่อมี random chromatid segregation

	A^1	A^2	A^3	A^4	a^1	a^2	a^3	a^4
A^1		AA	AA	AA	Aa	Aa	Aa	Aa
A^2			AA	AA	Aa	Aa	Aa	Aa
A^3				AA	Aa	Aa	Aa	Aa
A^4					Aa	Aa	Aa	Aa
a^1						aa	aa	aa
a^2							aa	aa
a^3								aa
a^4								

จะได้ gametic ratio 6AA:16Aa:6aa

ในทำนองเดียวกัน เมื่อให้ AAaa ผสมตัวเองในชั่วลูกจะได้ phenotypic ratio ประมาณ 20.8A:1a (ตารางที่ 16-7)

ตารางที่ 16-7 ผลจากการผสมตัวเองของ AAaa เมื่อมี random chromatid segregation

	6AA	16Aa	6aa
6AA	36AAAA	96AAAa	36AAaa
16Aa	96AAAa	256AAaa	96Aaaa
6aa	36AAaa	96Aaaa	36aaaa

จะได้ phenotypic ratio = 748A:36a ≃ 20.8A:1a

ในตารางที่ 16-8 เป็นการสรุปผลที่คาดว่าจะเกิดขึ้นจาก autotetraploids ทั้งห้า genotypes เมื่อมีการแยกตัวของยีนส์ทั้งสองแบบ

ตารางที่ 16-8 Gametic และ phenotypic ratios ที่คาดว่าจะเกิดขึ้นจากการผสมตัวเองของ autotetraploid genotypes ต่าง ๆ เมื่อมียีนส์เกี่ยวข้องเพียงตำแหน่งเดียว

	Gametic ratios of AA:Aa:aa		Phenotypic ratios of A:a	
Tetraploid genotype	Random chromosome segregation	Random chromatid segregation	Random chromosome segregation	Random chromatid segregation
AAAA	1:0:0	1:0:0	all A	all A
AAAa	3:3:0	15:12:1	all A	783:1
AAaa	1:4:1	6:16:6	35:1	20.8:1
Aaaa	0:3:3	1:12:15	3:1	2.5:1
aaaa	0:0:1	0:0:1	all a	all A

ในการคำนวณที่เกี่ยวข้องกับยีนส์ตั้งแต่สองตำแหน่งขึ้นไปใน polyploids จะยิ่งยุ่งยากมากขึ้นอีก ถ้าสมมุติให้ A-a และ B-b เป็นยีนส์สองตำแหน่งที่เป็นอิสระต่อกัน และอยู่ชิด centromeres มาก ถ้าหากทำการผสมตัวเองให้แก่ tetraploid AAaaBBbb จะพบว่า เมื่อพิจารณาจากยีนส์ที่ละตำแหน่งจะได้ phenotypic ratio ของ A:a หรือ B:b เป็น 35:1 หรืออาจกล่าวได้ว่าโอกาสที่จะมี recessive phenotype ของแต่ละลักษณะ เกิดขึ้นจะเป็น $\frac{1}{36}$ ดังนั้นโอกาสที่จะได้ double recessive phenotypeจาก genotype aaaabbbb $= \frac{1}{36} \times \frac{1}{36} = \frac{1}{1296}$ เมื่อเปรียบเทียบกับการผสมตัวเองให้แก่ diploid AaBb แล้วมีโอกาสที่จะได้ aabb $= \frac{1}{4} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{16}$ จะเห็นว่าโอกาสที่จะค้นพบพวกที่มีลักษณะด้อยในพวก polyploids นั้น จะมีอยู่ต่ำกว่ามาก ดังนั้น ถ้าหากในการคัดเลือกพืชมีความต้องการลักษณะด้อย จำเป็นจะต้องปลูกพืชเป็นจำนวนมากด้วยกัน เพื่อเปิดโอกาสให้ลักษณะดังกล่าวปรากฏออกมาได้

การสร้าง polyploids

พวกพืชที่เป็น polyploids มีลักษณะหลายอย่างด้วยกันที่เป็นผลดี และเป็นที่ต้องการของมนุษย์ เช่น ทำให้ผักมีขนาดใหญ่ขึ้น ให้ผลผลิตมากขึ้น มีคุณภาพดีขึ้น คุณค่าทางอาหารเพิ่มขึ้น มีสีสรรมากขึ้น เมื่อมนุษย์ทราบว่าสิ่งเหล่านี้มีสาเหตุจากการเป็น polyploid ที่พบว่าแพร่หลายมากในธรรมชาติ จึงมีผู้พยายามจะทำการสังเคราะห์ polyploids ขึ้นมาบ้าง ทั้งชนิดที่เป็น autopolyploids และ allopolyploids โดยใช้วิธีการต่าง ๆ เช่น การทำให้เกิดบาดแผลกับเนื้อเยื่อของพืช การใช้สารเคมีบางอย่าง และการใช้ heat or cold shocks

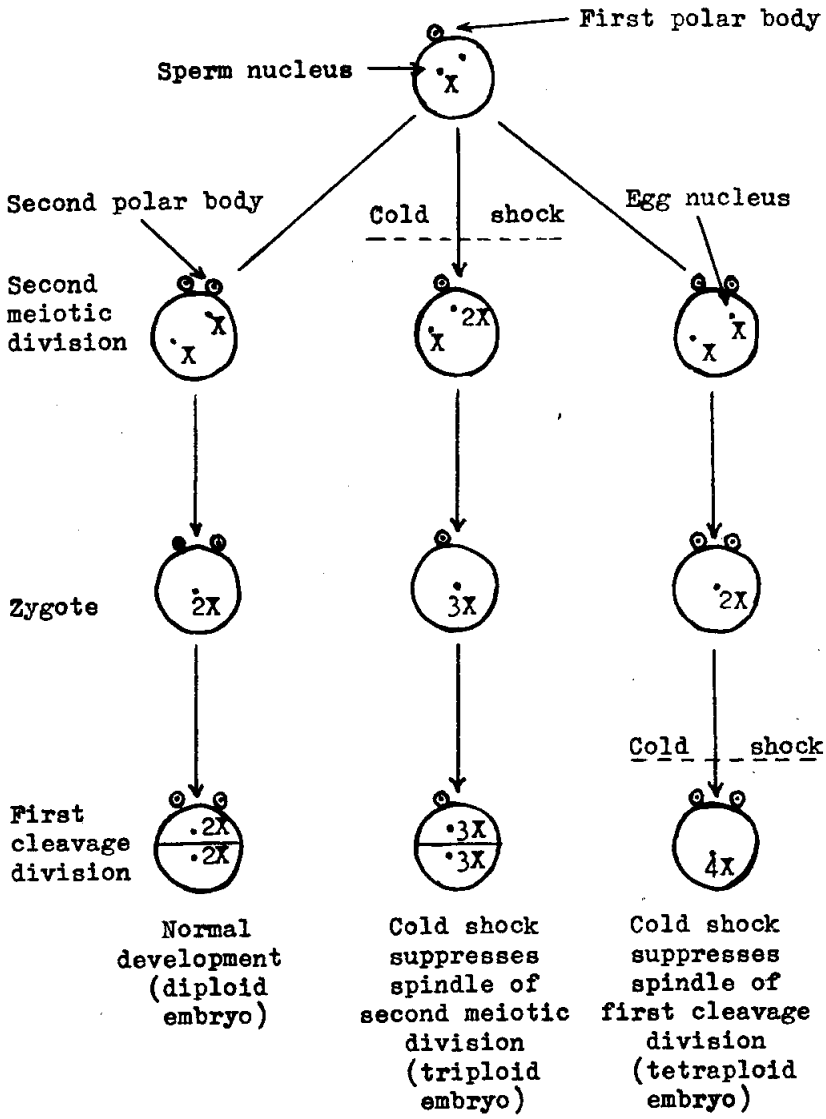
ในต้นมะเขือเทศปกติใน vegetative cells ของมันจะมีโครโมโซมอยู่ 24 อัน ถ้าหากทำการตัดยอดของมันออก มันจะสร้าง callus ขึ้นมาตรงบริเวณบาดแผล และเมื่อมันสร้างยอดขึ้นมาใหม่ ประมาณ 7% ของยอดใหม่ จะมีเซลส่วนใหญ่เป็น tetraploid เมื่อนำไปขยายพันธุ์ต่อก็จะได้ต้นใหม่ที่เป็น polyploid ขึ้นมา หรือถ้าหากทำการตัดยอดของส่วนที่เป็น tetraploid นั้นต่อไปอีก ก็อาจจะได้เซลที่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นต่อไปด้วย

ในพวก green alga, Spirogyra หลังจากที่ nucleus มีการแบ่งตัวแล้ว สามารถจะป้องกันไม่ให้ daughter nuclei มันแยกตัวออกไปจากกันได้ โดยการนำไปแช่เย็นไว้ หรือใช้สารเคมี เช่น ether หรือ chloroform ยับยั้งไว้ แต่มันจะยังมีการสร้าง

ผนัง เซลใหม่ได้ตามปกติ ทำให้บาง เซลไม่มี nucleus บาง เซลมีสองอัน และบาง เซลมีอันเดียว แต่มีโครโมโซม เพิ่มเป็นสอง เท่า ดังนั้นจาก เซลพวกหลังนี้ เมื่อมันพัฒนาต่อไปจะกลายเป็น polyploid ขึ้นมา

วิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุดในการสร้าง polyploids ในพืชคือการใช้สาร เคมีบางชนิดเข้าไปยับยั้งการสราง spindle fiber หรือเข้าไปชักนำให้มี replication ของโครโมโซม เพิ่มขึ้น เช่น การใช้ colchicine, colcemid, acenaphthene, indole acetic acid ฯลฯ แต่สารที่ใช้ยับยั้งการก่อตัวของ spindle fiber อย่างมีประสิทธิภาพคือ colchicine ซึ่ง เป็นสาร alkaloid ที่สะกัดได้จากพืช Colchicum autumnale จะทำให้โครโมโซมที่แบ่งตัวออก เป็นสอง chromatids แล้วไม่แยกจากกันไปสู่คนละขั้ว จะทำให้ เซลที่กำลังแบ่งตัวที่ยอดหรือตามีจำนวนโครโมโซม เป็นสอง เท่าขึ้นมา อาจใช้สร้างพืชให้เป็น autopolyploids ขึ้นมา หรือใช้กับ interspecific หรือ intergeneric hybrids ให้กลาย เป็น allopolyploid ขึ้นมาก็ได้ การใช้ colchicine จะได้ผลในการสราง polyploids กับพืช เกือบทุก species แต่อย่างไรก็ตามไม่ใช่ว่าพืชทุกชนิดเมื่อเป็น polyploids แล้วจะให้ผลดีเสมอไป บางทีอาจ เลวกว่า เดิมด้วยซ้ำ ส่วนพวกที่ เป็นผลดีนั้นก็อาจจะไม่ดีในทุกระดับของ polyploids จะดีอยู่ เพียงบางระดับ เท่านั้น เช่าใจว่าคง เนื่องมาจากสมดุลย์ของยีนส์ ส่วนทางด้านสัตว์นั้น การใช้ colchicine ไม่ค่อยได้ผล ยกเว้นในกรณีของการสราง polyploid กับ Amoeba

การสราง polyploids ที่นิยมใช้กันมากในพวกสัตว์ได้แก่ การใช้ temperature shocks กับไข่หรือคัพภะ สัตว์ที่ใช้ได้ผลมากได้แก่พวกสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ในสัตว์พวกนี้ second meiotic division ของ egg cell จะยังไม่สมบูรณ์จนกว่าสเปอร์มจะเดินทางเข้าไปถึงไข่ ถ้าหากใช้ temperature shock หลังจากที่สเปอร์มเข้าไปแล้วไม่นาน จะทำลายการก่อตัวของ spindle fiber ทำให้ได้ diploid nucleusขึ้นมา เมื่อมันเข้ารวมตัวกับ sperm nucleus จะได้ triploid zygote ซึ่งจะเจริญต่อไป เป็น triploid embryo แต่ถ้าหากปล่อยให้มีการปฏิสนธิ เกิดขึ้นตามปกติก่อนแล้ว จึงใช้ temperature shock ก่อนการแบ่งตัวของ เซลครั้งแรก (first cleavage division) ก็จะทำให้ diploid nucleus กลายไป เป็น tetraploid nucleus ขึ้นมาแทน รูปที่ 16–28 แสดงให้เห็นถึงการสราง triploid และ tetraploid จากคัพภะของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก โดยการใช้ cold shocks



รูปที่ 16-28 การสร้าง triploid และ tetraploid embryos ในพวกสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก โดยใช้ cold shock

Temperature shocks อาจเป็น cold shock หรือ heat shock ก็ได้ ถ้าเป็น cold shock จะใช้วิธีจุ่มไข่ลงในน้ำที่อุณหภูมิ 1 °C เป็นเวลา 30 นาที ส่วน heat shock นั้น อุณหภูมิที่พอเหมาะคือ 37 °C ใช้เวลา 2–3 นาที โดยทั่วไปแล้วการสร้าง polyploid ในสัตว์จะยากกว่าในพืช ทั้งนี้เนื่องจากว่าในสัตว์ที่เป็น polyploid นั้น มักทำให้มันมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ หรือถึงกับตายไปเลย

อีกวิธีการหนึ่งในการสร้าง polyploid ที่ได้ทดลองเป็นผลสำเร็จมาแล้วกับพืชใน genus Nicotiana คือ parasexual hybridization โดยการนำเอา somatic cells ของพืชต่าง species กันมาละลายผนังเซลออกเสียก่อน จนเหลือแต่ protoplasts จากนั้นจึงนำไปใส่ในสารละลาย sodium nitrate แล้วนำไปปั่นเข้าด้วยกันด้วยความเร็วสูง เพื่อให้ nuclei จากพืชต่าง species กันมารวมกันเข้ากลายเป็น polyploid nucleus ใน protoplast อันเดียวกัน จากนั้นจะนำ protoplasts ทั้งหมดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารพิเศษที่จะเปิดโอกาสให้เฉพาะ hybrid cells เท่านั้นเจริญเติบโตต่อไปเป็นต้นอ่อน จากนั้นก็จะนำต้น hybrid ที่ได้ไปผสมกลับเข้ากับต้นพ่อแม่ จนกระทั่งมันออกดอก สร้างเมล็ด จึงนำเมล็ดที่ได้ไปเพาะปลูกต่อไป (รูปที่ 16–29)

รูปที่ 16–29 แสดง somatic cell hybridization technique เพื่อสร้าง allopolyploid ในพืช genus Nicotiana (a) นำเซลจากใบพืชสอง species มาย่อยผนังเซลออกก่อนด้วย enzyme (b) นำ protoplast ที่ได้ไปใส่ในสารละลาย $NaNO_3$ เพื่อส่งเสริมให้มีการรวมตัวของเซล แล้วนำไปปั่นด้วยความเร็วสูง (c) นำเซลทั้งหมดไปเลี้ยงบนอาหารพิเศษซึ่ง hybrid cells เท่านั้นที่จะเจริญต่อไปได้ (d) hybrid cells จะพัฒนาไปเป็นลำต้นและใบ (e) นำต้น hybrid ไปทาบกิ่งเข้ากับต้นแม่ฝ่ายใดฝ่ายหนึ่ง แล้วปล่อยให้มันเจริญเติบโตต่อไปจนกระทั่งออกดอกและสร้างเมล็ด (f) นำเมล็ดไปเพาะกล้าและปลูกต่อจะได้ต้นที่เป็น allopolyploid ขึ้นมา