

การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคการเพิ่มจำนวนโครโมโซม Plant Breeding with the Use of Polyploidy Techniques

อลงกลด แทนอมทอง¹ และ อุดมภูเบศร์ สมบูรณ์เรศ^{2*}

Alongklod Tanomtong¹ and Udomphubethsawa Somboonret^{2*}

¹สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40000

²สถาบันอาชีวศึกษาภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 1 จังหวัดหนองคาย 43000

¹Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khonkean, 40000

²Institute of Vocational Education Northeastern Region 1, Nongkhai, 43000

Received : 2023-10-16 Revised : 2025-04-21 Accepted : 2025-05-07

บทคัดย่อ

เทคนิคการเพิ่มจำนวนโครโมโซมในพืชมีจุดมุ่งหมายเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีผลผลิตที่สูงขึ้น ต้านทานต่อโรคและแมลง และมีคุณสมบัติอื่น ๆ ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ เทคนิคการเพิ่มจำนวนโครโมโซมในพืชที่เป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ 1) การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการเพิ่มจำนวนโครโมโซมทีละแห่ง 2) การเพิ่มโครโมโซมจากต่างจีโนมทีละชุด 3) การเพิ่มโครโมโซมจากแหล่งอื่นทีละ 2 ชุด 4) การเพิ่มโครโมโซมจากแหล่งอื่นทีละ 4 ชุด และ 5) การเพิ่มโครโมโซมเป็น 8 ชุด ซึ่งพืชที่อยู่ในสภาพพอลิพลอยด์เหล่านี้ จะไม่มีปัญหาการสูญเสียอัตราส่วนของโครโมโซมเพศเหมือนกับที่พบในสัตว์ และสามารถบริโภคได้ไม่ถือว่าเป็นอาหารที่มีการดัดแปลงพันธุกรรม

คำสำคัญ : ปรับปรุงพันธุ์พืช, พอลิพลอยด์, โครโมโซม

Abstract

The technique of increasing the number of chromosomes (polyploidy) in plants is aimed at breeding plants to higher yields. It is resistant to diseases and insects and has other economically valuable properties. The most popular plant chromosome proliferation techniques currently in use are: 1) Trisomic 2) Allotriploid 3) Allotetraploid 4) Allohexaploid and 5) Allooctoploid. Plants that are in these polyploid conditions do not suffer from loss of sex chromosomal ratios like those found in animals and can be consumed not considered genetically modified organism foods (GMOs).

Keywords : Plant breeding, polyploidy, chromosome

*อุดมภูเบศร์ สมบูรณ์เรศ

E-mail address : Phubeth2112@gmail.com

1. บทนำ

การกลายพันธุ์ (mutation) ในพืช เป็นการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของพืช ทั้งในระดับของโครโมโซม (chromosome) หรือดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid; DNA) โดยปกติการกลายพันธุ์ในพืชจะได้ลักษณะที่ไม่ต้องการ แต่ในบางครั้งพืชอาจมีการปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อมใหม่ ๆ เราจะได้พืชที่มีลักษณะใหม่เกิดขึ้น ในที่สุดก็จะกลายเป็นพืชชนิดใหม่ (new species) ยังผลทำให้พืชมีการเปลี่ยนแปลงไปจากบรรพบุรุษเดิม [1]

ความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ ในการคัดเลือกพันธุ์พืชที่มีความผันแปรมาก โอกาสที่จะคัดเลือกได้ลักษณะที่ใช้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจก็จะมากด้วย อย่างไรก็ตามความผันแปรภายในชนิดพันธุ์ (species) หรือสกุล (genus) ในพืชยังมีขอบเขตที่จำกัดซึ่งมีปัจจัยที่เฉพาะหลายอย่าง ได้แก่ การผสมข้ามชนิดพันธุ์ (interspecific hybridization) หรือการผสมข้ามสกุล (intergeneric hybridization) เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช เพื่อสร้างพืชพันธุ์ใหม่ที่มีคุณสมบัติที่พึงประสงค์ในทางพันธุศาสตร์จะใช้ประโยชน์จากการผสมข้ามระหว่างพืชชนิดต่าง ๆ เพื่อแสดงถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างชนิดหรือสกุลของพืช ซึ่งอาจใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์พืช ที่จะช่วยทำให้ความเข้าใจเกี่ยวกับพันธุกรรมของพืชต่างชนิดและสกุลได้ดีขึ้น [2]

การเพิ่มจำนวนโครโมโซมในพืช (พอลิพลอยด์; polyploid) เป็นกระบวนการที่สำคัญในวิวัฒนาการ (evolution) ของพืชในพืชดอก (angiosperm) ที่เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ (dicotyledon) เป็นพอลิพลอยด์ประมาณ 43% (12,000 ชนิด) สำหรับในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledon) เป็นพอลิพลอยด์ประมาณ 58% (5,000 ชนิด) ในพืชยืนต้น (perennial plant) ไม่ว่าจะเป็นไม้ยืนต้น (tree) หรือไม้พุ่ม (shrub) มีโอกาสที่จะเป็นพอลิพลอยด์มากกว่าพืชล้มลุก (annual plant) ในพืชเมล็ดเปลือย (gymnosperm) โดยเฉพาะในปรง (cycad) และแปะก๊วย (ginkgo) จะเป็นพอลิพลอยด์ทั้งหมด และในพืชไม่มีท่อลำเลียง (bryophyte) พบได้ในมอส (moss) [3]

การเพิ่มจำนวนโครโมโซมของพืชพบได้บ่อยมากในสภาพที่เกิดขึ้นเองธรรมชาติ นอกจากนี้ยังสามารถเกิดขึ้นได้จากนักปรับปรุงพันธุ์พืช ด้วยเหตุผลที่พืชที่อยู่ในสภาพพอลิพลอยด์จะมีคุณสมบัติบางอย่างที่ดีกว่าพืชดิพลอยด์ (diploid; $2n$)

จึงได้มีการสร้างพืชที่เป็นพอลิพลอยด์กับพืชเศรษฐกิจมากมายหลายชนิด ตัวอย่างที่ตัวอย่างหนึ่งที่แสดงให้เห็นถึงการเกิดพอลิพลอยด์ในสตรอเบอร์รี่ ที่นักปรับปรุงพันธุ์พืชพัฒนาพันธุ์เพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็น 8 ชุด (ออกโทพลอยด์; octoploid $8n=224$) จะมีผลที่มีขนาดใหญ่กว่าสตรอเบอร์รี่ที่เป็นดิพลอยด์ ($2n=56$) ปกติถึงสามเท่า [4] (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 สตรอเบอร์รี่ที่นักปรับปรุงพันธุ์พืชพัฒนาพันธุ์เป็นออกโทพลอยด์ ($8n$) จะมีผลที่มีขนาดใหญ่กว่าสตรอเบอร์รี่ที่เป็นดิพลอยด์ ($2n$) ถึงสามเท่า Hartwell และคณะ [5]

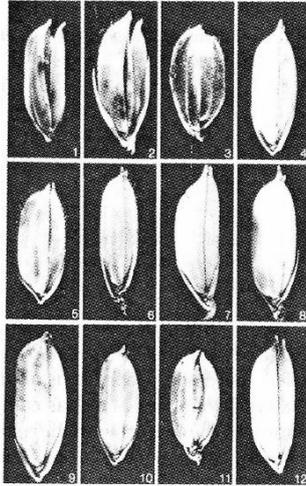
2. การเพิ่มจำนวนโครโมโซมในพืช (polyploidy)

พบว่าในพืชชั้นสูงจะมีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซมได้หลากหลายรูปแบบมากกว่าในสัตว์ชั้นสูง เนื่องจากในสัตว์ชั้นสูงจะมีโอกาสในการผสมพันธุ์ข้ามสายพันธุ์ค่อนข้างยาก และการเพิ่มโครโมโซมเข้ามาจะมีผลต่อความสมดุลของโครโมโซมเพศ (sex chromosome) ที่จะเป็นผลเสียต่อการดำรงชีวิตมากกว่าผลดี สำหรับในพืชชั้นสูงจะไม่มีปัญหาดังกล่าว ในปัจจุบันนี้นักวิทยาศาสตร์สามารถที่จะสร้างพืชที่เกิดจากการเพิ่มจำนวนโครโมโซมได้หลายชนิดส่วนมากแล้วจะเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ [6] สำหรับการเปลี่ยนแปลงจำนวนของโครโมโซมในพืชชั้นสูงมีหลายรูปแบบ ดังนี้

2.1 การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการเพิ่มจำนวนโครโมโซม ทีละแห่ง (trisomic)

ปรากฏการณ์ของไตรโซมิก (trisomic; $2n+1$) เป็นการเพิ่มจำนวนโครโมโซม 1 แห่ง ในทุกคู่ของโครโมโซม ที่มีผลต่อการแสดงออกของพืช และเป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ การเกิดไตรโซมิกของข้าว (*Oryza sativa* L.) ข้าวมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 24 แห่ง ในปัจจุบันนี้เราทราบดีแล้วว่าการเกิดไตรโซมิกของโครโมโซมทุกคู่ของข้าว

จะมีผลทำให้เมล็ดข้าวมีรูปร่างแตกต่างกันออกไปได้ถึง 12 รูปแบบ [7] (รูปที่ 2)



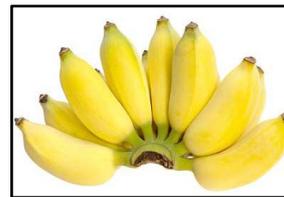
รูปที่ 2 ผลของการเกิดไตรโซมิก ($2n+1$) ในทุกคู่ของโครโมโซมของข้าว (*Oryza sativa* L.) ทำให้เมล็ดของข้าวมีลักษณะที่แตกต่างกันได้ 12 รูปแบบ [8]

2.2 การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยเพิ่มโครโมโซมจากแหล่งอื่นที่ละชุด (allotriploid)

เราสามารถที่จะพบพืชที่เป็นแอลโลทรिพลอยด์ (allotriploid) ได้หลายชนิด ตัวอย่างที่ดีคือ กล้วย (banana) เป็นพืชในสกุล *Musa* แบ่งออกได้เป็น 4 หมวด (section) ด้วยกัน คือ *Eumusa*, *Rhodochlamys*, *Australimusa* และ *Callimusa* กล้วยในสองหมวดแรกจะมีจำนวนโครโมโซม 22 แท่ง สำหรับสองหมวดหลังมีจำนวนโครโมโซม 20 แท่ง กล้วยที่อยู่ในหมวด *Eumusa* ถือว่าเป็นกล้วยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ การตรวจสอบต้นกำเนิดของกล้วยแต่ละพันธุ์สามารถทำได้ด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยาจากลักษณะต่าง ๆ ของกล้วย 15 ลักษณะ โดยวิธีการให้คะแนน วิธีการนี้สามารถแยกชนิดของกล้วยออกได้เป็น 6 หมวดหมู่ (group) คือ AA ($2n=22$), AAA ($3n=33$), AAB ($3n=33$), ABB ($3n=33$), ABBA ($4n=44$) และ BB ($2n=22$) ในแต่ละหมวดหมู่สามารถบ่งบอกถึงต้นกำเนิดว่ามาจากสายพันธุ์พ่อและแม่พันธุ์ใด

กล้วยป่า (*Musa acuminata*) มีจำนวนโครโมโซม 22 แท่ง มีชุดจีโนม (genome) AA ทั้ง 2 ชุด กล้วยอีกพันธุ์หนึ่งคือ กล้วยตานี (*M. balbisiana*) มีจำนวนโครโมโซม 22 แท่ง

มีชุดจีโนม BB ทั้ง 2 ชุด กล้วยทั้งสองชนิดนี้เป็นดิพลอยด์ จึงทำให้มีเมล็ดเป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้อย่างปกติ จากนั้นกล้วยได้มีการเกิดวิวัฒนาการโดยการกลายเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมเป็นแอลโลทริพลอยด์ ($3n=AAB, ABB$) ได้เป็นกล้วยที่ใช้ปลูกเป็นการค้าในปัจจุบันนี้ทั่วโลกมีอยู่ประมาณ 17 สายพันธุ์ที่เป็นกล้วยทริพลอยด์ที่เราเรารู้กันเป็นอย่างดี ได้แก่ กล้วยน้ำหว่าที่เป็นแอลโลทริพลอยด์ ($3n=33$) ที่ประกอบด้วยจีโนม A จำนวน 1 ชุด และจีโนม B จำนวน 2 ชุด (ABB) และกล้วยงาช้างที่เป็นแอลโลทริพลอยด์ ($2n=3x=33$) ที่ประกอบด้วยจีโนม A จำนวน 2 ชุด และจีโนม B จำนวน 1 ชุด (AAB) ซึ่งกล้วยทั้ง 2 ชนิดนี้ล้วนไม่มีเมล็ด (เป็นหมัน) การขยายพันธุ์จึงต้องใช้หน่อเท่านั้น [9] (รูปที่ 3)



กล้วยน้ำหว่า ($3n=33, ABB$)



กล้วยงาช้าง ($3n=33, AAB$)

รูปที่ 3 การปรับปรุงพันธุ์กล้วยที่เกิดจากชุดของจีโนมที่แตกต่างกันได้ถูกพัฒนาพันธุ์มาจากกล้วยป่า (มีจีโนม AA) และกล้วยตานี (มีจีโนม BB) [10]

2.3 การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยเพิ่มโครโมโซมจากแหล่งอื่นที่ละ 2 ชุด (allotetraploid)

จะพบพืชเศรษฐกิจหลายชนิดที่เป็นแอลโลเททระพลอยด์ (AABB) หรือเรียกว่าแอมฟิดิพลอยด์ (amphidiploid) เช่น ฝ้ายพันธุ์ปลูก (*Gossypium hirsutum*) ที่ปลูกกันอยู่ในปัจจุบันนี้ มีจำนวนโครโมโซม 52 แท่ง มีจีโนมเป็น $A_2A_2D_1D_1$ เป็นแอมฟิดิพลอยด์ที่มีต้นกำเนิดมาจากพันธุ์ฝ้ายพื้นเมืองของเอเชียและอเมริกาที่เป็นดิพลอยด์ (รูปที่ 4)



พันธุ์ฝ้ายพื้นเมืองของเอเชีย

Gossypium arboreum
(2n=26, D₁D₁)
เซลล์สืบพันธุ์ D₁
ลูกรุ่นที่ 1



ฝ้ายพื้นเมืองของอเมริกา

G. thurberi
(2n=26, A₂A₂)
A₂

พืชลูกผสม (A₂D₁)
เพิ่มชุดจีโนม



ลูกรุ่นที่ 2 จีโนม A₂A₂D₁D₁
ฝ้ายพันธุ์ปลูกเพื่อการค้า (cultivated species)
G. hirsutum, แอมพิติพลอยด์ (4n=52, A₂A₂D₁D₁)

รูปที่ 4 ฝ้ายพันธุ์ปลูกมีจำนวนโครโมโซมแอลโลเททรพลอยด์ (4n=52, A₂A₂D₁D₁) ที่มี ต้นกำเนิดมาจากพันธุ์ฝ้ายพื้นเมืองของเอเชียและอเมริกา [11]

2.4 การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยเพิ่มโครโมโซมจากแหล่งอื่นทีละ 4 ชุด (allohexaploid)

ธัญพืชหลายชนิดเมื่ออยู่ในสภาพแอลโลเฮกซะพลอยด์ (AABBCC) จะมีคุณสมบัติที่พึงประสงค์หลายอย่าง ได้แก่ มีผลผลิตที่สูงมากขึ้นกว่าชนิดที่เป็นดิพลอยด์ ต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช เมล็ดมีความแก่พร้อมกัน ทำให้สะดวกต่อการเก็บเกี่ยว ธัญพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งที่เป็นแอลโลเฮกซะพลอยด์ คือ ข้าวสาลี (wheat) พันธุ์ที่ใช้เป็นพืชปลูกในปัจจุบัน คือ *Triticum vulgare* หรือ *T. aestivum* (6n=42, A' A' B' B' D D) มีจีโนม A' B' D อยู่อย่างละ 7 คู่ โครโมโซมเท่า ๆ กัน มีกำเนิดมาจากข้าวสาลีพื้นเมืองชนิด *T.monococcum* ที่มีจีโนม 2n, AA จากหญ้าแพะชนิด *Aegilops speltoides* ที่มีจีโนม 2n, BB และจากหญ้าแพะชนิด *A. squarrosa* ที่มีจีโนม 2n, DD [12] (รูปที่ 5)

Triticum monococcum X *Aegilops speltoides*
(2n=14, AA) (2n=14, BB)

พืชลูกรุ่นที่ 1
(2n=14, AB)
เพิ่มชุดจีโนม

A. squarrosa X *T. dicoccoides*
(2n=14, DD) (4n=28, AABB)

พืชลูกรุ่นที่ 2
(3n=21, A'B'D)
เพิ่มชุดจีโนม

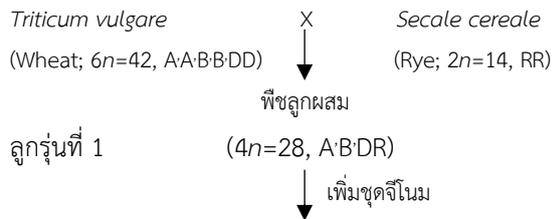


ข้าวสาลีพันธุ์ปลูก
T. vulgare หรือ *T. aestivum*
(6n=42, A' A' B' B' D D)

รูปที่ 5 การสร้างข้าวสาลีพันธุ์ที่ใช้ปลูกกันในปัจจุบันนี้ ต้องผ่านการปรับปรุงพันธุ์มาจากข้าวสาลีพันธุ์พื้นเมืองและหญ้าแพะ [8]

2.5 การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยเพิ่มโครโมโซมเป็น 8 ชุด (allooctoploid)

ธัญพืชที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่ง คือ wheat-rye hybrid เป็นผลมาจากการผสมพันธุ์ข้ามสกุลระหว่างข้าวสาลี (wheat) และข้าวไรย์ (rye) ได้พืชลูกผสมที่เป็นแอลโลออกโทพลอยด์ ได้มีการตั้งชื่อว่า Fasgro (*Triticale*) จะให้ผลผลิตที่สูงเหมือนข้าวสาลี และมีลำต้นที่แข็งแรงเหมือนข้าวไรย์ (รูปที่ 6) นักพันธุศาสตร์พืชมีความเชื่อว่า ในบรรดาธัญพืชชนิดต่าง ๆ หรือพืชที่ต้องการเมล็ดมาก ๆ นั้น การมีจำนวนชุดจีโนมที่มาจากต่างชนิดกัน จะให้คุณลักษณะบางอย่างที่ดีกว่าเดิม เช่น การเจริญเติบโตที่เร็วกว่า ให้ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่สูงกว่า เป็นต้น [13]



ลูกรุ่นที่ 2 Fasgro (*Triticale*) ($8n=56, A\cdot A\cdot B\cdot B\cdot D\cdot D\cdot R\cdot R$)

รูปที่ 6 แผนผังการสร้างพืชลูกผสม wheat-rye hybrid ที่เป็น แอลโลออคโทพลอยด์ [5]

3. บทสรุป

ความรู้ทางด้านพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ (cytogenetics) สามารถที่จะนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช และศึกษาวิวัฒนาการของพืชจากการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม โดยเฉพาะพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยเพิ่มจำนวนโครโมโซม ได้แก่ การสร้างพืชที่เป็นไตรโซมิก แอลโลเทริพลอยด์ แอลโลเททราพลอยด์ แอลโลเฮกซะพลอยด์ และแอลโลออคโทพลอยด์ ซึ่งพืชที่อยู่ในสภาพพอลิพลอยด์เหล่านี้ จะไม่มีปัญหาการสูญเสียอัตราส่วนของโครโมโซมเพศเหมือนกับที่พบในสัตว์ พืชพอลิพลอยด์เหล่านี้จะมีคุณสมบัติที่ดีบางประการ เช่น การให้ผลผลิตที่สูงขึ้น และมีคุณภาพที่ดีกว่าเดิม [14]

เทคนิคการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมในพืช มีบทบาทที่สำคัญในการปรับปรุงพันธุ์พืชในช่วงหลายสิบปีที่ผ่านมา มีพืชหลายชนิดที่ถูกชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ มีจุดประสงค์เพื่อให้ได้พืชที่มีคุณลักษณะใหม่ ๆ เช่น ทำให้ใบของพืชมีขนาดใหญ่ขึ้น ดอกมีขนาดใหญ่ขึ้นหรือบานได้นานขึ้น ผลมีขนาดใหญ่ขึ้นหรือไม่เมล็ด แต่ในบางครั้งก็พบว่าทำให้ได้พืชที่มีลักษณะที่ผิดปกติออกมา ที่ไม่สามารถเจริญเติบโตหรือมีรูปร่างที่ผิดปกติ ปัจจัยทางด้านพันธุกรรมของพืชจะมีผลโดยตรงต่อการอยู่รอดของชีวิต [15]

เอกสารอ้างอิง

- [1] Tanomtong, A., & Pinthong, K. Cytogenetics. Chulalongkorn University Press. 2022. (in Thai)
- [2] Udall, J. A., & Wendel, J. F. Polyploidy and crop improvement. *Crop Science*, 46, S-3, 2006.
- [3] Lewis, W. H. *Polyploidy: Biological Relevance*. Springer Science & Business Media, Vol. 13, 2012.
- [4] Mason, A. S. *Polyploidy and Hybridization for Crop Improvement*. CRC Press. 2017.
- [5] Hartwell, L. H., Hood, L., Glodberg, M. L., ReInolds, A. E., & Silver, L. M. *Genetics from Genes to Genomes*. McGraw-Hill, 2011.
- [6] McGrath, C. L., Lynch, M., Soltis, P. S., & Soltis, D. E. *Polyploidy and Genome Evolution*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012.
- [7] IWATA, N., & OMURA, T. Studies on the trisomics in rice plants (*Oryza sativa* L.) VI. An accomplishment of a trisomic series in japonica rice plants. *The Japanese journal of genetics*, 59(3), 199-204, 1984.
- [8] Gardner, E. J., & Snustad, D. P. *Principles of Genetics*. John Wiley & Sons, 1984.
- [9] Tomaszewska, P. Understanding polyploid banana origins. A commentary on: 'Unravelling the complex story of intergenomic recombination in ABB allotriploid bananas'. *Annals of Botany*, 127(1), iv-v, 2021.
- [10] Tomaszewska, P. Understanding polyploid banana origins. A commentary on: Unravelling the complex story of intergenomic recombination in ABB allotriploid bananas. *Annals of Botany*, 127(1): iv-v, 2020.

- [11] Flagel, L. E., & Wendel, J. F. Evolutionary rate variation, genomic dominance and duplicate gene expression evolution during allotetraploid cotton speciation. *New Phytologist*, 186(1), 184-193, 2010.
- [12] Bottley, A., & Koebner, R. M. Variation for homoeologous gene silencing in hexaploid wheat. *The Plant Journal*, 56(2), 297-302, 2008.
- [13] Schie, S., Chaudhary, R., & Debener, T. Analysis of a complex polyploid plant genome using molecular markers: strong evidence for segmental allooctoploidy in garden dahlias. *The Plant Genome*, 7(3), plantgenome 2014-01, 2014.
- [14] Rehman, R. U. *Polyploidy: Recent Trends and Future Perspectives*. Springer India. 2017.
- [15] Van de Peer, Y. *Polyploidy: Methods and Protocols* (Vol. 2545). Springer Nature, 2023.