บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 พันธุ์ข้าวไทย

ประเทศไทยอยู่ในเขตความผันแปรของทั้งข้าวป่าและข้าวปลูก มีข้าวป่าแพร่กระจายทั่วประเทศ 5 ชนิด ในจำนวนนี้มีชนิดที่เป็นบรรพบุรุษของข้าวปลูกเอเชียคือ ข้าวป่าข้ามปี (O. *Rufipogon* Griff.) และข้าวป่าปีเดียว (O.*nivara* Sharma et Shastry) (สงกรานต์และบริบูรณ์, 2544) ข้าวปลูกมีวิวัฒนาการจากข้าวป่าเป็นเวลานานมากกว่า 7,000 ปี (Chang, 1976) มีการค้นพบหลักฐานการปลูกข้าวในประเทศไทยอายุเก่าแก่ที่สุดมากกว่า 5,000 ปี (ชิน, 2531) ประเทศไทยจึงมีความหลากหลายในชนิดของข้าวและยังมีความหลากหลายในพันธุ์ข้าวปลูกด้วย กรมวิชาการเกษตรได้จัดตั้งโครงการรวบรวมและอนุรักษ์ทรัพยากรเชื้อพันธุ์ข้าวในปี พ.ศ. 2538 ถึงปีพ.ศ. 2542 โดยสถาบันวิจัยข้าวเป็นผู้รับผิดชอบดำเนินงาน ขณะนี้ศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์ข้าวแห่งชาติ ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ได้รวบรวมพันธุ์ข้าวปลูกทุกชนิด (*Oryza* spp L.) จาก 76 จังหวัดของประเทศไทยไว้จำนวน 23,903 ตัวอย่าง จัดเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 17,093 ตัวอย่าง (โดยจำแนกชื่อเบื้องต้นที่ไม่ซ้ำกันได้ 5,928 ชื่อพันธุ์) ข้าวสายพันธุ์ดี 2,335 ตัวอย่าง ข้าวสายพันธุ์ต่างประเทศ 3,391 ตัวอย่าง ข้าวป่า (*Oryza* spp.) 1,065 ตัวอย่าง และข้าวอื่นๆ (*Oryza glaberima*) 19 ตัวอย่างพันธุ์ โดยชื่อของแต่ละตัวอย่างพันธุ์จะตั้งขึ้นตามความพอใจของเกษตรกรหรือเจ้าของพันธุ์โดยมิได้ประเมินคุณลักษณะประจำพันธุ์ทางด้านวิชาการมาก่อน ดังนั้นโอกาสที่จะเป็นพันธุ์ที่ซ้ำกันก็เป็นไปได้ สำหรับการตั้งชื่อพันธุ์ของเกษตรกรหรือเจ้าของพันธุ์จะตั้งตามสถานที่แหล่งที่พบหรือสถานที่ที่เก็บรวบรวมมา ตามลักษณะรูปพรรณสัณฐานที่พบ ตามจังหวัด ตามชื่อของคน ดอกไม้ ผลไม้ สัตว์ หรือสิ่งของ และชื่อที่บ่งบอกความหมาย (ฉวีวรรณ, 2543)

ประเทศไทยมีการจำแนกข้าวเป็นหลายรูปแบบโดยมาตรการในการจำแนกข้าวขึ้นอยู่กับปัจจัยและสิ่งแวดล้อมหลายประการ (ประพาส, 2526 และอรรควุฒิ, 2527) ดังนี้

1. จำแนกตามคุณสมบัติทางเคมีภายในเมล็ด ได้แก่ ข้าวเจ้า (non-glutinous rice) และข้าวเหนียว (glutinous rice) เมล็ดข้าวเจ้าประกอบด้วย amylose ประมาณร้อยละ 10 – 30 และ amylopectin ร้อยละ 60 – 90 ส่วนเมล็ดข้าวเหนียว ประกอบด้วย amylose น้อยมากประมาณร้อยละ 5 บางครั้งพบว่าไม่มีเลย และมี amylopectin ร้อยละ 95 หรือมากกว่า ปริมาณของ amylose และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

amylopectin ที่มีในเมล็ดข้าวทำให้คุณภาพการหุงต้มของข้าวพันธุ์ต่างๆ แตกต่างกัน ข้าวที่มี amylose เมื่อหุงต้มสุกแล้วจะร่วนซุยเป็นตัวกว่าข้าวที่มี amylose ต่ำ

2. จำแนกตามสภาพพื้นที่ปลูก ได้แก่ ข้าวไร่ (upland rice) ข้าวนาสวนหรือนาดำ (lowland rice) และข้าวขึ้นน้ำหรือข้าวนาเมือง (floating rice) ข้าวไร่เป็นข้าวที่ปลูกได้ทั้งบนที่ราบ และที่ลาดชันไม่ต้องทำคันนาเก็บกักน้ำนิยมปลูกกันมากในบริเวณที่ราบสูงตามไหล่เขาทางภาคเหนือ ภาคใต้ ภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ คิดเป็นเนื้อที่เพาะปลูกประมาณร้อยละ 10 ของเนื้อที่เพาะปลูกทั่วประเทศ ข้าวนาสวนหรือนาดำเป็นข้าวที่ปลูกในที่ลุ่มทั่วๆ ไปในสภาพที่มีน้ำหล่อเลี้ยงต้นข้าวตั้งแต่ปลูกจนกระทั่งก่อนเก็บเกี่ยว โดยที่สามารถรักษาระดับน้ำได้และระดับน้ำต้องไม่สูงเกิน 1 เมตร ข้าวนาสวนนิยมปลูกกันมากแทบทุกภาคของประเทศคิดเป็นเนื้อที่เพาะปลูกประมาณร้อยละ 80 ของเนื้อที่เพาะปลูกทั่วประเทศ ข้าวขึ้นน้ำหรือข้าวนาเมืองเป็นข้าวที่ปลูกในแหล่งที่ไม่สามารถรักษาระดับน้ำได้ บางครั้งระดับน้ำในบริเวณที่ปลูกอาจสูงกว่า 1 เมตร ต้องใช้ข้าวพันธุ์พิเศษที่เรียกว่า ข้าวลอยหรือข้าวฟางลอย ส่วนมากปลูกแถบจังหวัดพระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี ลพบุรี พิจิตร อ่างทอง ชัยนาท และสิงห์บุรี คิดเป็นเนื้อที่เพาะปลูกประมาณร้อยละ 10 ของเนื้อที่เพาะปลูกทั่วประเทศ

3. จำแนกตามอายุการเก็บเกี่ยว ได้แก่ ข้าวเบา (early variety) ข้าวกลาง (medium variety) และข้าวหนัก (late variety) ข้าวเบามีอายุการเก็บเกี่ยว 90 – 100 วัน ข้าวกลาง 100 – 120 วัน และข้าวหนักตั้งแต่ 120 วันขึ้นไป โดยอายุการเก็บเกี่ยวนับแต่เพาะกล้าหรือหว่านข้าวในนาจนเก็บเกี่ยว

4. จำแนกตามลักษณะความไวต่อช่วงแสง ได้แก่ ข้าวที่ไวต่อช่วงแสง (photoperiod sensitive variety) และข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสงแสง (non-photoperiod sensitive variety) ข้าวที่ไวต่อช่วงแสงจะมีอายุการเก็บเกี่ยวที่ไม่แน่นอน เพราะจะออกดอกในช่วงเดือนที่มีความยาวของกลางวันสั้นกว่ากลางคืนในประเทศไทยช่วงดังกล่าวเริ่มเดือนตุลาคม ฉะนั้น ข้าวพวกนี้ต้องปลูกในฤดูนาปี (ฤดูฝน) เท่านั้น ส่วนข้าวที่ไม่ไวต่อแสงจะมีอายุการเก็บเกี่ยวที่แน่นอน จะออกดอกและเก็บเกี่ยวได้เมื่อครบอายุการเจริญเติบโตโดยช่วงแสงไม่มีอิทธิพลต่อการออกดอก ข้าวพวกนี้จึงสามารถปลูกได้ทุกฤดูกาล

5. จำแนกตามรูปร่างของเมล็ดข้าวสาร ได้แก่ ข้าวเมล็ดสั้น (short grain) ความยาวของเมล็ดไม่เกิน 5.50 มิลลิเมตร ข้าวเมล็ดยาวปานกลาง (medium-long grain) ความยาวของเมล็ดตั้งแต่ 5.51 – 6.60 มิลลิเมตร ข้าวเมล็ดยาว (long grain) ความยาวของเมล็ดตั้งแต่ 6.61 – 7.50 มิลลิเมตร ข้าวเมล็ดยาวมาก (extra-long grain) ความยาวของเมล็ดตั้งแต่ 7.51 มิลลิเมตรขึ้นไป

6. จำแนกตามฤดูปลูก ได้แก่ ข้าวนาปี (rainfed rice) และข้าวนาปรัง (off-season rice) ข้าวนาปีหรือข้าวนาน้ำฝนคือข้าวที่ปลูกในฤดูการทำนาปกติ เริ่มตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และจะเก็บเกี่ยวเสร็จสิ้นล่าสุดไม่เกินเดือนกุมภาพันธ์ ส่วนข้าวนาปรังคือ ข้าวที่ปลูกนอกฤดูการทำนาปกติ เริ่มตั้งแต่เดือนมกราคมในบางท้องที่และจะเก็บเกี่ยวอย่างช้าที่สุดไม่เกินเดือนเมษายน นิยมปลูกในท้องที่มีการชลประทานดี

2.2 ความหมายและลักษณะที่สำคัญของพืชพันธุ์พื้นเมือง

พืชพันธุ์พื้นเมือง (landraces, primitive cultivars, traditional cultivars, local varieties, folk varieties) เป็นพืชที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่เป็นเอกลักษณ์ของตัวเอง มีลักษณะภายนอกที่เห็นได้ชัดเจนและรู้จักกันเป็นอย่างดี สามารถจำแนกออกจากกันได้โดยอาศัยลักษณะทางภายนอก และชาวนาจะตั้งชื่อเรียกขึ้นมาเองโดยเฉพาะ สำหรับพันธุ์พื้นเมืองที่แตกต่างกันจะมีความสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมท้องถิ่นที่ไม่เหมือนกัน เช่น เกี่ยวกับสภาพของดิน โรค และแมลง ฤดูเพาะปลูก ความสุกแก่ ความสูง และคุณสมบัติอื่นๆ (Harlan, 1992) พันธุ์พื้นเมืองได้ผ่านวิวัฒนาการจากการเกษตรโบราณหรือระบบเกษตรที่มีการเขตกรรมในระดับที่ต่ำมากเช่น ในสภาพการไถพรวนน้อย ไม่ใช้ปุ๋ย ไม่มีการป้องกันกำจัดโรคและแมลง ผ่านการคัดเลือกต่าง ๆ ในสภาพที่มีความแปรปรวนของสภาพแวดล้อม ภูมิอากาศ หรือการระบาดของโรคและแมลง เพื่อให้ตัวเองสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้มากกว่าการเพิ่มการให้ผลผลิต (Frankel *et al.*, 1995)

2.3 โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรพืชพันธุ์พื้นเมือง

ระบบการเกษตรแต่ละระบบที่พืชพันธุ์พื้นเมืองสามารถเจริญเติบโต และปรับตัวอยู่ได้นั้นจะแสดงถึงโครงสร้างทางพันธุกรรมที่เกี่ยวเนื่อง และตอบสนองต่อระบบการเกษตรนั้นๆ ระบบการเกษตรแต่ละระบบจะเป็นตัวกำหนดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในประชากรของพืชพันธุ์พื้นเมืองด้วย (Brown, 2000) เราสามารถพิจารณาโครงสร้างทางพันธุกรรมของของประชากรพืชพันธุ์พื้นเมือง จากการแสดงออกของลักษณะต่างๆ ดังนี้

1. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของลักษณะต่างๆ ซึ่งพิจารณาจากชนิด จำนวน และขนาดของประชากร หรือขนาดของพื้นที่ในการเพาะปลูก (Brown, 2000) ระบบการผสมพันธุ์ระดับของการผสมข้ามพันธุ์ (outcrossing) (Morishima and Oka, 1970) ความแตกต่างของวัตถุประสงค์ในการนำมาใช้ประโยชน์ของมนุษย์ เช่น รสชาด กลิ่น สี การนำมาใช้ในพิธีกรรม (Frankel *et al.*, 1995) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Oka, 1988) และโมเลกุลเครื่องหมายต่างๆ เช่น isozyme, RAPD และ AFLP marker (Fuentes, 1999) และ microsatellite marker (Garland *et al.*, 1999)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การปรับตัวที่เฉพาะเจาะจงต่อสภาพแวดล้อมในท้องถิ่น พิจารณาจากความแตกต่างของถิ่นที่ปลูก การเกิดโรคและแมลงและความเสียหายที่เกิดขึ้น ความแปรปรวนภายในลักษณะต่างๆ เช่น การสุกแก่ที่แตกต่างกัน เป้าหมายหรือวัตถุประสงค์ในการคัดเลือกของเกษตรกร ความทนทานในสภาวะเครียด เช่น สภาพแห้งแล้ง น้ำท่วม สภาพดินเค็ม การตอบสนองที่เกิดจากการคัดเลือก และยีนที่ควบคุมการต้านทานต่อโรคและแมลง

3. ความหลากหลายของท้องถิ่น เช่น สภาพภูมิประเทศ (Oka, 1988) ภูมิศาสตร์ทางการเกษตร รูปแบบการค้าขาย อาชีพ และภาษา ระบบการเก็บและการใช้เมล็ดพันธุ์ การวัดคุณสมบัติของพื้นที่ที่ใช้เพาะปลูกโดยการทดลองนำไปปลูกที่อื่น หรือย้ายที่เพาะปลูก (Brown, 2000)

4. การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางพันธุกรรมเมื่อเวลาเปลี่ยนแปลงไป เช่น ประวัติของท้องถิ่นในการเปลี่ยนการใช้พันธุ์ การคัดเลือกพันธุ์ของเกษตรกร การแลกเปลี่ยนพันธุ์ภายในท้องถิ่นและระหว่างท้องถิ่น (Dennis, 1987) การเปรียบเทียบตัวอย่างที่เก็บไว้หรือที่เคยมีในประวัติศาสตร์กับประชากรที่มีอยู่ในปัจจุบัน วงจรของการสูญหายและได้มาใหม่ของพันธุ์พื้นเมืองในท้องถิ่นหรือในภูมิประเทศ การเปลี่ยนแปลงของการเกิดโรค ชนิดของโรค และโครงสร้างความต้านทานโรค การเปลี่ยนแปลงความถี่ของ allele และ genotype (Falconer and Mackay, 1996)

5. การตอบสนองของพืชปลูกที่เกิดในขบวนการทางวิวัฒนาการ เช่น การเปลี่ยนแปลงการเขตกรรม ความแตกต่างของโครงสร้างทางพันธุกรรมก่อนคัดเลือกและหลังการคัดเลือกเมล็ดพันธุ์ของเกษตรกร การตอบสนองเมื่อนำไปปลูกในเรือนเพาะชำที่มีโรคระบาด การอพยพย้ายถิ่น (migration) โดยวัดจากเครื่องหมายพันธุกรรม ข้อมูลจากการเคลื่อนย้ายเมล็ดพันธุ์ ความแปรปรวนในระบบการผสมพันธุ์ หรือการเกิดการกลายพันธุ์ (mutation)

2.4 ความหลากหลายทางพันธุกรรม

ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) คือ ความแตกต่างของสายพันธุ์ของทั้งพืชและสัตว์ที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมียีนจำนวนมากที่ควบคุมลักษณะต่างๆ ทางพันธุกรรมของสายพันธุ์นั้น หน่วยพันธุกรรมหรือยีนรูปแบบต่าง ๆ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมากมายจะเป็นตัวการสำคัญในการกำหนดรูปร่างและการทำงานของสิ่งมีชีวิตตลอดจนการสืบทอดสายพันธุ์และเผ่าพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต อาจกล่าวได้ว่ายีนเป็นหน่วยพันธุกรรมซึ่งมีความแตกต่างที่มีบทบาทเหมือนกัน ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นจึงขึ้นอยู่กับจำนวนยีน รวมทั้งลักษณะการผสมพันธุ์ และการแพร่กระจายของสายพันธุ์นั้นๆ ด้วย (Oka, 1991)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ความหลากหลายทางพันธุกรรมสามารถวัดจากลักษณะภายนอกที่เห็นได้ชัด เช่น ชื่อพันธุ์ ขนาด รูปร่าง และสีของเมล็ด รสชาด ความต้านทานโรคและแมลง ความสุกแก่ และลักษณะทางปริมาณที่สามารถนับได้ (Power and McSorley, 2000) แต่ลักษณะภายนอกที่เห็นนี้สามารถแยกความแตกต่างหรือความหลากหลายของสายพันธุ์ได้ในระดับหนึ่ง ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีชีวภาพในปัจจุบันทำให้จำแนกความหลากหลายได้ถึงในระดับยีน โดยใช้ความแตกต่างในระดับ DNA ที่แสดงค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมมาช่วยในการวิเคราะห์ความหลากหลายได้ เช่นค่าที่สามารถวัดได้โดยตรง ได้แก่ ความถี่ของ allele (allele frequency) ระยะห่างระหว่างพันธุกรรม (genetic distance) เช่น เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม หรืออาจหาจากการวิเคราะห์ protein electrophoresis การใช้เทคนิคโมเลกุลเครื่องหมายต่างๆ เช่น microsatellite markers เพื่อวิเคราะห์ความเหมือนหรือความแตกต่างทางพันธุกรรม ซึ่งจะช่วยแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ได้ชัดเจนมากขึ้น (Garland *et al.*, 1999)

2.5 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมือง

ภายในประชากรของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจะมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง เมื่อเทียบกับพันธุ์ปรับปรุงที่ประชากรมีความสม่ำเสมอทางพันธุกรรมมากกว่า (Oka, 1988) ซึ่งความแปรปรวนที่เกิดขึ้นภายในประชากรนั้นส่วนใหญ่เกิดเนื่องจากความแตกต่างของท้องถิ่น และระยะเวลาที่พันธุ์ถูกใช้เพาะปลูก ส่วนความหลากหลายระหว่างประชากรของข้าวพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากความแตกต่างของท้องถิ่น หรือสภาพภูมิศาสตร์ที่ประชากรนั้นสามารถเจริญเติบโตและปรับตัวให้เข้ากับท้องถิ่นนั้นได้ (Frankel *et al.*, 1995) การที่ข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมภายในประชากรสูงนั้น เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมากของสภาพแวดล้อมมักไม่เกิดผลเสียหายมากนักเช่น เช่น เมื่อเกิดโรคระบาดโรคใดโรคหนึ่งขึ้นกลุ่มประชากรพวกนี้ก็ยังสามารถมีชีวิตอยู่ได้ เพราะภายในประชากรประกอบด้วยแหล่งยีนที่ต้านทานโรคหลายๆ ชนิดปนกันอยู่ (Harlan, 1992) ซึ่งองค์ประกอบทางพันธุกรรมชนิดต่างๆ นั้นได้ผ่านการคัดเลือกมาหลายชั่วทั้งการคัดเลือกโดยธรรมชาติและการคัดเลือกโดยมนุษย์ โดยธรรมชาติจะคัดเลือกพันธุกรรมที่แข็งแรงและสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เกิดการเปลี่ยนแปลงให้เหลืออยู่ ส่วนที่อ่อนแอจะไม่สามารถคงอยู่ได้และถูกคัดทิ้งไป ทำให้มีโอกาสที่จะได้พันธุกรรมชนิดที่ปรับตัวดีและแข็งแรงมาผสมกัน รวมทั้งสามารถปรับตัวให้เข้ากับพันธุกรรมชนิดอื่นๆ และสภาพแวดล้อมใหม่ๆ ได้อีก เมื่อเกิดขบวนการอพยพย้ายถิ่น (migration) ขบวนการเหล่านี้เกิดขึ้นมาเป็นระยะเวลานานสืบทอดจากชั่วหนึ่งไปยังลูกหลาน และมนุษย์จะมีส่วนช่วยเร่งให้ขบวนการของธรรมชาติและขบวนการของวิวัฒนาการ (evolution) เร็วขึ้น เพราะมนุษย์หรือเกษตรกรจะเป็นผู้คัดเลือกหรือเก็บ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เฉพาะชนิดที่ชอบเช่น รสชาด กลิ่น สี การนำมาใช้ในพิธีกรรม (Frankel *et al.*, 1995) หรือมีประโยชน์ต่อตนไว้ปลูกต่อไปเท่านั้น (ดำเนิน, 2541 และ Harlan, 1992) โดยวัตถุประสงค์ในการคัดเลือกก็จะแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่นและแต่ละสภาพแวดล้อมประกอบกับความผันแปรของสภาพแวดล้อม และเมื่อมีการผสมข้ามระหว่างข้าวที่ปลูกกับวัชพืชที่เกี่ยวข้องด้วยหรือข้าวป่า (outcrossing) ทำให้เกิดข้าวพันธุ์พื้นเมืองขึ้นเป็นจำนวนมาก (สงกรานต์, 2537)

ข้าวพันธุ์พื้นเมืองเป็นแหล่งยีนที่สำคัญแม้ว่าจะมีข้อเสียหลายประการคือ การชูรวงไม่ดี เมล็ดมีสีของรงค์วัตถุ บางพันธุ์มีหางยาว ต้นสูงเกินไปทำให้เกิดปัญหาการหักล้ม หรือเมล็ดมีระยะพักตัวนาน แต่ข้อดีที่เป็นเอกลักษณ์ของข้าวพันธุ์พื้นเมืองคือ มีความต้านทานต่อโรคและแมลง หรือทนน้ำท่วม ทนแล้ง และมีความสามารถในการแข่งขันกับวัชพืชได้ดี (Chang, 1976)

2.6 ความเสื่อมทางพันธุกรรม (genetic erosion)

ความเสื่อมทางพันธุกรรมเป็นการสูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์พืช ซึ่งอาจเกิดจากสาเหตุต่างๆ (Oka, 1988 และ อำพล, 2538) ดังนี้

1. การเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเกษตรกรรม (agriculture change) จากการเพาะปลูกแบบดั้งเดิมที่ใช้พันธุ์พื้นเมืองที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาเป็นพันธุ์ปรับปรุงโดยนักปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งมีความสม่ำเสมอทางพันธุกรรมสูงและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากกว่า

2. การเปลี่ยนแปลงทางด้านเศรษฐกิจ สังคม การเมือง (socioeconomic change) เช่น การขยายเมือง การอพยพย้ายถิ่น และละทิ้งอาชีพเกษตรเข้าสู่เมือง สงคราม

3. การใช้ทรัพยากรอย่างไม่มีขอบเขตจำกัด (overexploitation) เช่น การตัดไม้ทำลายป่าโดยไม่มีการปลูกทดแทน การเก็บของป่าหรือพืชจากธรรมชาติโดยปราศจากการควบคุม เช่น พืชสมุนไพรชนิดต่างๆทำให้พืชบางชนิดสูญพันธุ์ไป

4. การสูญเสียแหล่งอาศัย (habitat loss) มักเกิดจากการขยายเมือง การถากถางเปิดป่า สร้างเขื่อน ถนน และการใช้ทรัพยากรอย่างไม่มีจำกัด รวมทั้งผลจากสงครามและภัยธรรมชาติ

2.7 ผลกระทบที่เกิดจากความเสื่อมทางพันธุกรรม

การปลูกพืชพันธุ์ปรับปรุงโดยนักปรับปรุงพันธุ์ที่มีความสม่ำเสมอทางพันธุกรรมสูงเพียงชนิดเดียวหรือพันธุ์เดียวนั้นเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปัญหาการระบาดของโรค และแมลงศัตรูพืช (Shigehisa, 1982 อ้างโดย Zhu *et al.*, 2003) และเป็นการเพิ่มโอกาสที่โรคและแมลงให้เข้าทำลายได้ง่ายและเกิดการระบาดอย่างรวดเร็วทำให้เกิดความเสียหายรุนแรงและส่งผลกระทบต่อสมดุลย์ระบบเกษตรนิเวศน์ เช่น การใช้สารเคมีในการกำจัดและควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แมลงบางชนิดที่อยู่ในระบบนิเวศน์ที่ไม่ใช่ศัตรูพืชก็ได้รับผลกระทบจากสารเคมีที่ใช้ด้วย การใช้สารเคมีและยาฆ่าแมลงเป็นระยะเวลานานติดต่อกันจะเป็นการชักนำให้แมลงศัตรูพืชบางชนิดมีวิวัฒนาการในการต้านทานต่อยานั้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ต้องมีการเพิ่มปริมาณและชนิดยาในการควบคุมกำจัดซึ่งจะมีสารตกค้างที่เป็นมลภาวะแก่สภาพแวดล้อมรวมไปถึงแหล่งอาหารของสัตว์และมนุษย์ด้วย (Oka, 1988) นอกจากนั้นความเสื่อมทางพันธุกรรมที่เกิดจากสาเหตุภัยธรรมชาติยังทำให้พืชพันธุ์พื้นเมืองพันธุ์ดีสูญหายไปด้วย เช่น เกิดน้ำท่วมใหญ่ในประเทศไทยเมื่อปี พ.ศ. 2463 และ ปี พ.ศ. 2485 ซึ่งน้ำท่วมใหญ่ทั้ง 2 ครั้งนี้ทำให้ข้าวไทยถูกน้ำท่วมเสียหายมาก ข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีชื่อเสียงมากของไทยคือข้าวปิ่นแก้ว รวมทั้งข้าวพันธุ์ดีอื่นๆ สูญหายไป (สุทัศน์, 2536)

ปัจจุบันมีการศึกษาการควบคุมการระบาดของโรคและแมลงศัตรูข้าวซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการแก้ปัญหาความเสื่อมทางพันธุกรรมข้องข้าวได้ เช่น การเพิ่มความหลากหลายในระดับแปลงโดยการปลูกแถวข้าวเหนียวพื้นเมืองระหว่างแถวข้าวเจ้าลูกผสม เพื่อลดความรุนแรงและความเสียหายจากการระบาดของโรคไหม้ของข้าวที่เมืองยูนาน ประเทศจีน โดยใช้ข้าวเหนียวพื้นเมืองที่อ่อนแอต่อโรคไหม้แต่มีราคาดีและข้าวเจ้าลูกผสมที่ต้านทานต่อโรคไหม้และให้ผลผลิตสูง ซึ่งมีรูปแบบการปลูกที่นิยมใช้ 2 รูปแบบ คือ ข้าวเหนียวพื้นเมือง 1 แถวสลับกับข้าวเจ้าลูกผสม 4 แถว และข้าวเหนียวพื้นเมือง 1 แถวสลับกับข้าวเจ้าลูกผสม 6 แถว แต่เกษตรกรสามารถปรับเปลี่ยนรูปแบบได้ตามความพอใจและความเหมาะสมกับระบบการเพาะปลูกของตัวเอง ซึ่งทั้ง 2 รูปแบบนอกจากสามารถลดปัญหาการระบาดของโรคไหม้ของข้าวเหนียวพื้นเมืองแล้วยังสามารถเพิ่มผลผลิตได้ทั้งข้าวเหนียวพื้นเมืองและข้าวเจ้าลูกผสมโดยเฉพาะข้าวเหนียวพื้นเมืองสามารถเพิ่มผลผลิตได้มากถึง 89 % เมื่อเทียบกับการปลูกข้าวเหนียวพื้นเมืองเพียงพันธุ์เดียว (Zhu *et al.*, 2000 และ Zhu *et al.*, 2003) และยังเป็นการแก้ไขระบบนิเวศน์ทางการเกษตรให้ดีขึ้นเพราะลดการใช้สารเคมีในการควบคุมปัญหาเรื่องโรค (Zhu *et al.*, 2003)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.8 วิธีการวัดความหลากหลายทางพันธุกรรม

โดยทั่วไปวิธีการวัดความหลากหลายทางแบ่งเป็น 3 ระดับ คือ พันธุ์ประวัติ ลักษณะที่แสดงออก และพันธุกรรม ในแต่ละวิธีก็มีทั้งข้อดีและข้อด้อย เช่น การวัดลักษณะที่แสดงออกบางครั้งลักษณะที่แสดงออกมานั้นอาจได้รับอิทธิพลร่วมกันของลักษณะที่แสดงออกกับพันธุกรรมและลักษณะที่พืชแสดงออกมาเหมือนกันอาจมีพันธุกรรมที่ต่างกันได้ เช่น ลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจได้แก่ ผลผลิต คุณภาพ เป็นผลมาจากการกระทำของยีนหลายตัวและหลายตำแหน่งเกี่ยวข้องกันและมีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมในการแสดงออกด้วย (Yang และ Smale, 1996 อ้างโดย Khampheng, 2003)

ปัจจุบันวิธีการวัดความหลากหลายทางพันธุกรรมมีหลายวิธีที่สามารถนำมาเปรียบเทียบความหลากหลายภายในพืชชนิดเดียวกันหรือพันธุ์เดียวกัน และระหว่างพันธุ์ได้ เช่น การใช้ดัชนีความหลากหลาย (Power และ McSorley, 2000 และ Coffey, 2002) ได้แก่

1. Richness หรือ species richness เป็นการนับเฉพาะจำนวนชนิดที่พบในกลุ่มตัวอย่างศึกษา ซึ่งเป็นการวัดความหลากหลายเพียงส่วนเดียวเท่านั้น

2. Species Abundance Curves เป็นการสร้างภาพเส้นโค้งที่แสดงถึงการเปรียบเทียบความถี่หรือจำนวนประชากรของชนิดที่ศึกษาที่พบมากที่สุดของ 2 กลุ่ม (ชุมชน) หรือมากกว่า

3. Shannon Index or Shannon-Weaver Index (H') เป็นดัชนีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ใช้กันเป็นส่วนมาก โดยคำนวณจากสูตร

$$H' = -\sum_{i=1}^{s} pi \ln pi$$

โดย	s	=	จำนวนชนิดที่พบ
	pi	=	สัดส่วนของชนิดนั้นต่อจำนวนทั้งหมด

ในการพิจารณาหากพบว่าค่า $H' = 0$ หมายถึงไม่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม และ ค่า H' สูงหมายถึงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง

4. Evenness Index เป็นดัชนีความหลากหลายที่เป็นประโยชน์สำหรับการเปรียบเทียบจำนวนชนิดทั้งหมดในกลุ่มกับจำนวนประชากรที่ต่างกันของแต่ละชนิด มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 1 โดยคำนวณจากสูตร

$$J = \frac{H'}{\ln s}$$

โดย	H'	=	Shannon-Weaver Index
	s	=	จำนวนชนิดที่พบทั้งหมดในกลุ่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. Simpson's Index เป็นค่าดัชนีความหลากหลายของประชากรของชนิดที่มีจำนวนมากที่สุดของกลุ่ม (ชุมชน) ที่ศึกษา มีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 ถ้ามีเพียงชนิดเดียวจะมีค่าสูงสุดคือ $p_i = \lambda = 1$ โดยคำนวณจากสูตร

$$\lambda = \sum_{i=1}^{s} (p_i)^2$$

6. Reciprocal Simson Index เป็นการคำนวณส่วนกลับของ Simpson's Index ในกรณีที่มีชุดข้อมูลขนาดใหญ่ บางข้อมูลมีค่าเท่ากับ 0 ซึ่งไม่สามารถคำนวณค่า ln ของ 0 ได้

ตัวอย่างในการคำนวณดัชนีความหลากหลาย (Power และ McSorley, 2000) มีดังนี้

ตาราง 1 จำนวนประชากรของชนิดต่างๆ จำนวน 5 ชนิดในกลุ่มสมมุติ 2 กลุ่มคือ A และ B

ชนิด	กลุ่ม A	กลุ่ม B
ชนิด 1	90	30
ชนิด 2	5	25
ชนิด 3	3	20
ชนิด 4	1	15
ชนิด 5	1	10
รวม	100	100

ที่มา: ดัดแปลงจาก Power และ McSorley (2000)

การคำนวณค่าดัชนีความหลากหลายของกลุ่ม A คือ

Shannon Index or Shannon-Weaver Index (H')

$$H' = -\left[\frac{90}{100}\ln\frac{90}{100} + \frac{5}{100}\ln\frac{5}{100} + \frac{3}{100}\ln\frac{3}{100} + \frac{1}{100}\ln\frac{1}{100} + \frac{1}{100}\ln\frac{1}{100}\right]$$

$= -(0.9[-0.105] + 0.05[-2.996] + 0.03[-3.506] + 0.01[-4.605] + 0.01[-4.605]$

$= -(0.095 - 0.150 - 0.105 - 0.046 - 0.046)$

$= -(-0.442)$

$= 0.442$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Evenness Index

$J = H'/\ln s$; $s = 5$

$= 0.442/\ln s$

$= 0.442/1.609$

$= 0.275$

Simpson's Index

$$\lambda = \sum_{i=1}^{s} (p_i)^2$$

$$= \left(\frac{90}{100}\right)^2 + \left(\frac{5}{100}\right)^2 + \left(\frac{3}{100}\right)^2 + \left(\frac{1}{100}\right)^2 + \left(\frac{1}{100}\right)^2$$

$= 0.81 + 0.0025 + 0.0009 + 0.0001 + 0.0001$

$= 0.814$

Reciprocal Simson Index

$1/\lambda = 1/0.814$

$= 1.229$

การคำนวณค่าดัชนีความหลากหลายของกลุ่ม B คือ

Shannon Index (H')	=	1.544
Evenness Index	=	0.960
Simpson's Index	=	0.225
Reciprocal Simson Index	=	4.444

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.9 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชพันธุ์พื้นเมือง

ความหลากหลายทางพันธุกรรมสามารถศึกษาได้ 2 รูปแบบคือความหลากหลายภายในประชากรของแต่ละพันธุ์ และความหลากหลายระหว่างประชากร (Frankel, 1995) ซึ่งการวัดความหลากหลายทางพันธุกรรมสามารถวัดได้โดย

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางสรีรวิทยา เช่น

Morishima *et al.* (1980) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาในประชากรของข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่เก็บตัวอย่างจากประเทศเนปาล อินเดียและไทย ลักษณะที่ใช้ศึกษาเช่น % phenol negative plants, % brown hulled plants, % plants with red pericarp, % awned plants และ Spikelet length and width (Seed Size) มีความแปรปรวนของสัดส่วนความยาวและความกว้างของดอก ($\sqrt{G}$) ตั้งแต่ 0.04 – 0.26 สูงสุดคือ 0.26 ซึ่งมากกว่าลูกผสมที่เกิดจากข้าวป่าและข้าวปลูกที่มีค่าสูงสุดคือ 0.20

Oka (1988) ศึกษาความแตกต่างของข้าวประเภท *japonica* ที่มีพื้นที่ปลูกในเขตร้อนและเขตอบอุ่นโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้แก่ อัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างของเมล็ด ความสูงของต้น ความยาวของรวง จำนวนรวงต่อต้น และขนาดของใบธง

2. ลักษณะที่อาจเป็นประโยชน์ในงานโครงการปรับปรุงพันธุ์ (ดำรงและกระจ่าง, 2512 และ Harlan, 1992) ได้แก่ ปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ด (ppm) (Delhaize *et al.*, 1984) และค่าการสลายเมล็ดข้าวในด่าง (งามชื่น, 2545, Juliano และ Villareal, 1993 และ IRRI, 1985) ซึ่งสามารถนำไปประเมินลักษณะของเมล็ดข้าวหลังจากทิ้งไว้ให้เย็นหลังการหุงต้มได้

3. ความแตกต่างทางชีวเคมีเช่น การวิเคราะห์ความแตกต่างทางไอโซไซม์โดยเทคนิค electrophoresis (Dennis, 1987 และ Oka, 1988) หรือการศึกษาความแตกต่างของสารพันธุกรรมในระดับดีเอนเอจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยการใช้โมเลกุลเครื่องหมายเช่น RAPD (Foolad *et al.*, 1993) AFLP marker (Fuentes, 1999) SSLP (อภิชาติและคณะ, 2544) และ Microsatellite markers (Ni *et al.*, 2002) เพื่อหาระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืช และใช้ในการจำแนกพันธุ์พืชชนิดเดียวกันได้แม่นยำมากขึ้น

Oka (1988) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมจากความแตกต่างทางไอโซไซม์โดยใช้เทคนิค electrophoresis ในประชากรของข้าวพื้นเมืองจากประเทศเนปาล 1 ประชากร และไทย 2 ประชากร พบค่าความแปรปรวนทางพันธุกรรมภายในประชากรมาก ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่างใกล้ 0 – 0.20 แต่ยังน้อยกว่าเมื่อเทียบกับข้าวป่าที่มีค่าตั้งแต่ 0.10 – 0.40

Foolad *et al.* (1993) ได้นำเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสต่างชนิดกันคือ ไอโซไซม์ RFLP และ RAPD มาใช้ในการจำแนกประเภทมะเขือเทศ พบว่า การใช้ไอโซไซม์ 16 ชนิด ไม่สามารถแยก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ความแตกต่างสายพันธุ์ลูกผสมของมะเขือเทศจากสปีชีส์เดียวกันได้ และเมื่อเปรียบเทียบเทคนิค RFLP และ RAPD พบว่า เทคนิค RFLP สามารถจำแนกสายพันธุ์ลูกผสมของมะเขือเทศจากสปีชีส์เดียวกันได้ 16% และเทคนิค RAPD สามารถจักจำแนกได้มากที่สุดคือ 63%

Dallas (1988) ศึกษาสายพันธุ์ข้าวเนื่องจากการผสมตัวเอง (self-pollination) พบว่า สายพันธุ์เดียวกันจะมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เหมือนกัน และมีแบบแผนแตกต่างไปจากต่างสายพันธุ์กัน

สุปราณี (2538) ใช้เทคนิคไอโซไซม์ในการจำแนกและบ่งบอกสายพันธุ์ข้าวขึ้นน้ำและข้าวไร่อย่างละ 20 สายพันธุ์ พบว่า ข้าวขึ้นน้ำและข้าวไร่ สามารถจำแนกได้ 18 กลุ่ม เช่นเดียวกัน ส่วนสุลักษณ์ (2539) สามารถจำแนกสายพันธุ์ข้าวขึ้นน้ำจำนวน 40 สายพันธุ์ได้ 18 กลุ่ม

ป้าน (2539) ใช้เทคนิคไอโซไซม์และลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกข้าวพันธุ์พื้นเมืองกะเหรี่ยงจำนวน 64 สายพันธุ์ พบว่า การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา 14 ลักษณะสามารถจำแนกข้าวกะเหรี่ยงได้ 13 กลุ่มพันธุ์ ส่วนการใช้เทคนิคไอโซไซม์สามารถจำแนกสายพันธุ์ข้าวกะเหรี่ยงออกได้ 46 กลุ่มพันธุ์อย่างเด่นชัด และ ปณิตา (2540) สามารถจำแนกข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองจำนวน 70 ตัวอย่างพันธุ์ได้ 43 กลุ่มพันธุ์อย่างชัดเจน โดยใช้เทคนิคไอโซไซม์

อภิชาติและคณะ (2544) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองที่มีชื่อเหมือนกันคือ ปิ่นแก้ว ที่เก็บจากทุ่งรังสิตและอยุธยาจำนวน 34 สายพันธุ์ วิเคราะห์โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSLP จำนวน 36 ตำแหน่ง พบว่า สายพันธุ์ที่มีระดับพันธุกรรมคล้ายคลึงกันมากกว่า 80% มีเพียง 2 สายพันธุ์ ส่วนสายพันธุ์ที่เหลือส่วนมากมีระดับความคลายคลึงทางพันธุกรรมที่ต่ำกว่า 50% แสดงว่าข้าวชื่อ ปิ่นแก้ว มีความหลากหลายสูงมากจนไม่อาจสรุปได้ว่าเป็นพันธุ์เดียวกัน

Yu และ Nguye (1994) อ้างโดย สยาม (2544) ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของข้าวนาปี 9 สายพันธุ์ และข้าวนาปรัง 4 สายพันธุ์ โดยใช้ 42 ไพรเมอร์ พบว่า 80% ของไพรเมอร์ทั้งหมดเกิด polymorphism และพบว่าการเกิด polymorphism ของข้าวนาปีและนาปรังสายพันธุ์ Japonica มีสูงกว่า Indica

ปรีชา (2542) ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมระดับดีเอ็นเอของข้าวหอมพื้นเมือง 9 พันธุ์ โดยใช้เทคนิค RAPD ทดสอบกับ 6 ไพรเมอร์ พบว่า มีแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้นทั้งหมดรวม 42 แถบ มีขนาดตั้งแต่ 341 – 1400 คู่เบส และดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างระหว่างจีโนมของข้าวทั้ง 9 พันธุ์ มีจำนวน 23 แถบ (54%) และจากการประเมินระดับความหลากหลายของดีเอ็นเอพบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0.01 – 0.64

Qian และ Hong (2001) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวป่า (*Oryza granulata*) ทั้งภายใน และระหว่างกลุ่มประชากรจากประเทศจีน 5 กลุ่ม คือ จาก Yunan 3 กลุ่ม และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Hainan 2 กลุ่ม โดยใช้เทคนิค RAPD โดยสุ่มใช้ไพรเมอร์จำนวน 79 ไพรเมอร์ พบว่ามีเพียง 20 ไพรเมอร์ที่ตอบสนองต่อดีเอ็นเอต้นแบบและให้แถบดีเอ็นเอเกิดขึ้นทั้งหมดรวม 199 แถบ มีขนาดตั้งแต่ 220 – 2000 คู่เบส โดยมีจำนวน 61 แถบ (30.65%) ที่มีลักษณะ polymorphic และเมื่อนำผลการเกิดแถบดีเอ็นเอมาวิเคราะห์ด้วย cluster analysis (UPGMA) จะแสดง dendogram ที่แยกกลุ่มประชากรของ Yunan และ Hainan ออกจากกันอย่างชัดเจน

2.10 แนวทางในการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์ข้าวพื้นเมือง

จากปัญหาความเสื่อมทางพันธุกรรม หรือการสูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เป็นสาเหตุทำให้เชื้อพันธุ์ข้าวพื้นเมืองสูญหายไปเรื่อยๆ นั้น เราควรศึกษาแนวทางในการอนุรักษ์ที่เหมาะสม รูปแบบในการอนุรักษ์สามารถแบ่งได้สองรูปแบบดังนี้

1. การอนุรักษ์นอกสภาพธรรมชาติ (*ex situ* conservation) เช่น การอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์ (gene bank or long-term seed storage) การอนุรักษ์ในแปลงรวบรวมพันธุ์ (field conservation, field collection, field gene bank) ในรูปประชากร (in population, in bulk, mass reservoir of composite) ในหลอดแก้ว (*in vitro*) และในสภาพแช่แข็ง (cryopreservation) มีข้อดีคือ สามารถเก็บไว้ได้ระยะเวลานาน หรือรักษาเชื้อพันธุกรรมไว้ได้เมื่อเกิดเหตุการณ์ร้ายแรงบางอย่างเช่น โรคระบาด น้ำท่วม หรือสงคราม เช่น ประเทศเขมรพบว่าพันธุ์ข้าวดั้งเดิมได้สูญหายไปเกือบหมดจากหายนะของสงคราม ก็ได้พันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่เก็บไว้ที่ธนาคารพันธุ์ข้าวที่ IRRI มาทำการฟื้นฟูระบบการปลูกข้าวในประเทศ (เบญจวรรณ และกนก, 2542) แต่การอนุรักษ์นอกสภาพธรรมชาติก็มีข้อเสียคือ ทำให้พืชขาดวิวัฒนาการในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา

2. การอนุรักษ์ในท้องถิ่นเดิมหรือในสภาพธรรมชาติ (*in situ* conservation) เป็นการอนุรักษ์พันธุ์พืชไว้ในท้องถิ่นเดิมหรือในสภาพธรรมชาติเพื่อรักษาความหลากหลายของพันธุ์พืชทั้งภายในประชากรและระหว่างประชากรที่เป็นแหล่งทรัพยากรพันธุกรรมของพืชทางการเกษตรไว้ในท้องถิ่นโดยให้เกษตรกรหรือเจ้าของพื้นที่เป็นผู้มีส่วนร่วมในการอนุรักษ์ (Brush, 2000) โดยทั่วไปการอนุรักษ์พันธุ์พืชไว้ในท้องถิ่นเดิมมักจะพบในพืชพันธุ์ป่า ส่วนพืชปลูกนั้นมักจะเป็นการอนุรักษ์นอกถิ่นเดิม มีการเคลื่อนย้ายพันธุ์ไปปลูกที่อื่นหรืออาจเก็บไว้ใน genebank ซึ่งจะทำให้พืชขาดวิวัฒนาการในการปรับตัวต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นถ้าเราอนุรักษ์พืชปลูกไว้ในท้องถิ่นเดิม ในไร่นาหรือในระบบการเพาะปลูกจะทำให้พืชปลูกโดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชพันธุ์พื้นเมืองก็จะสามารถเจริญเติบโตและปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปตลอดเวลาได้ (Jarvis *et al.*, 2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.11 การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล RAPD โดยอาศัยเทคนิค PCR

Polymerase Chain Reaction (PCR) ค้นพบโดย Saiki *et al.* ในปี ค.ศ. 1985 เป็นเทคนิคในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยทำในหลอดทดลอง (*in vitro*) แบบซ้ำๆ กันหลายรอบ ซึ่งต้องอาศัยสารต่างๆ ได้แก่ double deionized water, buffer, $MgCl_2$, dNTP, primer, Taq DNA polymerase และ DNA template ผสมด้วยกันในอัตราส่วนที่เหมาะสม โดยปฏิกิริยาแต่ละรอบของ PCR จะประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. Denaturation เป็นกระบวนการที่ทำให้ดีเอ็นเอเป้าหมายสายคู่แยกจากกันเป็นสายเดี่ยว โดยอาศัยอุณหภูมิสูงประมาณ 90 – 95 องศาเซลเซียส
2. Primer annealing เป็นกระบวนการที่ไพรเมอร์เข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอเป้าหมายสายเดี่ยวที่เป็นแม่พิมพ์ (DNA template) อาศัยอุณหภูมิประมาณ 40 – 60 องศาเซลเซียส
3. Primer extension เป็นกระบวนการต่อลำดับนิวคลีโอไทด์เข้าที่ปลาย 3′ ของไพรเมอร์ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ Taq DNA polymerase อาศัยอุณหภูมิประมาณ 72 องศาเซลเซียส ปัจจุบัน Taq DNA polymerase สามารถทนอุณหภูมิสูงได้ จากการสกัด จากแบคทีเรียที่อาศัยในน้ำพุร้อนชื่อว่า *Thermus aquaticus* โดย Saiki *et al.* ในปี ค.ศ. 1988 ทำให้สามารถแก้ปัญหาการเสียสภาพของเอนไซม์เนื่องจากอุณหภูมิสูงได้

เมื่อปฏิกิริยาครบ 1 รอบ จะได้ดีเอ็นเอเป้าหมายเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่อทำซ้ำกันหลายๆ รอบ จะมีปริมาณดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น 2^n เท่า เมื่อ n เป็นจำนวนรอบ โดยปัจจัยต่างๆ ต้องมีประสิทธิภาพ 100%

เทคนิค Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) ถูกคิดค้นโดย Willium *et al.* ในปี ค.ศ. 1990 เป็นเครื่องหมายพันธุกรรม (genetic markers) เพื่อบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต เป็นวิธีวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) โดยอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอผ่านปฏิกิริยาลูกโซ่ (PCR) ในหลอดทดลองโดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม (random primer) และอุณหภูมิในช่วง primer annealing ประมาณ 37 – 40 องศาเซลเซียส เพื่อเพิ่มดีเอ็นเอที่ให้มีปริมาณมาก (ธีระชัย, 2540) ซึ่ง RAPD ใช่หลักการที่ว่าดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันในการเรียงลำดับของเบส (base) ได้แก่ adenine (A), thymine (T), guanine (G) และ cytosine (C) จึงทำการสุ่มตัวแทนบริเวณใดบริเวณหนึ่งบนสายดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณเช่นเดียวกับกระบวนการ DNA replication ภายในเซลล์ (วัชรี และมนตรี, 2536) จากนั้นนำดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้วมาตรวจสอบแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีส (electrophoresis) เช่นวิธี agarose gel electrophoresis แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ และนำไปดูแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายใต้แสง UV (Newton และ Graham, 1994 และ สุรินทร์, 2545) ดังนั้นสิ่งมีชีวิตที่มีการเรียงลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ของเบสที่ต่างกันย่อมมีแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอแตกต่างกัน และสิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมควรจะมีแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่คล้ายคลึงกัน

แต่ผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่ PCR ของเทคนิค RAPD เมื่อนำมาตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีส บางครั้งพบว่า แถบดีเอ็นเอที่ได้มีความคมชัดต่ำ และแถบดีเอ็นเอบางแถบไม่สามารถทำซ้ำได้ (non reproducible) ซึ่ง Anuntalabhochai et al. (2000) ได้รายงานว่าเทคนิค High Annealing Temperature-Random Amplified Polymorphic DNA (HAT-RAPD) โดยใช้อุณหภูมิในช่วง primer annealing ประมาณ 46 – 62 องศาเซลเซียส ทำให้ได้แถบดีเอ็นเอจำนวนมาก มีความคมชัดสูง (high resolution) และแถบดีเอ็นเอเกิดซ้ำได้ (reproducible)

ปัจจุบันเทคนิค RAPD เป็นเทคนิคที่ใช้ในการบอกความแตกต่างของสายพันธุ์อย่างกว้างขวางเนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่าย ใช้เวลาน้อย สะดวก และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการบ่งบอกความแตกต่างทางพันธุกรรมตามหลักอนุกรมวิธานได้หลายระดับ เช่น ระดับ genera, species และ cultivar เป็นต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved