บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับข้าว

เชื้อพันธุ์ข้าว

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อพันธุ์ข้าวเป็นพื้นฐานสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ยิ่งเชื้อพันธุ์ข้าวมีฐานพันธุกรรม (genetic base) กว้างและแปรปรวนมากเท่าใด โอกาสและความสำเร็จที่จะได้พันธุ์ตามต้องการก็จะมีมากขึ้น ประเทศไทยเป็นแหล่งทรัพยากรเชื้อพันธุ์ข้าวที่สำคัญโดยเฉพาะพันธุ์ข้าวพื้นเมือง หน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้ทำการเก็บรวบรวมเชื้อพันธุ์ข้าวจากแหล่งต่างๆ ทั่วประเทศได้จำนวน 23,903 ตัวอย่างซึ่งเป็นข้าวพื้นเมืองถึง 17,093 ตัวอย่าง และมีชื่อไม่ซ้ำกันจำนวน 5,928 ตัวอย่าง (วิไลลักษณ์, 2547)

ข้าวจัดอยู่ใน Genus *Oryza* ซึ่งมีอยู่ประมาณ 20 species ข้าวที่ขึ้นอยู่ในท้องที่ต่างๆ ของโลกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ข้าวเอเชีย (*Oryza sativa*) ซึ่งปลูกกันทั่วไปทั้งในเอเชีย อเมริกา ออสเตรเลีย แอฟริกา ยุโรป และข้าวแอฟริกา(*Oryza glaberrima*) ซึ่งปลูกเฉพาะทางด้านตะวันตกของทวีปแอฟริกาเท่านั้น รวมถึงข้าวป่า (wild rice) ซึ่งเป็นข้าวที่เกิดขึ้นและเจริญเติบโตเองตามธรรมชาติในประเทศต่างๆ ของทุกทวีปที่ปลูกข้าว ซึ่งข้าวป่าแบ่งตามลักษณะการเจริญเติบโตออกได้เป็น 2 ชนิดคือ ชนิดข้ามปี เช่น *Oryza perennis* หรือ *Oryza rufipogon* และชนิดปีเดียว เช่น *Oryza nivara* (Maclean *et al*., 2002) ปัจจุบันข้าวที่ปลูกบริโภคมีอยู่ 2 ชนิด คือ ข้าวเอเชียและข้าวแอฟริกา ข้าวปลูกทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันทางลักษณะทางนิเวศวิทยาและสัณฐานวิทยา ข้าวปลูกเอเชียมีความสามารถในการปรับตัวค่อนข้างสูง มีวิวัฒนาการภายใต้สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันทั้งด้านภูมิศาสตร์และภูมิอากาศที่หลากหลาย ทำให้เกิดพันธุ์ข้าวมากมาย เนื่องจากข้าวปลูกเอเชียมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างมาก จึงสามารถปลูกได้ตั้งแต่ที่ดอนที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลปานกลางมากกว่า 1,500 เมตร จนถึงพื้นที่ลุ่มที่มีระดับน้ำลึก 1-5 เมตร จากการจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา รวมทั้งการปรับตัวในสภาพแวดล้อมที่ต่างกันตามลักษณะภูมิศาสตร์ (กรมวิชาการเกษตร, 2547)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สามารถแบ่งข้าวปลูกเอเชียออกได้เป็น 3 กลุ่มคือ *indica*, *japonica* และ *javanica* (Matsuo, 1952 และ Morinaga, 1979 อ้างโดย Watanabe, 1997)

1. ข้าวปลูกกลุ่ม *indica* ปลูกอย่างแพร่หลายในเขตร้อนโดยเฉพาะในประเทศอินเดีย ศรีลังกา ไทย มาเลเซีย และประเทศใกล้เคียง มีรูปร่างเมล็ดเรียวยาว ส่วนมากเมล็ดไม่มีหาง มีขนบนเปลือกเมล็ดเล็กน้อย เมล็ดร่วงง่าย แผ่นใบสีเขียวอ่อน มีขนที่แผ่นใบมาก มุมของยอดแผ่นใบตก การแตกกอมาก ทรงกอค่อนข้างแผ่ ใบธงยาว-แคบ ลำต้นอ่อน ต้นสูง มีรวงมาก แต่น้ำหนักรวงเบา รวงยาวปานกลาง จำนวนระแง้ปานกลาง ความหนาแน่นของเมล็ดปานกลาง ไม่ทนทานต่ออุณหภูมิต่ำ ทนทานต่อความแห้งแล้ง ทนทานต่อ potassium chlorate ปฏิกิริยาต่อฟีนอลเป็นบวก (positive)

2. ข้าวปลูกกลุ่ม *japonica* ปลูกมากในเขตอบอุ่นส่วนมากในญี่ปุ่น จีน เกาหลีและไต้หวัน มีลักษณะเมล็ดสั้นและเมล็ดค่อนข้างกลม เมล็ดส่วนมากไม่มีหางแต่ถ้าเป็นพันธุ์พื้นเมืองจะมีหาง มีขนบนเปลือกเมล็ดมาก เมล็ดร่วงยาก แผ่นใบสีเขียวเข้ม ใบแคบ ไม่มีขนที่แผ่นใบ มุมของยอดแผ่นใบตั้ง การแตกกอค่อนข้างมาก ทรงกอตั้ง ใบธงสั้น-แคบ ลำต้นแข็ง ต้นเตี้ย มีรวงมากและรวงหนัก รวงสั้น จำนวนระแง้น้อย เมล็ดจับกันแน่น ทนทานต่ออุณหภูมิต่ำ ไม่ทนทานต่อความแห้งแล้ง ไม่ทนทานต่อ potassium chlorate ปฏิกิริยาต่อฟีนอลเป็นลบ (negative)

3. ข้าวปลูกกลุ่ม *javanica* ส่วนใหญ่พบในอินโดนีเซีย ตามไหล่เขาของฟิลิปปินส์และตามภูเขาในประเทศมาดากัสการ์บ้าง มีเมล็ดใหญ่และส่วนใหญ่มีหาง มีขนบนเปลือกเมล็ดมาก เมล็ดร่วงยาก แผ่นใบสีเขียวอ่อน ใบกว้าง มีขนที่แผ่นใบน้อย มุมของยอดแผ่นใบตั้ง แตกกอน้อย ทรงกอตั้ง ใบธงยาว-กว้าง ลำต้นแข็ง ต้นสูง มีรวงน้อย แต่รวงยาวและหนัก จำนวนระแง้มาก ความหนาแน่นของเมล็ดปานกลาง ทนทานต่ออุณหภูมิต่ำ มีทั้งที่ทนทานและไม่ทนทานต่อความแห้งแล้ง ปฏิกิริยาต่อฟีนอลเป็นลบ (negative)

ชนิดต่างๆ ของพันธุ์ข้าว

เราสามารถแบ่งข้าวออกได้เป็นหลายรูปแบบขึ้นอยู่กับลักษณะบางประการของข้าว

1. การแบ่งพันธุ์ตามรูปร่างของเมล็ด

ข้าวมีขนาดและรูปร่างของเมล็ดแตกต่างกันอย่างมากทั้งในข้าวเปลือกและข้าวกล้อง จึงเป็นลักษณะที่ถูกนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์ข้าว โดยเมล็ดยาวกว่า 6.6 มิลลิเมตรเป็น long grain เมล็ดยาว 5.5 - 6.6 มิลลิเมตรเป็น medium grain และเมล็ดยาวน้อยกว่า 5.5 มิลลิเมตรเป็น short grain (Adair, 1973 อ้างโดย Sato, 1997)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การแบ่งพันธุ์ข้าวตามการบริโภค แบ่งได้เป็น

2.1 ข้าวเหนียว (glutinous rice หรือ waxy rice) เมล็ดข้าวสารจะมีสีขาวขุ่น เมื่อนึ่งแล้วได้ข้าวสุกที่เหนียวจับตัวติดกันเหนียวแน่นและมีลักษณะใส ข้าวเหนียวประกอบด้วยแป้ง amylopectin เป็นส่วนใหญ่ มีแป้ง amylose อยู่เพียงเล็กน้อยหรือไม่มีเลย

2.2 ข้าวเจ้า (non-glutinous rice) เมล็ดข้าวสารจะมีสีขาวใส เมื่อหุงหรือนึ่งสุกแล้วจะได้ข้าวสุกที่มีสีขาวขุ่นและร่วนกว่าข้าวเหนียว ข้าวเจ้ามีแป้ง amylose ประมาณ 7 – 33 % ที่เหลือเป็น amylopectin

เมื่อย้อมสีด้วยสารละลายไอโอดีน (I_2 - KI) แป้งข้าวเหนียวจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง ในขณะที่แป้งข้าวเจ้าจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

3. การแบ่งพันธุ์ข้าวตามลักษณะการตอบสนองต่อช่วงแสง

สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 พวกใหญ่ๆ (กรมวิชาการเกษตร, 2547) คือ

3.1 พันธุ์ข้าวไวต่อช่วงแสง เป็นพันธุ์ข้าวที่ต้องการช่วงแสงหรือช่วงระยะเวลากลางวันสั้นเพื่อที่จะเปลี่ยนการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ มาเป็นการเจริญทางสืบพันธุ์คือสร้างช่อดอกและเมล็ด ข้าวพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่เป็นข้าวประเภทนี้ พันธุ์ข้าวไวต่อช่วงแสงแบ่งออกเป็น

3.1.1 พันธุ์ข้าวเบา เป็นพันธุ์ข้าวที่ต้องการช่วงแสงสั้นกว่า 12 ชั่วโมงไม่นานนักในการเริ่มสร้างช่อดอก ในไทยพันธุ์ข้าวเบาจะออกดอกในช่วงเดือนกันยายน – กลางเดือนตุลาคม เป็นพันธุ์ข้าวที่มีอายุสุกแก่ไวโดยกำหนดเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 90 – 100 วัน

3.1.2 พันธุ์ข้าวกลาง เป็นพันธุ์ข้าวที่ต้องการช่วงแสงสั้นมากขึ้นในการสร้างช่อดอก ในไทยพันธุ์ข้าวกลางจะออกดอกในช่วงปลายตุลาคม – พฤศจิกายน เป็นพันธุ์ข้าวที่มีอายุสุกแก่ปานกลาง โดยมีกำหนดเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 100 – 120 วัน

3.1.3 พันธุ์ข้าวหนัก เป็นพันธุ์ข้าวที่ต้องการช่วงแสงสั้นมากในการสร้างช่อดอก ในไทยพันธุ์ข้าวหนักจะออกดอกในช่วงเดือนธันวาคม – มกราคม เป็นพันธุ์ข้าวที่มีอายุสุกแก่ช้า โดยมีกำหนดเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 120 วันขึ้นไป

3.2 พันธุ์ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง เป็นพันธุ์ข้าวที่ช่วงแสงไม่มีอิทธิพลต่อการสร้างช่อดอก จะออกดอกตามอายุของแต่ละพันธุ์ค่อนข้างแน่นอน ไม่ว่าจะปลูกในช่วงวันยาวหรือวันสั้นก็ตามจึงสามารถปลูกได้ทุกฤดูกาล เช่น ข้าวพันธุ์ปรับปรุงและข้าวบาสมาติ

4. การแบ่งพันธุ์ข้าวตามระดับน้ำในพื้นที่ปลูกข้าว

สามารถแบ่งออกเป็น 4 พวกใหญ่ๆ คือ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.1 ข้าวไร่ คือพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกในสภาพนาที่ไม่มีน้ำขังและไม่มีคันนากั้นน้ำ อาจเป็นพื้นที่การปลูกพืชไร่หรือพื้นที่ตามไหล่เขา พันธุ์ข้าวเหล่านี้จะอาศัยน้ำฝนเพื่อการเจริญเติบโต ส่วนมากเป็นพันธุ์ข้าวไวต่อช่วงแสง

4.2 ข้าวนาสวนนาน้ำฝน คือพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกในสภาพนาที่มีน้ำขังโดยคันนากั้นน้ำ พันธุ์ข้าวเหล่านี้จะอาศัยน้ำฝนเพื่อการเจริญเติบโต เป็นพันธุ์ข้าวไวต่อช่วงแสง

4.3 ข้าวนาสวนนาชลประทาน คือพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกในสภาพที่มีน้ำขัง แต่เป็นพื้นที่ซึ่งสามารถควบคุมระดับน้ำได้ ส่วนใหญ่จะอาศัยน้ำจากระบบชลประทาน เป็นพันธุ์ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง

4.4 ข้าวนาน้ำลึกและข้าวขึ้นน้ำ ข้าวน้ำลึกคือพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกในสภาพนาที่มีระดับน้ำสูง 50 เซนติเมตรขึ้นไปจนถึงระดับน้ำลึกไม่เกิน 100 เซนติเมตร เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 เดือน โดยต้นข้าวระยะ 1 - 3 เดือนจะเจริญเติบโตในระดับน้ำตื้นหลังจากนั้นระดับน้ำจะสูงขึ้น ส่วนข้าวขึ้นน้ำคือพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกในสภาพนาที่มีระดับน้ำในนาสูงมากกว่า 100 เซนติเมตร บางพันธุ์สามารถปลูกได้ในระดับน้ำสูงถึง 5 เมตร ความสูงของพันธุ์ข้าวจะเปลี่ยนแปลงไปตามระดับน้ำ เพราะพันธุ์ข้าวพวกนี้มีความสามารถยืดปล้องได้ดี

พันธุ์ข้าวในระบบนิเวศการปลูกข้าวไร่

พื้นที่การปลูกข้าวไร่ทั่วโลกมีอยู่ประมาณ 87 ล้านไร่หรือประมาณร้อยละ 13 ของพื้นที่ปลูกข้าวทั่วโลก พื้นที่การปลูกข้าวไร่ส่วนมากจะเป็นพื้นที่ตามไหล่เขาที่มีความลาดเอียงหรือบนภูเขา ส่วนใหญ่จะปลูกสำหรับการบริโภคเป็นอาหารในครัวเรือน ผลผลิตเฉลี่ย 150 – 300 กิโลกรัมต่อไร่ ขึ้นกับสภาพทางกายภาพและทางเคมีของดิน ปริมาณการแพร่กระจายของน้ำฝน ในประเทศไทยพื้นที่การปลูกข้าวไร่มีอยู่ประมาณ 1.2 ล้านไร่หรือประมาณร้อยละ 3 - 4 ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งประเทศ พื้นที่การปลูกข้าวไร่จะกระจัดกระจายตามไหล่เขา ภูเขาสูงของภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พันธุ์ข้าวไร่มีความหลากหลายมากและส่วนมากเป็นพันธุ์ปนไม่บริสุทธิ์ พันธุ์ข้าวไร่ที่ทางราชการแนะนำให้เกษตรกรปลูกเป็นพันธุ์ที่ได้รวบรวมจากแปลงเกษตรกรมาศึกษาพันธุ์และคัดพันธุ์บริสุทธิ์ ปัจจุบันมีพันธุ์ข้าวไร่ที่แนะนำให้เกษตรกรปลูกจำนวน 7 พันธุ์ เป็นข้าวเจ้า 4 พันธุ์คือ ดอกพะยอม กู้เมืองหลวง น้ำรู เจ้าฮ่อ และข้าวเหนียว 3 พันธุ์คือ ซิวแม่จัน ขาวโป่งไคร้ อาร์ 258 (กรมวิชาการเกษตร, 2547)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

แหล่งพันธุกรรมพืชและการใช้ประโยชน์

ในปัจจุบันแหล่งของพันธุกรรมพืช เป็นความแตกต่างทางพันธุกรรมที่สามารถใช้ให้เป็นประโยชน์ได้ในอนาคต แหล่งของพันธุกรรมพืชประกอบไปด้วย พืชปลูกที่คล้ายกับพืชป่า (wild relatives of crops) พืชป่า (wild species) พันธุ์ดั้งเดิม (traditional varieties) หรือพันธุ์พื้นเมือง (landraces) พันธุ์ที่ปลูกเพื่อการค้า (commercial cultivars) และลูกผสมหรือพันธุ์ปรับปรุง (hybrids or breeding lines) เราควรจะอนุรักษ์แหล่งของพันธุกรรมพืชเหล่านี้ไว้ เพราะพืชเหล่านี้เป็นแหล่งของความแตกต่างทางพันธุกรรมที่เราสามารถนำไปใช้เป็นประโยชน์ได้ (Vicente de and Fulton, 2003)

แหล่งพันธุกรรมของข้าวถูกเก็บรักษาและอนุรักษ์ไว้ โดยเป็นแหล่งของยีนที่ใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีลักษณะตามที่ต้องการ และยังใช้เป็นประโยชน์ในงานปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต (Kumagai, 1997) ผลของการคัดเลือกโดยธรรมชาติและการคัดเลือกโดยมนุษย์เป็นเวลานาน ทำให้พันธุ์พื้นเมืองมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพการเพาะปลูกในแต่ละพื้นที่ แต่การพัฒนาอย่างรวดเร็วของเทคโนโลยีการผลิตข้าวและความต้องการพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพ ทำให้พันธุ์พื้นเมืองจำนวนมากสูญหายไป และถูกแทนที่ด้วยพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง (HYVs) เช่นในประเทศจีนมีการปลูกข้าวต้นกึ่งเตี้ยพันธุ์ IR เพิ่มมากขึ้น ทำให้พันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ปรับปรุงที่มีต้นสูงที่เคยปลูกมาก่อนสูญหายไป ดังนั้นจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องมีการรวบรวมและเก็บรักษาแหล่งพันธุกรรมเหล่านี้ไว้ เพื่อใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวในอนาคต และแหล่งพันธุกรรมที่ทำการอนุรักษ์ไว้นั้นควรมีการวิเคราะห์และบันทึกข้อมูลลักษณะต่างๆ ที่จะสามารถใช้บ่งชี้ว่าเป็นลักษณะของพันธุ์นั้นๆ ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะอื่นๆ ที่สามารถตรวจวัดได้ง่าย จะเป็นข้อมูลแรกๆ ที่ทำการบันทึก นอกจากนี้ยังมีข้อมูลของลักษณะทางสรีรวิทยา ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อม เช่นการต้านทานโรค แมลง การทนทานต่ออากาศหนาว และลักษณะต่างๆ เกี่ยวกับผลผลิต (Uchiyamada, 1997)

ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีทางการเกษตรทำให้มีพืชพันธุ์ใหม่ๆ ที่มีความสามารถในการปรับตัวในด้านต่างๆ มากขึ้น ทั้งทนทานต่อโรคและปัจจัยเสี่ยงต่างๆ มีความสามารถในการใช้น้ำธาตุอาหารได้ดีกว่าและให้ผลผลิตที่สูงกว่า ซึ่งพันธุ์สมัยใหม่นี้ได้เข้ามาแทนที่พืชพันธุ์พื้นเมืองที่มีความหลากหลายมาก ทำให้พันธุ์พื้นเมืองเริ่มสูญหายไป จึงทำให้มีการอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมพืชเพื่อรักษาพันธุ์พืชไว้ใช้ประโยชน์ในอนาคต การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ

1. *ex situ* เป็นการรักษาแหล่งพันธุกรรมใน gene bank สวนพฤกษศาสตร์ และศูนย์วิจัยและสถานีทดลองทางการเกษตรต่างๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. *in situ* เป็นการเก็บรักษาแหล่งพันธุกรรมให้คงอยู่สภาพเดิมในธรรมชาติ หรือในแหล่งปลูกเดิม (on-farm) ทั้งการให้เกษตรกรรักษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์พืชในแปลงของตนและส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกพืชพันธุ์เดิมต่อไป

พืชพันธุ์พื้นเมืองท้องถิ่นและข้าวพันธุ์พื้นเมือง

พืชพันธุ์พื้นเมืองท้องถิ่น (local, landraces, traditional, folk or farmer varieties) เป็นพืชที่มี ลักษณะทางพันธุกรรมแบบ heterogeneous มีรูปร่างลักษณะภายนอกที่เห็นได้ชัดเจนและจำได้ สามารถจำแนกออกจากกันได้โดยอาศัยลักษณะเฉพาะทางภายนอก และชาวนามีชื่อเรียกพันธุ์ของตนเองโดยเฉพาะ พันธุ์พื้นเมืองจะมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพการเกษตรแบบดั้งเดิม และพันธุ์พื้นเมืองที่แตกต่างกันจะปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมท้องถิ่นได้แตกต่างกันด้วย เช่นการปรับตัวในสภาพดินที่ต่างกัน มีระยะเวลาสุกแก่ ความสูง ฤดูการเพาะปลูก โรคแมลง และลักษณะอื่นๆ แตกต่างกัน (Harlan, 1975 และ Harlan, 1992) พันธุ์พื้นเมืองมีวิวัฒนาการมาจากการเกษตรที่มีการให้การเขตกรรมที่ต่ำมาก ไม่มีการให้ปุ๋ย ไม่มีการป้องกันกำจัดโรคและแมลง ต้องผ่านการคัดเลือกในสภาพที่มีความแปรปรวนของสภาพแวดล้อม ภูมิอากาศ หรือการระบาดของโรคและแมลง ทำให้ต้องดำรงชีวิตอยู่เพื่อการอยู่รอดในธรรมชาติมากกว่าที่จะให้ผลผลิต (Frankel *et al*., 1995 และ Thurston *et al*., 1999)

ข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีลักษณะภายนอกที่แตกต่างกันมากมาย แต่ก็สามารถแยกออกเป็นกลุ่มได้และมีชื่อประจำพันธุ์แตกต่างกันไปตามแต่ละท้องถิ่น (Harlan, 1992) ชาวนาจะตั้งชื่อพันธุ์แตกต่างกันไปตามลักษณะเด่นที่เห็น บางครั้งชื่อพันธุ์ที่ชาวนาตั้งขึ้นต่างกันพบว่าเป็นพันธุ์เดียวกัน ในทางตรงกันข้ามชื่อพันธุ์เดียวกันอาจเป็นคนละพันธุ์ (Watabe, 1967) ในประเทศไทยนั้นทางศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดพันธุ์ข้าวแห่งชาติได้ทำการรวบรวมพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทยทั้ง 76 จังหวัดและสามารถจำแนกชื่อที่ไม่ซ้ำกันได้ทั้งหมด 5,928 ชื่อพันธุ์ และจากความหลากหลายของพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทยคาดว่าน่าจะมีพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทยมากกว่านี้เพราะยังมีพันธุ์ข้าวพื้นเมืองอีกมากที่ยังไม่ได้มีการศึกษาหรือรวบรวมพันธุ์ไว้ พันธุ์ข้าวพื้นเมืองของไทยจะมีการตั้งชื่อพันธุ์ตามความพอใจของเจ้าของ จะตั้งตามสถานที่ที่พบหรือที่เก็บมา ตามลักษณะรูปพรรณสัณฐานที่พบโดยไม่มีการประเมินคุณลักษณะประจำพันธุ์ทางด้านวิชาการมาก่อน ดังนั้นจึงมีโอกาสที่จะเป็นพันธุ์ที่ซ้ำกันได้ (ฉวีวรรณ, 2543) เช่นในภาคเหนือของไทยพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ปลูกมีชื่อเรียกแตกต่างกันอย่างมากมาย เช่นข้าวแก้วขี้แฮะ (สูงแต่ต้นแข็งไม่ล้ม) ข้าวลังเก๋า ข้าวมะตาล (เหนียวติดรวงไม่หลั่นแต่ข้าวสารเมล็ดใหญ่ รสชาติอร่อย) ข้าวมะน้ำ ข้าวลายน้อย ข้าวน้ำฝาง ข้าวผาหมี (ข้าวดอก) ข้าวควายหาย (รสชาติอร่อย) ข้าวดอกดู่ (ข้าวหอม) ข้าวช้างดอ ข้าวซิวตอง (ข้าวแดงหอม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รสชาติอร่อย) ซึ่งความหลากหลายของชื่อพันธุ์ดั้งเดิมเหล่านี้หมายถึงความหลากหลายของลักษณะประจำพันธุ์อย่างมากมาย ปัจจุบันข้าวพันธุ์พื้นเมืองได้สูญหายไปมาก เพราะเกษตรกรนิยมปลูกข้าวพันธุ์ใหม่ที่ให้ผลผลิตสูงทำให้พื้นที่ปลูกข้าวพันธุ์ลดลง ความแตกต่างของพันธุ์ข้าวลดลง ซึ่งทำให้ความหลากหลายของพันธุ์ข้าวลดลงด้วย ความหลากหลายของพันธุ์ข้าวพื้นเมืองเป็นแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญในการสร้างและพัฒนาสายพันธุ์ใหม่ ดังนั้นจึงต้องมีการเก็บรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์พื้นเมืองไว้ก่อนที่พันธุกรรมจะสูญหายไป (ดำเนิน, 2543)

ความหลากหลายทางพันธุกรรม

ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) คือความแตกต่างของสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งจะมีหน่วยพันธุกรรมหรือยีนรูปแบบต่างๆ ที่แตกต่างกันไปในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ความหลากหลายทางพันธุกรรมคือความแตกต่างในรูปแบบของยีน (alleles) บนโครโมโซม (loci) ระหว่างหลายๆ loci ระหว่างต้นพืชเดี่ยวภายในประชากรหรือระหว่างประชากร (Brown *et al*., 1990) ความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นโครงสร้างพื้นฐานของความหลากหลายทางนิเวศวิทยาและความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต (Cox and Wood, 1999) ความหลากหลายทางพันธุกรรมประเมินได้จากความแตกต่างทางลักษณะสัณฐานวิทยา (morphological), ความแตกต่างทางชีวเคมี (biochemical) และความแตกต่างในระดับดีเอ็นเอ (molecular) (Chawla, 2000) และด้วยความก้าวหน้าทาง molecular genetic ในปัจจุบันทำให้สามารถวัดความหลากหลายได้ถึงในระดับยีน การวัดความหลากหลายของยีนทั้ง DNA sequences และ DNA markers ทั้งภายในและระหว่างประชากรนั้น ช่วยให้เข้าใจโครงสร้างและ dynamics ของความหลากหลายด้วย (Rerkasem and Rerkasem, 2002)

ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) ของสิ่งมีชีวิตทั้งทางปริมาณและคุณภาพนั้น ในการจำแนกความแตกต่างระหว่างและภายในสปีชีส์ (between and within species) ทั้งระหว่างและภายในประชากร (between and within populations) หรือระหว่างแต่ละตัวหรือต้น (between individuals) สามารถใช้เครื่องหมายหรือ marker ในการบอกความแตกต่างซึ่งมีอยู่ 2 ประเภท (สุรินทร์, 2545) คือ

1. เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (Morphological marker) เป็นการบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตโดยเปรียบเทียบลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยาหรือทางสรีรวิทยา ซึ่งลักษณะเหล่านี้มักจะขึ้นกับสภาพแวดล้อมทำให้ข้อมูลที่ได้ไม่แม่นยำหรือผิดพลาดได้ แต่การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยายังเป็นสิ่งที่ต้องทำเป็นอันดับแรก แล้วจึงใช้วิธีอื่นๆ ช่วยให้ข้อมูลที่ได้สมบูรณ์ขึ้นในกรณีที่ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวไม่สามารถใช้บอกความแตกต่างได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ข้อดีของวิธีนี้คือสามารถทำได้ง่าย ใช้เครื่องมือและขั้นตอนที่ง่าย และเป็นการวัดลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยาโดยตรง แต่วิธีนี้ผู้ใช้ต้องมีความรู้และเชี่ยวชาญในสิ่งมีชีวิตที่ศึกษา อีกทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหล่านี้ยังเปลี่ยนแปลงไปตามปัจจัยของสภาพสิ่งแวดล้อมและยังแปรปรวนไปตามระยะการเจริญเติบโตและจำนวนของลักษณะที่ถูกจำกัด

ปรีชา (2538) ได้ศึกษาความหลากหลายของพันธุกรรมของข้าวไร่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือทั้งที่ทราบชื่อและไม่ทราบชื่อจำนวน 42 ตัวอย่าง โดยได้นำมาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นข้าวและเมล็ด 12 ลักษณะ พบว่าสามารถแยกเป็นพันธุ์ข้าวไร่ได้ 16 พันธุ์ แต่มีบางตัวอย่างที่เป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากแปลงเดียวกัน เมื่อดูจากรูปพรรณสัณฐานของเมล็ดคล้ายกันมาก แต่เมื่อนำมาปลูกเพื่อประเมินพันธุ์พบว่าเป็นคนละพันธุ์

ในการศึกษาของ Khampheng (2003) ได้ทำการสำรวจ richness และความหลากหลายของข้าวพันธุ์ข้าวพื้นเมืองใน 3 หมู่บ้านของจังหวัดหัวพันสาธารณรัฐประชาชนลาว พบพันธุ์ข้าวที่ปลูกใน 3 หมู่บ้านรวม 19 พันธุ์ จำนวนพันธุ์ที่ปลูกต่อครัวเรือนมี 1 - 5 พันธุ์ต่อครัวเรือนหาความมั่งคั่งของพันธุ์จากค่า Margalef index พบว่ามีค่าตั้งแต่ 1.48 - 2.63 และพันธุ์ข้าวใหม่ๆ ได้มาจากหมู่บ้านใกล้เคียงโดยการให้หรือแลกเปลี่ยนผ่านเพื่อนหรือเครือญาติ และพบว่าพันธุ์เหล่านี้มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ มีความหลากหลายสูงระหว่างข้าวที่มีชื่อพันธุ์เดียวกันและภายในประชากรที่คัดเลือกและเก็บรักษาโดยเกษตรกรแต่ละราย การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชจากลักษณะภายนอกที่มองเห็นทำให้เข้าใจถึงความหลากหลายของพืชในระดับแปลงเกษตรกรได้อย่างรวดเร็ว และควรทำการยืนยันว่าลักษณะความหลากหลายที่พบจะมีการสืบทอดสู่ชั่วต่อไปได้ (progeny test) และควรวิเคราะห์พันธุกรรมระดับโมเลกุลซึ่งจะบอกได้ถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มองไม่เห็น

2. เครื่องหมายทางโมเลกุล (Molecular marker) มีอยู่ 2 ประเภทคือ

2.1 เครื่องหมายโปรตีน (Protein marker) เป็นการใช้ความแตกต่างของโมเลกุลของโปรตีน รูปแบบของเอนไซม์บางชนิดหรือไอโซไซม์ต่างๆ ข้อดีของการตรวจสอบโปรตีนคือสามารถตรวจได้หลายตำแหน่ง ค่าใช้จ่ายไม่สูงมาก และแถบของโปรตีนหรือไอโซไซม์นี้ยังมีการข่มร่วมกันแบบ co-dominant ช่วยให้แยกความแตกต่างระหว่างแถบโปรตีนแบบ homozygous และ heterozygous ได้

ป่าน (2539) ได้จำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ปลูกบนที่สูงโดยชุมชนกระเหรี่ยง จำนวน 64 ตัวอย่าง ร่วมกับพันธุ์ส่งเสริม 4 พันธุ์ และข้าวญี่ปุ่น 1 พันธุ์ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการแยกแยะลักษณะทางไอโซไซม์โดยวิธี electrophoresis ในการจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ และความสัมพันธ์กับข้าว *japonica* พร้อมทั้งประเมินลักษณะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลผลิต พบว่าการใช้ลักษณะทางสัณฐาน 14 ลักษณะสามารถจำแนกความแตกต่างระหว่าง *indica* กับ *japonica* ได้อย่างชัดเจน และเมื่อย้อมด้วยเอนไซม์ 6 ชนิดมีเอนไซม์ 4 ชนิดที่สามารถแยกพันธุ์ข้าวภายในกลุ่มที่ไม่สามารถจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานออกจากกันได้อย่างเด่นชัด โดยส่วนของใบให้ผลการย้อมสีที่แยกแยะความแตกต่างของพันธุ์ได้ดีกว่าส่วนรากและเมล็ด ข้าวพันธุ์กระเหรี่ยง 64 ตัวอย่างสามารถแยกได้ 46 กลุ่มพันธุ์เมื่อย้อมด้วยเอนไซม์ 4 ชนิด แต่ไม่มีพันธุ์ใดที่จัดอยู่ในกลุ่ม *japonica*

ปณิตา (2540) ได้จำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ข้าว โดยวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์โดยเทคนิค electrophoresis ของข้าวไร่พันธุ์พื้นเมือง 68 ตัวอย่างร่วมกับพันธุ์ส่งเสริม 2 พันธุ์ โดยใช้รูปแบบของเอนไซม์ 6 ชนิด พบว่ามีเอนไซม์ 5 ชนิดที่สามารถจำแนกข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองออกได้ 43 กลุ่มพันธุ์อย่างเด่นชัด

แต่การตรวจสอบโปรตีนหรือไอโซไซม์มีข้อจำกัดคือ จำนวนยีนที่ตรวจสอบได้ยังมีไม่มาก ไม่กระจายครอบคลุมทั้งจีโนม ต้องเลือกเนื้อเยื่อและระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ นอกจากนี้โปรตีนและไอโซไซม์ยังสูญเสียสภาพธรรมชาติได้ง่าย จึงต้องวิเคราะห์ผลในเวลาจำกัด ไม่สามารถเก็บตัวอย่างไว้ได้นาน

2.2 เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) การเกิดความแปรปรวน (variation) ของ nucleotide ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ หรือการเกิด polymorphism ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ ทำให้สามารถใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายในการหาความหลากหลายได้ การตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอมีข้อดีกว่าการตรวจสอบโปรตีนคือ โมเลกุลของดีเอ็นเอมีความเสถียรกว่าจึงเก็บไว้ได้นาน สามารถวิเคราะห์จากตัวอย่างที่ถูกเก็บไว้เป็นเวลานานได้ ดีเอ็นเอเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในเซลล์เกือบทุกเซลล์ในปริมาณเท่ากัน จึงสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อใดๆ ระยะการเจริญเติบโตหรือลักษณะทาง สรีรวิทยาใดก็ได้โดยไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อม จึงตรวจสอบได้โดยไม่จำกัด ครอบคลุมทั้งจีโนม ปัจจุบันมีเครื่องหมายโมเลกุลแบบต่างๆ ให้เลือกมากมาย ทำให้การใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายในการตรวจสอบทำได้อย่างกว้างขวาง และนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ ได้ไม่จำกัด เทคโนโลยีดีเอ็นเอได้รับการพัฒนาอธิบายอย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) เพื่อใช้วิเคราะห์พันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอตลอดจนการใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น การคัดเลือกพันธุ์พืช, สัตว์, การตรวจวินิจฉัยโรคเป็นต้น เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยให้การกำหนดพันธุ์ การคัดเลือกพันธุ์ และการวินิจฉัยโรคถูกต้อง แม่นยำ ทั้งยังประหยัดเวลาอีกด้วย ตัวอย่างเครื่องหมายดีเอ็นเอได้แก่ restriction fragment length polymorphism (RFLP), polymerase chain reaction (PCR), random amplified polymorphic DNA (RAPD),

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

amplified fragment length polymorphism (AFLP), simple sequence length polymorphism (SSLP) หรือ microsatellites เป็นต้น

การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการประเมินความแตกต่างทางพันธุกรรมในข้าว

ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีทั้งการพัฒนาของไอโซไซม์ และทางด้าน DNA marker ช่วยให้การจัดการและอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมพืช ที่เก็บรวบรวมไว้เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ทำได้ง่ายและสะดวกขึ้น ในข้าวเครื่องหมายโมเลกุล (molecular markers) ถูกใช้ในการจำแนกตัวอย่าง ประเมินโครงสร้างทางพันธุกรรมและรูปแบบของความหลากหลายของพันธุ์ที่สนใจศึกษา เครื่องหมายโมเลกุลช่วยให้สามารถแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างต่างๆ (accessions) ที่ระดับดีเอ็นเอ, ให้ข้อมูลที่แม่นยำเชื่อถือได้ และยังเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสำหรับการจัดการและการอนุรักษ์พันธุกรรม มีเครื่องหมายโมเลกุลหลายชนิดที่ใช้ในการประเมินความแตกต่างทางพันธุกรรมในข้าว เช่น RFLP, RAPD, AFLP และ microsatellite หรือ SSR เครื่องหมายโมเลกุล RFLP และ microsatellites เป็น marker แบบ co-dominant และมีตำแหน่งแผนที่บนจีโนมที่เป็นที่รู้จักดี ในขณะที่ RAPD และ AFLP นั้นเป็นการใช้แบบสุ่มและเป็น marker แบบ dominant (Junjian *et al*., 2002)

สมบูรณ์ (2541) ได้ตรวจหาความแปรปรวนทางพันธุกรรมในข้าวขึ้นน้ำ (*Oryza sativa var. indic*a L.) ของไทยจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิค RAPD และการวิเคราะห์ด้วยไอโซไซม์ โดยที่เทคนิค RAPD สามารถแบ่งสายพันธุ์ข้าวขึ้นน้ำได้เป็น 6 กลุ่ม สำหรับไอโซไซม์แบ่งสายพันธุ์ข้าวขึ้นน้ำออกเป็น 5 กลุ่ม พบว่าเทคนิค RAPD และไอโซไซม์สามารถนำมาใช้ในการจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์ข้าวขึ้นน้ำในระดับ variety ได้ แต่เทคนิค RAPD ใช้แยกได้ละเอียดกว่าไอโซไซม์ เพราะเทคนิค RAPD สามารถให้ลักษณะ polymorphism ได้มากกว่า

ศรีสุลักษณ์และคณะ (2545) ได้จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมและจัดกลุ่มของข้าวพันธุ์พื้นเมืองบนที่สูงจากจังหวัดน่าน เชียงใหม่และแม่ฮ่องสอนจำนวน 31 พันธุ์ ด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่มจำนวน 7 ไพรเมอร์ พบว่าสามารถจำแนกและสร้างแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมืองบนที่สูงได้ 3 กลุ่มและสามารถจำแนกตัวอย่างได้สอดคล้องกับสถานที่ที่เก็บมา

ทรายแก้ว (2547) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมืองกระเหรี่ยง (ข้าวนาที่สูง) ที่มีชื่อเหมือนกันคือ บือชอมี (หรือข้าวไก่ป่า) ของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่จำนวน 22 ตัวอย่างพันธุ์ โดยประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรและระหว่างประชากรในลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา โดยพบความหลากหลายในข้าวที่มีชื่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เหมือนกัน ทั้งภายในและระหว่างเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากเกษตรกรแต่ละรายและยังพบความแปรปรวนในบางลักษณะที่อาจจะมีความสำคัญทางการเกษตร เช่นการตอบสนองต่อช่วงแสงและคุณภาพเมล็ด และในระดับโมเลกุลอาศัยการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD โดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม 4 ไพรเมอร์ สามารถบอกความแตกต่างระหว่างประชากรและภายในประชากรที่มีลักษณะที่แสดงออกเหมือนกันได้ และสามารถบอกความแตกต่างทางพันธุกรรมที่เรามองไม่เห็นในลักษณะทางคุณภาพแต่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอแตกต่างกัน

การใช้เครื่องหมายโมเลกุล microsatellites ในการศึกษาความหลากหลายในข้าว

Microsatellite หรือ simple sequence repeat (SSR) เป็นการซ้ำกันของลำดับเบสช่วงสั้นๆ เพียง 1-4 คู่เบสหรือไม่เกิน 10 คู่เบส ส่วนที่ซ้ำกันจะเกิดกระจายทั่วจีโนมของพืช ในพืชแต่ละพันธุ์จะพบการซ้ำที่ไม่เท่ากันซึ่งสามารถใช้บอกความแตกต่างของพันธุ์พืชได้ microsatellites จะให้ข้อมูลความแตกต่างระหว่างพันธุ์ ความหลากหลายของอัลลีลสูง (high informative, high polymorphism and high level of allelic diversity) ในข้าวนั้นมี microsatellites อยู่เป็นจำนวนมากและจะพบกระจายอยู่ทั่วจีโนม (McCouch *et al*., 1997) และ microsatellites ยังเป็นเทคนิคที่ใช้เวลาสั้นกว่า ใช้ดีเอ็นเอเริ่มต้นสำหรับศึกษาน้อยและมีการพบ primer แล้วเป็นจำนวนมากจึงถูกใช้อย่างแพร่หลายในการศึกษาความหลากหลายของข้าว

เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

เป็นเทคนิคในการเพิ่มปริมาณยีนหรือชิ้นส่วนดีเอ็นเอเฉพาะบริเวณที่ต้องการศึกษาให้มีมากขึ้นกว่าเดิมหลายล้านเท่าในหลอดทดลองในเวลาอันสั้น ซึ่งเป็นการเลียนแบบการจำลองตัวเองของสายดีเอ็นเอในสภาพธรรมชาติ (*In vitro* DNA replication) ทางด้านพันธุศาสตร์พืชและสัตว์ต่างๆ มีการนำเทคนิค PCR มาเป็นเครื่องมือที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์ศึกษาด้านการปรับปรุงพันธุ์โดยการพัฒนา molecular marker การศึกษารูปแบบของ DNA fingerprint แบบต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ เพื่อให้ทราบถึงลักษณะทางพันธุกรรม ใช้ประโยชน์ในการจัดจำแนกอนุกรมวิธาน และศึกษาวิวัฒนาการ (Phylogenetic relationship) (อังสนา, 2547)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หลักการของ PCR

การสังเคราะห์สายดีเอ็นเอชิ้นใหม่ในหลอดทดลองอาศัยดีเอ็นเอเดิมเป็นต้นแบบ (template) และอาศัยดีเอ็นเอสายสั้นๆ (primer) ที่สามารถจับกับดีเอ็นเอต้นแบบเป็นจุดเริ่มต้นและมีเอนไซม์พวก DNA polymerase ช่วยทำให้สายดีเอ็นเอยาวออกไป โดยเลือกจับ nucleotide

ตัวใดตัวหนึ่งใน 4 ชนิด (dNTPs) คือ dATP, dCTP, dTTP และ dGTP เข้ามาต่อให้เป็นเบสคู่สมกับดีเอ็นเอสายต้นแบบเดิมและจะได้ดีเอ็นเอสายใหม่ขึ้น ปริมาณดีเอ็นเอที่เพิ่มมากขึ้นต้องอาศัยปฏิกิริยาที่เกิดต่อเนื่องซ้ำๆ กันหลายๆ รอบ ปฏิกิริยา PCR มี 3 ขั้นตอนเกิดหมุนเวียนต่อเนื่องกันไป ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอนดังนี้

1. เรียกว่า denaturing เป็นการแยกสายดีเอ็นเอ ที่เป็นต้นแบบจากสภาพที่เป็นเส้นคู่ ให้เป็นเส้นเดี่ยวโดยใช้อุณหภูมิสูง 92 - 95 องศาเซลเซียส

2. เรียกว่า annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงมาที่ประมาณ 45 - 70 องศาเซลเซียส เพื่อให้ primer ซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายสั้นๆ ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอต้นแบบจับคู่กัน โดยที่อุณหภูมิที่เหมาะสมนั้นขึ้นกับชนิดของ primers และดีเอ็นเอต้นแบบ

3. เรียกว่า extension เป็นขั้นตอนการขยายสายดีเอ็นเอ โดยนำเอา dNTPs เข้ามาต่อกันตามลำดับที่อยู่บนดีเอ็นเอต้นแบบ ซึ่งเป็นการขยายสายดีเอ็นเอสายใหม่จากทิศทาง 5′ ไปทาง 3′ โดยอาศัยเอนไซม์ Thermostable DNA polymerase เช่น Taq polymerase ใช้อุณหภูมิในช่วง 70 - 75 องศาเซลเซียส

จากขั้นตอนที่ 1 - 3 นับเป็นจำนวน 1 รอบ (one cycle) จะได้เป็นดีเอ็นเอสายคู่ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของทุกๆ รอบ ถ้าทำปฏิกิริยา PCR จำนวน n รอบจะได้สายดีเอ็นเอเท่ากับ 2^{n+1} สาย ถ้าทำ PCR ไป 20 รอบจะได้สายดีเอ็นเอเพิ่มเป็น 2^{21} สาย โดยทั่วไปจะทำ PCR ประมาณ 30 – 40 รอบซึ่งจะได้ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอเป็นจำนวนถึงพันล้านเท่าของดีเอ็นเอตั้งต้น

ปัจจุบันมีการใช้เครื่องหมายโมเลกุล microsatellites โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค PCR (microsatellites PCR) อย่างแพร่หลายในข้าวเพราะเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพ ราคาถูกกว่าและสามารถใช้ได้ดีในข้าว (Junjian et al., 2002)

Zhang *et al*. (2002) ได้ใช้เทคนิค microsatellites ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ของข้าวพันธุ์พื้นเมืองระหว่าง *Oryza sativa* L. ssp *indica* และ *japonica* จำนวน 113 ตัวอย่าง ที่รวบรวมจากแหล่งต่างๆ ในมลฑลยูนานของประเทศจีน พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *japonica* สูงกว่า *indica* และทางตะวันออกเฉียงใต้ของยูนานมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงที่สุดและต่ำที่สุดในทางตะวันออกเฉียงเหนือของยูนาน

Bajracharya *et al.* (2005) ได้ใช้เทคนิค microsatellites ร่วมกับการเก็บรวบรวมลักษณะทางพืชไร่ที่สำคัญ เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมือง (landrace rice) ที่ปลูกที่ Jumla ของเนปาลซึ่งเป็นพื้นที่สูง (high altitude) ที่มีชื่อพันธุ์และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะ phenotype ต่างกัน โดยพบว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ทำการศึกษามีความหลากหลายของลักษณะสัณฐานวิทยาที่ต่ำและมีฐานพันธุกรรมที่แคบ

และในการศึกษาของ พจนีย์ (2549) ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองที่มีชื่อเหมือนกันคือพันธุ์เหมยนอง ที่มาจากท้องถิ่นเดียวกันและต่างท้องถิ่นจำนวน 83 ตัวอย่างโดยใช้เทคนิค microsatellites ร่วมกับการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าข้าวพื้นเมืองพันธุ์เหมยนองมีความหลากหลายทั้งภายในและระหว่างประชากรในแต่ละท้องถิ่น โดยพบความแตกต่างทั้งในลักษณะทางสัณฐานวิทยาไปจนถึงในระดับโมเลกุล

อดิเรก (2549) ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมและศึกษาความสัมพันธ์ของประชากรข้าวป่าสามัญที่เก็บมาจากพื้นที่ต่างๆ จำนวน 12 ประชากร โดยลักษณะทางสัณฐานและสรีรวิทยาแบ่งข้าวป่าออกได้เป็น 3 กลุ่ม และการแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล microsatellites จำนวน 7 ตำแหน่งแบ่งข้าวป่าสามัญออกได้เป็น 2 กลุ่ม และพบความหลากหลายระหว่างประชากร (Gst) ของข้าวป่าสามัญมีค่าเท่ากับ 0.430 ซึ่งความแปรปรวนที่เกิดขึ้นเกิดจากความแปรปรวนระหว่างต้นภายในประชากรมากกว่าระหว่างประชากร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved