

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ดินชนิด
เอื้องหางกระรอก (*Liparis regnieri* Finet) ฉัตรมรกต (*Liparis siamensis*
Rolfe ex Dowine) และ ลีกุลคล (*Malaxis latifolia* J.E. Sm.)

กลุ่มงานศึกษาและพัฒนาเกษตรกรรมแบบประณีต
ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ

บทคัดย่อ

ทรัพยากรพืชพรรณประเภทหนึ่งที่มีการนำมาใช้ประโยชน์กันมากตั้งแต่นานมาแล้วจนถึงปัจจุบัน คือ พืชในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) พืชในวงศ์นี้มีแหล่งกำเนิดและมีการกระจายพันธุ์อยู่ในป่าต่าง ๆ ของประเทศไทยในทุกภูมิภาค กล้วยไม้ไทยมีความหลากหลายสูงจนมีการศึกษาวิจัยและมีรายงานไว้ว่าประเทศไทยเป็นศูนย์กลางการกระจายพันธุ์ของกล้วยไม้ที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก

ความหลากหลายของกล้วยไม้ไทยเป็นที่ประจักษ์ต่อชาวโลกเนื่องจากได้มีการนำทั้งกล้วยไม้พันธุ์แท้และกล้วยไม้ลูกผสมของไทยออกสู่ตลาดโลกอยู่ตลอดเวลา สะท้อนให้เห็นได้อย่างชัดเจนถึงการใช้ประโยชน์กล้วยไม้ไทยในเชิงการค้าที่ต้องอิงการเข้าถึง (access) และการนำต้นกล้วยไม้ป่าออกจากถิ่นกำเนิดและแหล่งอาศัย (exploitation) อย่างมหาศาลและต่อเนื่องโดยขาดการเยียวยาและทดแทน ทำให้เสียสมดุลในการกระจายพันธุ์ตามวิถีธรรมชาติและในขณะเดียวกันก็เกิดการถดถอยทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ป่าของไทยอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ในสถานการณ์ปัจจุบัน การสูญเสียและสูญพันธุ์ของกล้วยไม้ไทยในแหล่งกำเนิดและแหล่งกระจายพันธุ์กำลังอยู่ในขั้นวิกฤตโดยเฉพาะในชนิดที่มีอยู่ในปริมาณที่น้อยมากในธรรมชาติ เนื่องจากนอกจากจะมีการลดลงของประชากรจากการนำต้นกล้วยไม้ออกไปจากป่าเกินความจำเป็น (overexploitation) แล้ว การลดลงของประชากรกล้วยไม้ยังเกิดจากการสูญเสียพื้นที่ป่าจากการบุกรุกและทำลายป่ารวมทั้งจากภัยธรรมชาติ ทำให้มีความจำเป็นอย่างยิ่งยวดในการรักษาต้นพันธุ์กล้วยไม้ป่าให้คงอยู่และเพิ่มปริมาณ เพื่อลดความเสี่ยงในการสูญพันธุ์และบำรุงให้คงความหลากหลายทางพันธุกรรมเอาไว้ แม้ว่าจะเป็นสิ่งที่ดำเนินการได้ยากก็ตาม

ป่าสงวนแห่งชาติขุนแม่งวงเป็นแหล่งอาศัยที่สำคัญของกล้วยไม้ป่านานาชนิด เนื่องจากประกอบด้วยป่าหลายประเภท ที่ต่างก็เป็นแหล่งอาศัยของต้นกล้วยไม้เฉพาะกลุ่ม ตามความต้องการสภาพทางนิเวศวิทยาของพื้นที่อาศัยที่แตกต่างกันไป จึงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ค่อนข้างสูง โดยเฉพาะกล้วยไม้ดิน (terrestrial orchid) แต่อย่างไรก็ตาม ความเสี่ยงในการสูญหายและการลดลงของประชากรกล้วยไม้ในป่านี้ยังคงมีอยู่ ด้วยเหตุนี้จึงมีการสำรวจและรวบรวมต้นพันธุ์กล้วยไม้เหล่านั้นมาปลูกรักษาไว้ในพื้นที่รวบรวมนอกถิ่นอาศัย (ex situ germplasm) ที่ปลอดภัยต่าง ๆ อันอาจจะมี ดังที่กล่าวไว้แล้วข้างต้น

การสำรวจความหลากหลายของกล้วยไม้ดินในบางพื้นที่ของป่าสงวนแห่งชาติขุนแม่งวง ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่ในรัศมีไม่เกิน 50 กิโลเมตรจากศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตำบลป่าเมี่ยง อำเภอคอยสะแกต จังหวัดเชียงใหม่ พบว่า ในพื้นที่ดังกล่าวมีความหลากหลายของกล้วยไม้ดินค่อนข้างสูง แต่ หลายพื้นที่ซึ่งเป็นแหล่งกระจายพันธุ์ของกล้วยไม้ดินหลายชนิดกำลังถูกรุกรานเนื่องจากมี

การเปลี่ยนแปลงสภาพพื้นที่ป่าเป็นพื้นที่เกษตรกรรม จึงต้องมีการรวบรวมต้นพันธุ์ของกล้วยไม้เหล่านั้นไปปลูกรักษาไว้ภายในศูนย์ฯ ซึ่งมีพื้นที่ป่าหลายประเภทที่มีสภาพทางนิเวศวิทยาที่คล้ายคลึงกันกับแหล่งอาศัยในธรรมชาติ กล้วยไม้ดินที่นำมารวบรวมและปลูกรักษาไว้มีหลายชนิด โดยที่สกุลที่มีความเสี่ยงค่อนข้างสูงจากการลดลงของพื้นที่แหล่งอาศัยในธรรมชาติ คือ สกุล *Liparis* และ *Malaxis*

จากการสำรวจพบว่า กล้วยไม้ดินสกุล *Liparis* และ *Malaxis* ในป่าสงวนแห่งชาติขุนแม่งวงนั้นมีแหล่งอาศัยกระจายอยู่ในป่า 3 ประเภท คือ ป่าเต็งรัง ป่าผสมผลัดใบ และ ป่าดิบเขา ที่ระดับความสูง 350 ถึง 1,300 เมตรเหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง ขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้นั้น ๆ โดยที่กล้วยไม้สกุล *Liparis* นั้น พบอยู่ 3 ชนิด คือ เอื้องหางกระรอก (*L. regneri* Finet) เอื้องกลีบม้วน (*L. paradoxa* (Lindl.) Rchb.f.) และ ฉัตรมรกต (*L. siamensis* Rolfe ex Downie) ส่วนสกุล *Malaxis* ก็พบ 3 ชนิดเช่นกัน ได้แก่ หูเสือ (*M. acuminata* D. Don) หัวหมูป่า (*M. calophylla* (Rchb.f.) Kze.) และ สีกุลคล (*M. latifolia* J.E. Sm.) โดยที่เอื้องกลีบม้วนและฉัตรมรกตพบในป่าเต็งรังบริเวณที่เชื่อมต่อกับป่าผสมผลัดใบที่ความสูง 350-400 เมตรเหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง ส่วนหูเสือ หัวหมูป่า และ เอื้องหางกระรอก นั้นพบที่ระดับความสูง 900-1,000 เมตรเหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง ในขณะที่สีกุลคลพบกระจายพันธุ์ในวงกว้างกว่า *Liparis* และ *Malaxis* อื่น ๆ คือ พบตั้งแต่ที่ความสูง 850 เมตรไปจนถึง 1,300 เมตรเหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง โดยที่สีกุลคลที่พบในระบบนิเวศที่แตกต่างกันมีความผันแปรในลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นอย่างชัดเจนแตกต่างกันไปตามระดับความสูงของพื้นที่

เมื่อนำต้นพืช 2 สกุล 6 ชนิดที่กล่าวแล้วนั้นมาปลูกรักษาไว้ในป่าภายในศูนย์ฯ โดยใช้พื้นที่ซึ่งมีนิเวศวิทยาใกล้เคียงกับแหล่งอาศัย พบว่า ต้นพืชเหล่านั้นเจริญเติบโตได้ดี แม้ว่าบางชนิดจะมีขนาดของต้นเล็กกว่าที่เป็นจริงก็ตาม หลังจากที่ดินกล้วยไม้ดินที่รวบรวมมาและปลูกรักษาไว้ นั้นปรับตัวเข้ากับสภาพพื้นที่ปลูกรักษาได้ดีแล้วและมีการแสดงออกทางลักษณะสัณฐานวิทยาคงที่แล้วจึงดำเนินการศึกษาความสัมพันธ์หรือความใกล้ชิดของต้นกล้วยไม้แต่ละชนิดที่นำมาจากแหล่งอาศัยที่ต่างกัน โดยเก็บตัวอย่างใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ของต้นกล้วยไม้ที่เป็นตัวแทนชนิดละ 5 กลุ่ม มาศึกษาแบบไอโซไซม์เพื่อวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ดินแต่ละชนิดจากแหล่งอาศัยที่ต่างกันเหล่านั้น โดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส แบบ acrylamide gel eletrophoresis ในการแยกกลุ่ม ระบบเอ็นไซม์ที่ใช้ในการศึกษามี 3 ระบบ คือ acid phosphatase, esterase และ proxidase แล้วนำผลของการแสดงออกของรูปแบบไอโซไซม์มาสร้างเดนโดแกรม วิเคราะห์กลุ่มตัวอย่างเพื่อหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากแถบสีด้วย UPGMA cluster analysis ตามวิธี Jaccard's similarity coefficient โดยใช้โปรแกรม SPSS release 6

ผลการศึกษาพบว่า ที่ค่าความคล้ายคลึงกัน 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถแยกประชากรของเอื้องหางกระรอกออกได้เป็น 3 กลุ่ม ของฉัตรมรกตเป็น 5 กลุ่ม ของสีกุลคลซึ่งใช้ตัวอย่าง 2 กลุ่มจากแหล่งอาศัย 2 พื้นที่ซึ่งอยู่ที่ระดับความสูงแตกต่างกันนั้น แยกออกได้เป็น 2 กลุ่มย่อยในแหล่งอาศัยที่ 1 และ เป็น 5 กลุ่มย่อยในแหล่งอาศัยที่ 2 ส่วนการวิเคราะห์ค่าความคล้ายคลึงกันที่ 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าจำแนกประชากรของเอื้องหางกระรอกออกได้เป็น 2 กลุ่ม ของฉัตรมรกตได้ 3 กลุ่ม และของสีกุลคลในแหล่งอาศัยที่ 1 ได้ 2 กลุ่ม ในแหล่งอาศัยที่ 2 ได้ 4 กลุ่ม ในขณะที่การวิเคราะห์ที่ค่าความคล้ายคลึงกัน 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแยกต้นกล้วยไม้ดินออกได้เป็น 4 กลุ่มตามชนิดของต้นพืช คือ เอื้องหางกระรอก 1 กลุ่ม ฉัตรมรกต 1 กลุ่ม และ สีกุลคล 2 กลุ่มตามระดับความสูงของแหล่งอาศัย

จากผลการวิเคราะห์จะเห็นว่ากรจำแนกโดยวิธีอนุกรมวิธานนั้นสามารถแยกได้ละเอียดเพียงระดับชนิด (species level) โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาามาพิจารณา แต่ในกลุ่มของพืชชนิดเดียวกันนั้นย่อมมีความผันแปรและมีความแตกต่างได้ละเอียดถึงระดับของพันธุ์ (variety level) ซึ่งเห็นความแตกต่างได้ด้วยตา

เปล่าจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา การแยกกลุ่มโดยใช้ความแตกต่างในระดับอนุโมเลกุลสามารถแยกต้นพืช ออกเป็นกลุ่มย่อยลงไปได้อีกในพันธุ์เดียวกัน วิธีการวิเคราะห์มีหลายวิธีโดยมีวิธีหนึ่งซึ่งยุ่งยากน้อยกว่าวิธีอื่น ๆ คือการวิเคราะห์จากรูปแบบไอโซไซม์ โดยใช้ cluster analysis มาวิเคราะห์ความใกล้ชิดระหว่างกลุ่มได้ใน ระดับความใกล้ชิดในเปอร์เซ็นต์ที่ต่างกัน ดังเห็นได้จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ ดินสกุล *Liparis* และ *Malaxis* ที่เจริญเติบโตในแหล่งอาศัยที่ต่างกันดังสรุปไว้แล้วจากผลการทดลองที่ ระบุไว้ข้างต้น โดยที่เมื่อนำข้อมูลของแหล่งอาศัยมารวมวิเคราะห์ด้วยนั้นได้ผลว่าต้นกล้วยไม้ดินชนิดเดียวกัน ที่เติบโตในแหล่งอาศัยที่อยู่ห่างกันออกไปมีความแตกต่างหรือใกล้ชิดทางพันธุกรรมซึ่งกันและในระดับหนึ่ง ข้อมูลเช่นนี้ซึ่งเกิดจากการศึกษาวิจัยที่ละเอียดมากขึ้นเป็นประโยชน์ในการเป็นข้อมูลพื้นฐานของแหล่ง พันธุกรรมของกล้วยไม้ดินแต่ละชนิดแต่ละสกุล ตลอดจนเป็นข้อมูลเชิงวิวัฒนาการของพันธุ์ของพืชเหล่านั้น นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลจำเพาะที่สามารถนำไปใช้ประกอบในการพิจารณาและวางแผนการพัฒนาพันธุ์และ ปรับปรุงพันธุ์ต้นกล้วยไม้ดินต่าง ๆ โดยวิธีผสมพันธุ์แบบข้ามพันธุ์ (intervarietal hybridization) ผสมข้าม ชนิด (interspecific hybridization) และ ผสมข้ามสกุล (intergeneric hybridization) เพื่อการนำไปใช้ ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ต่อไป