

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช
Seed Storage for Plant Germplasm Conservation

วิชัย หวังวโรดม¹

วัลลภ สันติประชา²

Vichai Wongvarodom¹

Wullop Santipracha²

ABSTRACT

The suitable seed storage technology for plant genetic conservation should be practical, save, and it could be most importantly maintain seed viability and no genetic changes. This paper was mainly reviewed the plant germplasm conservation, seed storage behavior, factors affecting seed longevity, storage technology for seed conservation as well as the cryopreservation and advantages and disadvantages for seed conservation.

Key words: plant genetic resources, germplasm conservation, seed storage, cryopreservation

บทคัดย่อ

การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชด้วยการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ จำเป็นต้องใช้เทคโนโลยีต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อเมล็ดพันธุ์พืช ง่ายต่อการปฏิบัติ ประหยัด สามารถรักษาความมีชีวิตโดยมีพันธุกรรมคงเดิม และเป็นไปได้ในทางปฏิบัติสำหรับประเทศต่าง ๆ บทความนี้ได้กล่าวถึง การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช ธรรมชาติการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ ปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บรักษา เทคโนโลยีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชภายใต้ความเย็นยิ่งยวด ข้อดีและข้อเสียของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช

คำหลัก : ทรัพยากรพันธุ์พืช การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืช ภายใต้ความเย็นยิ่งยวด

¹ แผนกวิชาเทคโนโลยีการเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.เมือง จ.ปัตตานี 94000

¹ Agricultural Technology Division, Technology and Industries Department, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani 94000

² ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

² Plant Science Department, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkhla 90110

คำนำ

ทรัพยากรพันธุกรรมพืชมีความสำคัญต่อการดำรงชีพ และความอยู่รอดของมนุษยชาติ พร้อมทั้งสิ่งมีชีวิตทุกชนิดบนโลก ปัจจุบัน ความหลากหลายทางชีวภาพของพืชกำลังลดลงอย่างต่อเนื่อง และมีแนวโน้มรุนแรงขึ้น จากสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมบนโลก และจากการกระทำของมนุษย์ การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพที่เหมาะสมเป็นแนวทางหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสำหรับช่วยอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์กรรมพืช

เชื้อพันธุ์พืช (plant germplasm) หมายถึง เมล็ดพันธุ์และส่วนขยายพันธุ์อื่นของพืช (Anon, 1994) ทรัพยากรพันธุกรรมพืช (plant genetic resources) มีบทบาทสำคัญต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ บนโลก ปัจจุบันความหลากหลายของประชากรพืชลดลงอย่างมาก จากการทำลายป่าไม้ของมนุษย์ที่เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างต่อเนื่อง รวมถึงการขยายตัวของกิจกรรมการเกษตรและอุตสาหกรรม นั่นคือการสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity) ซึ่งมีสาเหตุหลักมาจากการทำลายถิ่นอาศัย พืช (habitat) ทำให้สูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic erosion) ไป (Chin, 1994) ผลที่เกิดขึ้นย่อมกระทบกับความเป็นอยู่ของมนุษยชาติบนโลกทั้งด้านอาหาร ที่อยู่อาศัย เครื่องนุ่งห่ม ยา รักษาโรค ตลอดจนความอยู่รอดปลอดภัยจากภัยธรรมชาติ เช่น น้ำท่วม ฝนแล้ง Chin (1994) ได้กล่าวว่า การอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุ์พืชเป็นกุญแจสำคัญของความอยู่รอดของมนุษยชาติ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องทำการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชไว้

ด้วยเหตุผลหลายประการได้แก่ 1) เพื่อรักษาความหลากหลายของพันธุกรรมพืชที่มนุษย์ใช้อยู่ในปัจจุบัน และพืชที่ใกล้จะสูญพันธุ์ (Bajaj, 1995) 2) เพื่อให้มนุษย์สามารถใช้ประโยชน์จากพืชปลูกและพืชป่าได้อย่างต่อเนื่องและยั่งยืน และ 3) เพื่อรักษาสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติของโลก

การอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุ์พืชสามารถทำได้ 2 ลักษณะใหญ่ ๆ คือ 1) การอนุรักษ์ในสภาพธรรมชาติหรือในพื้นที่ดั้งเดิม (*in situ*) เช่น พื้นที่ป่า หรือป่าอุทยานแห่งชาติ และ 2) การอนุรักษ์นอกสภาพธรรมชาติ (*ex situ*) โดยนำเอาพืชหรือส่วนขยายพันธุ์ เช่น เมล็ดพันธุ์ ละอองเกสรหรือเนื้อเยื่อ ไปเก็บรักษาไว้ในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ ธนาคารเมล็ดพันธุ์ (seed bank) สวนเกษตรขนาดใหญ่ (plantation), (Chin, 1994 ; Anon, 1993b ; Anon, 1994) สถานที่เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชระดับโลกที่สำคัญ (Table 1) ส่วนของประเทศไทย ได้แก่ ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี จ. ปทุมธานี และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ประยุกต์ กรุงเทพฯ (จเร, 2541) ซึ่งได้เปลี่ยนชื่อเป็นสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีธนาคารเชื้อพันธุ์พืช พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

ธรรมชาติการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์

นักเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ ได้จำแนกเมล็ดพันธุ์ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามธรรมชาติการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์หรือพฤติกรรมทางการเก็บรักษา (storage behaviour) ได้แก่ 1) เมล็ดพันธุ์แท้ (orthodox seeds) เป็นเมล็ดพันธุ์ที่

Table 1. The largest seed banks of the world

| Name of seed bank | Country |
|--|--------------|
| 1. N.I. Vavilov Institute | Russia |
| 2. National Seed Storage Laboratory | USA |
| 3. National Small Grain Collection | USA |
| 4. ICRISAT, International Crop Research Institute for the Semi Arid Tropics | India, Syria |
| 5. CIMMYT, Centro Internacional de Mejoramiento de Maizy Trigo | Mexico |
| 6. IRRI, International Rice Research Institute | Philippines |
| 7. Institute of Crop Germplasm Resources | China |
| 8. Institut fur Genetik Und Kulturpflanzenforschung | Germany |
| 9. Southern Regional Plant Introduction Station | USA |
| 10. FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations | Italy |
| 11. IBPGR/IPGRI, International Broad for Plant Genetic Resources/ The International Plant Genetic resources Institute | Italy |
| 12. CIAT, Centro Internacional de Agriculture Tropical | Colombia |
| 13. CIP, Centro Internacional de la Papa | Peru |
| 14. ICARDA, International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas | Syria |
| 15. IITA, International Institute of Tropical Agriculture | Nigeria |
| 16. AVRDC, Asian Vegetable Research and Development Centre | Taiwan |

From : Chin,1994 ; Anon, 1998.

ทนทานต่อการลดความชื้น (desiccation) และสามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำได้โดยไม่สูญเสียความมีชีวิต นั่นคืออายุการเก็บรักษา (longevity) ของเมล็ดพันธุ์จะเพิ่มขึ้น หากลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ลงและเก็บในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำ ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้ ประกอบด้วย ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าว หัวหอม แครอท บีท พริก แตงกวา ถั่วต่าง ๆ ฝ้าย ทานตะวัน มะเขือเทศ มะเขือ กะหล่ำต่าง ๆ และมะละกอ (Anon, 1996) ปาล์มน้ำมัน

(Grout *et al.*, 1983) และมะม่วงหิมพานต์ (Mwasha *et al.*, 1996) 2) เมล็ดพันธุ์สด (recalcitrant seeds) เป็นเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ทนทานต่อการลดความชื้นลง และเสียหายได้ง่ายหากเก็บรักษาไว้ในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำ จึงจำเป็นต้องเก็บไว้ในสภาพที่มีความชื้นสูง และอุณหภูมิอากาศอบอุ่น นอกจากนี้พืชในกลุ่มนี้มักเจริญเติบโตอยู่ในบริเวณที่มีความชื้นสูง (moist ecosystem) เมื่อเมล็ดพันธุ์สุกแก่และร่วง

หล่นจากต้นแม่ ก็จะมีงอกอยู่ในสภาพที่มีความชื้นสูงดังกล่าว (Kundu and Kachari, 2000) ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ในกลุ่มนี้ได้แก่ มะพร้าว ทุเรียน ยางพารา อะโวคาโด มังคุด มะม่วง เงาะ ลางสาด โกโก้ ชา ลินจี ลำไย ขนุนและกาแพ (Roberts, 1973 อ้างโดย Chin *et al.*, 1984 ; Xia *et al.*, 1992a ; Xia *et al.*, 1992b; Fu, *et al.*, 1993) (Chin and Roberts, 1980; Chin *et al.*, 1984; Hor *et al.*, 1984; Corbineau and Come, 1988; Bajaj, 1995; Chandel, *et al.*, 1995; Anon, 1996) นอกจากนี้ Bonner (1990) ได้จำแนกเมล็ดพันธุ์ไม้ (woody species) ออกเป็น 4 กลุ่ม ตามสรีรวิทยาการเก็บรักษา (storage physiology) ได้แก่ 1) เมล็ดพันธุ์แท้ที่เรียกว่า true orthodox seeds ทนทานต่อการลดความชื้นและอุณหภูมิต่ำ และรักษาความมีชีวิตได้ยาวนานในสภาพที่แห้งและอุณหภูมิต่ำ 2) เมล็ดพันธุ์แท้ที่เรียกว่า sub-orthodox seeds สามารถเก็บรักษาได้ในสภาพเช่นเดียวกับกลุ่มแรกแต่อายุเก็บรักษาสั้นกว่าเพียง 7 เดือน-6 ปีเท่านั้น อาจเนื่องจากเมล็ดพันธุ์พวกนี้มักมีปริมาณไขมันสูง มีขนาดเล็กและมีเปลือกหุ้มเมล็ดพันธุ์บาง 3) เมล็ดพันธุ์สดเขตอบอุ่น (temperate recalcitrant seeds) ไวต่อการลดความชื้น (desiccation sensitive) แต่สามารถเก็บในสภาพอุณหภูมิต่ำได้ 4) เมล็ดพันธุ์สดเขตร้อน (tropical recalcitrant seeds) ไวต่อการลดความชื้นและอุณหภูมิต่ำ (chilling sensitive)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บรักษาหรืออายุการเก็บรักษา

ปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ประกอบด้วยพันธุกรรม คุณภาพเบื้องต้นของ

เมล็ดพันธุ์ ความชื้นเมล็ดพันธุ์ อุณหภูมิของโรงเก็บ และวิธีการเก็บรักษา เมล็ดพันธุ์พืชแต่ละชนิดมีอายุการเก็บรักษาต่างกัน เช่น เมล็ดพันธุ์สดมักมีอายุการเก็บรักษาสั้นกว่าเมล็ดพันธุ์แห้ง (Bonner, 1990) ความชื้นเมล็ดพันธุ์ต่ำช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษา ดังนั้น จึงแนะนำให้ลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ลงเหลือประมาณ 5 % สำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์แห้งเพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช (IBPGR, 1976 อ้างโดย Anon, 1993a) อายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์สดจะนานขึ้นหากเก็บในสภาพที่มีความชื้นเมล็ดสูงและอยู่ในสภาพที่มีออกซิเจน (King and Roberts, 1979 อ้างโดย Anon, 1993a) โดยหากความชื้นเมล็ดต่ำกว่าจุดวิกฤต (critical moisture content) แล้ว เมล็ดพันธุ์จะสูญเสียความมีชีวิตไปอย่างรวดเร็ว ความชื้นนี้แตกต่างกันไปตามชนิดเมล็ดพันธุ์ เช่น ยางพารา 15-20 % (Chin *et al.*, 1981) มังคุด 24 % (Normah *et al.*, 1997) มะม่วง ลำไยและลินจี 40, 25 และ 33 % ตามลำดับ (Fu *et al.*, 1990) ทุเรียนและเงาะ 20 และ 13 % ตามลำดับ (Hanson, 1984 อ้างโดย Xia *et al.*, 1992a) นอกจากนี้เทคนิคการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ (drying techniques) ก็มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ด้วย เช่น เมล็ดพันธุ์สะเดาที่ลดความชื้นลงอย่างรวดเร็วด้วยการอบที่อุณหภูมิ 30 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 15 % มีอายุการเก็บรักษาสั้นกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ลดความชื้นลงอย่างช้า ๆ ด้วยการใช้ซิลิกาเจล (Nayal *et al.*, 2000) อุณหภูมิเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ โดยทั่วไป แนะนำให้เก็บเมล็ดพันธุ์แห้งไว้ที่อุณหภูมิ -18 °ซ สำหรับการเก็บ

รักษาเชื้อพันธุ์พืช แต่อย่างไรก็ตาม ในสภาพดังกล่าว ยังคงมีการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เกิดขึ้น ทำให้มีโอกาสสูญเสียเชื้อพันธุ์พืชที่มีค่าไปได้ จึงได้มีการพัฒนาวิธีการและเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์โดยใช้อุณหภูมิต่ำถึง -196°C ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้นานโดยไม่เสื่อมคุณภาพ (Stanwood and Bass, 1981) สำหรับวิธีการเก็บรักษานั้น เมล็ดพันธุ์แห้งควรเก็บไว้ในภาชนะปิด (sealed containers) ที่สามารถป้องกันการผ่านเข้าออกของอากาศและความชื้นได้ มีข้อดีคือ ความชื้นเมล็ดพันธุ์จะคงที่ การหายใจลดลง เนื่องจากมีคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นแต่มีออกซิเจนลดลง และสามารถป้องกันแมลงและเชื้อโรคต่าง ๆ ได้ สำหรับเมล็ดพันธุ์สดนั้น วิธีการเก็บที่น่าจะประสบความสำเร็จ ต้องเป็นวิธีที่สามารถป้องกันการแห้งของเมล็ดพันธุ์ได้และมีออกซิเจนเพียงพอ นอกจากนี้ยังต้องสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรค และการงอกในระหว่างเก็บรักษาได้ (Chin and Roberts, 1980)

เทคโนโลยีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์สำหรับอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช

เมล็ดพันธุ์เป็นส่วนหนึ่งของพืชที่สะดวกต่อการเก็บรักษาที่สุด เนื่องจากมีขนาดค่อนข้างเล็ก ทำให้เก็บรักษาได้ง่าย และมีอายุการเก็บรักษานานหลายปี การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชด้วยการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์จัดเป็นวิธีที่ง่ายต่อการปฏิบัติและประหยัด (Chin, 1994) และมีคุณค่าต่อการอนุรักษ์พันธุ์พืช (Adams and Adams, 1992) หลักการพื้นฐานของธนาคารเมล็ดพันธุ์คือเพื่อที่จะเก็บรวบรวมอนุรักษ์และแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุ์พืช (Chin, 1994) ธนาคารเมล็ดพันธุ์หรือธนาคาร

เชื้อพันธุ์พืช จึงเป็นศูนย์กลางทรัพยากรสำหรับชิ้นส่วนของพืชที่มีชีวิต โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้เมล็ดพันธุ์หรือชิ้นส่วนพืชมีชีวิต ยังคงลักษณะเดิมเพื่อการใช้ประโยชน์ในอนาคต การเก็บอาจเป็น 1) การเก็บรวบรวมพื้นฐานทั่วไป (base collection) เพื่อการอนุรักษ์ในระยะยาว เก็บรักษาอย่างปลอดภัย และไม่ได้ใช้เป็นแหล่งสำหรับแจกจ่าย โดยทั่วไป เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0°C และมีความชื้นเมล็ดต่ำ 2) การรวบรวมเพื่อใช้ในการดำเนินงาน (active collection) เป็นการเก็บรวบรวมเพื่อใช้สำหรับการผลิตเมล็ดพันธุ์รุ่นใหม่ ขยายพันธุ์ แจกจ่ายพันธุ์จำแนกลักษณะพันธุ์และประเมินพันธุ์ และมักเก็บในระยะปานกลางถึงระยะยาว และ 3) การรวบรวมพร้อมกับการใช้ประโยชน์ (working collection) เป็นการเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์พืชหรือเชื้อพันธุ์พืชที่นักปรับปรุงพันธุ์หรือนักวิจัยต้องการใช้ประโยชน์ ความยาวนานของการเก็บรักษาสามารถแบ่งออกเป็นการเก็บรักษาในระยะยาว (นานกว่า 10 ปี) โดยเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในโรงเก็บที่มีอุณหภูมิ -1 ถึง -20°C ความชื้นเมล็ด 4-6 % การเก็บรักษาในระยะปานกลาง (ไม่เกิน 10 ปี) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 1 ถึง 10°C ความชื้นเมล็ด 15 % และการเก็บระยะสั้น เพียงชั่วระยะเวลาหนึ่งก่อนนำไปใช้ (นิรนาม, 2542) จำนวนเมล็ดพันธุ์ต่ำสุดที่เก็บไว้สำหรับแต่ละเชื้อพันธุ์ หรือรายการ (accession) แตกต่างกันไปตามลักษณะทางพันธุกรรมของพืช โดยประชากรพืชที่มีความสม่ำเสมอทางพันธุกรรม (genetically uniform plant population) เก็บไว้ประมาณ 100-3,000 เมล็ด หากเป็นประชากรพืชที่แต่ละต้นมีพันธุกรรมต่างกัน

(heterogeneous materials) เก็บประมาณ 12,000 เมล็ด ในทางปฏิบัติธนาคารอาจเก็บในปริมาณที่สูงกว่า เช่น IRRI เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าว 5,000-8,000 เมล็ด/รายการ หรือ CIMMYT เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจำนวน 5,000-17,000 เมล็ด/รายการ (Chin, 1994) เมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาในธนาคารต้องมีคุณภาพสูง โดยเมล็ดพันธุ์จะถูกสุ่มตรวจสอบความมีชีวิตอย่างต่อเนื่อง (Chin, 1994) นอกจากคุณภาพเมล็ดพันธุ์แล้ว สภาพห้องเย็นที่ควบคุมดูแลอย่างเหมาะสม ก็จะช่วยทำให้เมล็ดพันธุ์มีอายุการเก็บรักษาสูงสุด และสามารถลดความจำเป็นในการผลิตเมล็ดพันธุ์รุ่นใหม่ (regeneration) ได้ (Clark *et al.*, 1997) โดยทั่วไป ธนาคารจะต้องทำการผลิตเมล็ดพันธุ์รุ่นใหม่เมื่อเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษา มีความมีชีวิตต่ำกว่าระดับที่จะยอมรับได้ คือประมาณ 85 % (regeneration standard) (Ellis *et al.*, 1985) เพื่อให้มีการเปลี่ยนแปลงของพันธุกรรมน้อยที่สุด (Astley, 1992)

เทคโนโลยีที่ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชมีหลายวิธี แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ของการเก็บรักษา พฤติกรรมทางด้านการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์และทรัพยากรที่มีอยู่ (Table 2) เมล็ดพันธุ์แห่งที่ต้องการเก็บรักษาในระยะยาวหรือต้องการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช ต้องเก็บในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำ (-18°C) ความชื้นเมล็ดพันธุ์ต่ำอยู่ในช่วง 3-7 % เก็บในภาชนะปิดที่ป้องกันความชื้นจากอากาศได้ เช่น อะลูมิเนียมพอยล์ และกระป๋องอะลูมิเนียม แต่หากต้องการเก็บในระยะเวลานั้นหรือปานกลาง ต้องเก็บที่อุณหภูมิต่ำในช่วง 1-10 °C และความชื้นเมล็ดพันธุ์ต่ำ สำหรับวิธีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์

สดนั้น เนื่องจากเมล็ดพันธุ์สดสูญเสียความมีชีวิตง่าย หากลดความชื้นลงและได้รับอุณหภูมิต่ำทางแก้ไขคือการใช้วิธีเก็บรักษาตัวอ่อน (embryos) ไว้ภายใต้ความเย็นยิ่งยวด ซึ่งปัจจุบันได้รับความสนใจและมีบทบาทสำคัญในการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชมากขึ้นเป็นลำดับ (Shands, 1995) การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กรรมภายใต้ความเย็นยิ่งยวด โดยทั่วไปเชื้อพันธุ์พืชมักถูกเก็บรักษาไว้ในรูปของเมล็ดพันธุ์ หรือส่วนขยายพันธุ์ต่าง ๆ แต่อย่างไรก็ตาม พืชที่มีเมล็ดพันธุ์สดไม่สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในธนาคารเมล็ดพันธุ์ได้ เนื่องจากไม่ทนต่อการลดความชื้นและอุณหภูมิต่ำ จำเป็นต้องเก็บรวบรวมไว้ในแปลง ทำให้เชื้อพันธุ์พืชเหล่านี้เสี่ยงต่อภัยจากธรรมชาติ การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชภายใต้ความเย็นยิ่งยวด เป็นวิธีการที่สามารถอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชเหล่านี้ได้โดยเก็บรักษาต้นอ่อน เนื้อเยื่อหรือเมล็ดพันธุ์ ไว้ในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิต่ำ -196 °C ภายใต้สภาพนี้จะไม่มีการแบ่งเซลล์ การเสื่อมสภาพของเซลล์ หรือการกลายพันธุ์ ทำให้สามารถเก็บรักษาได้ยาวนาน ขั้นตอนและวิธีการเก็บรักษาประกอบด้วย 1) การเลือกใช้วัสดุพืช เช่น ต้นอ่อนจากเมล็ด (zygotic embryos) ต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกาย (somatic embryos) ต้นอ่อนจากละอองเกสร หรือเมล็ดพันธุ์ 2) การเตรียมวัสดุพืชก่อนการแช่เย็น โดยอาจนำวัสดุพืชมาเลี้ยงในสารอาหาร และใส่สารเคมีป้องกันความเสียหายของเซลล์จากความเย็น (cryoprotective substances) เช่น ซูโครส mannitol, sorbitol, dimethylsulfoxide (DMSO), glycerol นอกจากนี้ยังช่วยลดปริมาณน้ำในเซลล์พืชด้วย 3) การแช่เย็น ทำได้โดยแช่วัสดุพืชในไนโตรเจนเหลว

Table 2. Technologies for *ex situ* conservation of different types of plant genetic resources for food and agriculture

| Storage technology | Tissue type | Appropriate function |
|---|--|---|
| Low temperature (-18°C) and 3-7 percent moisture content* | Orthodox seeds | Long-term conservation (base collection) provision of accessions for use (active collections) |
| Desiccated seeds at cool temperature | Orthodox seeds | Provision of accessions for use (active & working collections) ; medium term conservation |
| Ultra-dry seeds at room temperature | Orthodox seeds | Medium to long-term conservation ; provision of accessions for use (active & working collections) |
| Storage of dried seeds at room temperature | Some long lived orthodox seeded species | Medium to long-term conservation ; provision of accessions for use (active & working collections) |
| Cultivation of entire plants field genebank | Vegetatively propagated species, recalcitrant seeded species, long life-cycle species and species with limited seed production | Short or medium term conservation provision of accessions for use (active collections) |
| Slow growth in <i>in vitro</i> culture | Vegetatively propagated species and some recalcitrant seeded species | Medium term conservation ; provision of accessions for use (active collections) |
| Cryopreservation at -196°C in liquid nitrogen | Seeds, pollen, tissue, cells, embryos of species capable of <i>in vitro</i> regeneration after drying and freezing | Long-term conservation |

* The precise storage regime can vary, depending on the species, environment and cost considerations but should ensure the maintenance of seed viability above 65 percent for 10-20 years.

From : Anon, 1996

โดยตรง หรือลดอุณหภูมิลงช้า ๆ โดยทั่วไป อัตราความเร็วในการลดอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 0.5 ถึง 5 °ซ/นาทีก่อน และอุณหภูมิสุดท้ายก่อนแช่ในไนโตรเจนเหลวอยู่ระหว่าง -20 ถึง -80 °ซ

4) การเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว ซึ่งสามารถเก็บได้โดยที่ไม่จำกัดระยะเวลา 5) การละลายน้ำแข็งในเซลล์ ทำเพื่อละลายน้ำแข็งในเซลล์ของวัสดุ พืชที่ผ่านการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวก่อนนำมาทำให้เกิดพืชต้นใหม่ โดยทั่วไปอุณหภูมิที่ใช้คือ 40 °ซ นานประมาณ 2-3 นาทีในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 6) การเกิดพืชต้นใหม่ทำโดยการนำวัสดุพืชที่ละลายน้ำแข็ง และล้างสารป้องกันความเย็นออกแล้ว มาเลี้ยงในสารอาหารมาตรฐานเฉพาะพืช หรือนำไปเพาะในสภาพที่เหมาะสมที่สุดเพื่อให้แน่ใจว่าจะได้พืชต้นใหม่เกิดขึ้น (ธีระและวัชรินทร์, 2542 ; Adams and Adams, 1992) ภาณีและคณะ (2543) รายงานว่าได้ประสบความสำเร็จในการใช้ไนโตรเจนเหลวเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ผักพื้นบ้านของไทย เช่น มะเขือเทศ กระเจี๊ยบเขียว แดงกวาคะน้า กวางตุ้ง และแมงลัก และพืชชนิดอื่น ๆ เช่น ถั่วแขก ถั่วพุ่ม บรอกโคลี กะหล่ำปลี แครอท กะหล่ำดอก คื่นช่าย แดงกวา มะเขือ ผักกาดหอม หัวหอม ถั่วพี มะเขือเทศ แดงโม ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโพด ข้าวโอ๊ต ถั่วลิสง ข้าว ทานตะวัน ข้าวฟ่าง ถั่วเหลือง งา ยาสูบ และข้าวสาลี (Stanwood and Bass, 1981) ความสำเร็จของการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชในไนโตรเจนเหลวขึ้นอยู่กับ 1) เทคนิคและความสามารถของเมล็ดหรือเนื้อเยื่อพืชที่จะคงความมีชีวิตได้ในสภาพอุณหภูมิต่ำมาก และกลับงอกเจริญเติบโตเป็นต้นพืชเดิมได้เมื่อต้องการ 2) เทคนิคด้าน *in vitro* ที่จะช่วยต้น

อ่อนเจริญเติบโตเป็นพืชขึ้นมาได้หลังจากเก็บในไนโตรเจนเหลว

ข้อดีของการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชภายใต้ความเย็นยิ่งยวด (Bonner, 1990)

1. สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์หรือต้นอ่อนได้ยาวนาน

2. การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเกิดขึ้นน้อยกว่าวิธีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์แบบปกติ

ข้อเสีย ประกอบด้วย

1. ใช้อุปกรณ์พิเศษ

2. ค่าใช้จ่ายสูงหากใช้เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่

ข้อดีและข้อเสียของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช

ข้อดี

1. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เป็นวิธีการที่ค่อนข้างถูก ใช้ได้ดีสำหรับการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชหลายชนิด

2. เทคโนโลยีการเก็บรักษาที่ดีที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันสามารถใช้ได้กว้างขวางทั่วโลก ซึ่งมีส่วนช่วยในการแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุ์พืชระหว่างประเทศ

3. สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้ทั้งระยะสั้น ระยะปานกลาง และระยะยาวเพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช

4. เมล็ดพันธุ์แห่งหลายชนิดสามารถเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวได้ยาวนาน โดยที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมหรือมีเพียงเล็กน้อย

ข้อเสีย

1. เมล็ดพันธุ์สดหลายชนิดไม่สามารถเก็บได้อย่างปลอดภัย โดยใช้เทคโนโลยีการเก็บรักษาที่มีอยู่ในปัจจุบัน

2. เมล็ดพันธุ์สดบางชนิดมีขนาดใหญ่ เช่น ชนุน มะม่วง และโกโก้ เป็นต้น ต้องใช้พื้นที่การเก็บมาก ทำให้มีต้นทุนและการจัดการเพิ่มขึ้น ไม่สะดวกที่จะเก็บในธนาคารเมล็ดพันธุ์

3. เมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาโดยวิธีปกติ อาจมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเกิดขึ้น

นอกจากนี้ก็ยังมิข้อสังเกตว่า การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชด้วยการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ระยะยาวเป็นเวลานานหลายสิบปี เมื่อนำเมล็ดพันธุ์นั้นมาปลูกขยายพันธุ์ พืชอาจปรับตัวไม่ได้กับสภาพแวดล้อมใหม่ที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (Anon, 1993a ; Bonner, 1990)

สรุป

ทรัพยากรพันธุกรรมพืชมีความสำคัญต่อการดำรงชีพ และความอยู่รอดของมนุษยชาติ และสิ่งมีชีวิตทุกชนิดบนโลก การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชด้วยการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ ผู้ที่เกี่ยวข้องมีความจำเป็นต้องเข้าใจธรรมชาติในการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ที่ต้องการอนุรักษ์ ตลอดจนถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษา เพื่อให้สามารถเลือกใช้เทคโนโลยีการเก็บรักษาให้เหมาะสมต่อเมล็ดพันธุ์พืช โดยสามารถรักษาความมีชีวิตและพันธุกรรมคงเดิม ง่ายต่อการปฏิบัติ ประหยัด และเป็นไปได้ในทางปฏิบัติสำหรับประเทศต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง

จเร สดากร. 2541. ความหลากหลายทางชีวภาพ.

ว. พัฒนาที่ดิน 35 : 25-32.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ และวัชรินทร์ ชุณสุวรรณ.

2542. หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชา

พืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา. 202 หน้า.

นิรนาม. 2542. คู่มือการบันทึกข้อมูลทรัพยากรพันธุกรรมพืช. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร. 210 หน้า.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศ์มณีโรจน์, บัณฑลวง จ้อยปอย และ พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2543. การเก็บรักษาพันธุกรรมพืชพื้นบ้านในระยะยาวนานภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด. หน้า 323-324. ใน : รายงานการประชุมวิชาการเมล็ดพันธุ์แห่งชาติ ครั้งที่ 5. 23-24 เมษายน 2541 ณ อาคารสารนิเทศ 50 ปี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Anon. 1993a. *Ex situ* Storage of Seeds, Pollen and *in vitro* Cultures of Perennial Woody Plant Species. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. 83 p.

Anon. 1993b. Conservation of Genetic Resources in Tropical Forest Management : Principles and Concepts. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. 105 p.

Anon. 1994. International Code of Conduct for Plant Germplasm Collecting and Transfer. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. 20 p.

Anon. 1996. Report on the State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Food and

- Agriculture Organization of the United Nations Rome. 75 p.
- Anon. 1998. The State of the World 's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. 510 p.
- Adams, R P. and J.E. Adams. 1992. Conservation of Plant Genes : DNA Banking and *in vitro* Biotechnology. Academic Press , INC San Diego. 345 p.
- Astley, D. 1992. Preservation of genetic diversity and accession integrity. *Field Crops Res.* 29 : 205-224.
- Bajaj, Y. P.S. 1995. Cryopreservation of Plant Germplasm I. Springer Berlin. 512 p.
- Bonner, F. T. 1990. Storage of seeds : potential and limitations for germplasm conservation. *For. Ecol. Manage.* 35 : 35-43.
- Chandel, K.P.S., R. Chaudhury, J. Radhamani and S.K. Malik. 1995. Desiccation and freezing sensitivity in recalcitrant seeds of tea, cocoa and jackfruit. *Ann. Bot.* 76 : 443-450.
- Chin, H.F. 1994. Seedbanks : conserving the past for the future. *Seed Sci. and Technol.* 22 : 385-400.
- Chin, H.F. and E.H. Roberts. 1980. Recalcitrant Crop Seeds. Tropical Press SDN. BHD Kuala Lumpur. 152 p.
- Chin, H.F., M. Aziz, B.B. Ang and S. Hamzah. 1981. The effect of moisture and temperature on the ultrastructure and viability of seeds of *Hevea brasiliensis*. *Seed Sci. and Technol.* 9 : 411-422.
- Chin, H.F., Y.L. Hor and M.B. Mohd Lassim. 1984. Identification of recalcitrant seeds. *Seed Sci. and Technol.* 12 : 429-436.
- Clark, R.L., H.L. Shands, P.K. Bretting and S.A. Eberhart. 1997. Managing large diverse germplasm collections. *Crop Sci.* 37 : 1-6.
- Corbineau, F. and D. Come. 1988. Storage of recalcitrant seeds of four tropical species. *Seed Sci. and Technol.* 16 : 97-103.
- Ellis, R.H., T.D. Hong and E.H. Roberts. 1985. Handbook of Seed Technology for Genebanks. Vol. I. International Board for Plant Genetic Resources Rome. 210 p.
- Fu, J.R., Q.H. Xia and L.F. Tang. 1993. Effects of desiccation on excised embryonic axes of three recalcitrant seeds and studies on cryopreservation. *Seed Sci. and Technol.* 21 : 85-95.
- Fu, J.R., B.Z. Zhang, X.P. Wang, Y.Z. Qiao and X. L. Huang. 1990. Physiological studies on desiccation, wet storage and cryopreservation of recalcitrant seeds of three fruit species and their

- excised embryonic axes. *Seed Sci. and Technol.* 18 : 743-754.
- Grout, B. W. W., K. Shelton and H.W. Pritchard. 1983. Orthodox behaviour of oil palm seed and cryopreservation of the excised embryo for genetic conservation. *Ann. Bot.* 52 : 381-384.
- Hor, Y.L., H.F. Chin and K. Mohd Zain. 1984. The effect of seed moisture and storage temperature on the storability of cocoa (*Theobroma cacao*) seeds. *Seed Sci. and Technol.* 12 : 415-420.
- Kundu, M. and J. Kachari. 2000. Desiccation sensitivity and recalcitrant behavior of seeds of *Aquilaria agallocha* Roxb. *Seed Sci. and Technol.* 28 : 755-760.
- Mwasha, A.J., R.H. Ellis and T.D. Hong. 1996. The effect of desiccation on the subsequent survival of seeds of cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Seed Sci. and Technol.* 25 : 115-122.
- Nayal, J.S., R.C. Thapliyal, M.M.S. Rawat and S.S. Phartyal. 2000. Desiccation tolerance and storage behaviour of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seeds. *Seed Sci. and Technol.* 28 : 761-767.
- Normah, M.N., D. Saraswathy, S.D. Ramiya and M. Gintangga. 1997. Desiccation sensitivity of recalcitrant seeds - a study on tropical fruit species. *Seed Sci. Res.* 7 : 179-183.
- Shands, H.L. 1995. The U.S. national plant germplasm system. *Can. J. Plant Sci.* 75 : 9-15.
- Stanwood, P.C. and L.N. Bass. 1981. Seed germplasm preservation using liquid nitrogen. *Seed Sci. and Technol.* 9 : 423-437.
- Xia, Q.H., R.Z. Chen and J.R. Fu. 1992a. Effects of desiccation, temperature and other factors on the germination of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) and longan (*Euphoria longan* Steud.) seeds. *Seed Sci. and Technol.* 20 : 119-127.
- Xia, Q.H., R.Z. Chen and J.R. Fu. 1992b. Moist storage of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) and longan (*Euphoria longan* Steud.) seeds. *Seed Sci. and Technol.* 20 : 269-279.