

ชื่อเรื่อง	การเก็บรักษาพันธุ์กรรมเอื้องแซะหลวงในสภาพปลอดเชื้อ
ชื่อผู้เขียน	นางสาวพรพรรณ สุขุมพินิจ
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ลักขณา เพ็ชรประดับ

บทคัดย่อ

การศึกษากการเก็บรักษาพันธุ์กรรมเอื้องแซะหลวงในสภาพปลอดเชื้อ แบ่งการทดลองเป็น 3 การทดลองดังนี้ การทดลองที่ 1 ศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องแซะหลวงเพื่อยืดระยะเวลาการย้ายเลี้ยง โดยใช้ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลแมนนิทอล และสารชะลอการเจริญเติบโตแพคโคลบิวทราโซลด้วยระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยใช้สูตรอาหารพื้นฐานของ Vacin and Went (1949) เติมน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 0 2 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ หรือแมนนิทอลระดับความเข้มข้น 0 2 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ หรือสารชะลอการเจริญเติบโตแพคโคลบิวทราโซลระดับความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1 ppm การทดลองที่ 2 ศึกษาวิธีการเก็บรักษาเมล็ดและโปรโตคอร์ม 2 ระยะการเจริญเติบโตคือ ระยะ pro meristematic และระยะ leaf primordia โดยใช้เทคนิคเมล็ดเทียมร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 6 เดือน และการทดลองที่ 3 ศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดและโปรโตคอร์มในไนโตรเจนเหลว ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาคารเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระศรีนครินทร์ ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2547 ถึง สิงหาคม 2548

ผลการชะลอการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องแซะหลวงภายหลังการทดลองเป็นระยะเวลา 6 เดือน ด้วยซูโครส แมนนิทอล และสารแพคโคลบิวทราโซล ในการทดลองที่ 1 พบว่าซูโครสความระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถชะลอความสูงของลำลูกกล้วยได้ 0.56 เซนติเมตร จาก 2.51 เซนติเมตรเป็น 1.95 เซนติเมตร และมีขนาดของลำลูกกล้วยเพิ่มขึ้น 0.08 เซนติเมตรจาก 0.64 เซนติเมตรเป็น 0.72 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารเพาะเลี้ยงปกติที่ใช้ซูโครสระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการใช้น้ำตาลแมนนิทอลพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์มีความสูงไม่แตกต่างกัน (1.59 1.56 และ 1.35 เซนติเมตรตามลำดับ) แต่เตี้ยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับความเข้มข้น 0 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ (1.96 1.93 และ 2.14 เซนติเมตรตามลำดับ) และที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (0.61 เซนติเมตร) มีขนาดของลำลูกกล้วยมากกว่าที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 2 เปอร์เซ็นต์ (0.49 และ 0.54 เซนติเมตร) ส่วนการใช้สาร

ชะลอการเจริญเติบโตแพคโคลบิวทราโซลพบว่าทุกระดับความเข้มข้นมีความสูงของลำลูกกล้วยไม่แตกต่างกันทางสถิติ (2.55 2.72 2.54 2.47 2.50 และ 2.39 เซนติเมตรตามลำดับ) และที่ความเข้มข้น 0.4 0.6 0.8 และ 1 ppm มีขนาดของลำลูกกล้วยไม่แตกต่างกันทางสถิติ (0.67 0.67 0.64 และ 0.70 เซนติเมตรตามลำดับ) แต่มีขนาดใหญ่มากกว่าที่ความเข้มข้น 0 และ 0.2 ppm (0.56 และ 0.54 เซนติเมตรตามลำดับ)

ผลการทดลองที่ 2 พบว่าสามารถเก็บรักษาเมล็ดได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเท่านั้นเป็นระยะเวลา 4 เดือน และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงตามจำนวนเดือนที่เก็บรักษา (66 64 23 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) นอกจากนั้นยังพบว่าใช้ระยะเวลาในการงอกนานขึ้นตามลำดับคือ 38 48 63 และ 75 วัน ส่วนเมล็ดที่เคลือบด้วยสารอัลจินตสามารถเก็บรักษาได้นาน 4 เดือนเช่นเดียวกัน และต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเท่านั้น โดยไม่สูญเสียความงอก (100 เปอร์เซ็นต์) และงอกได้เร็วกว่าเมล็ดที่ไม่ได้เคลือบ (23 29 32 และ 32 วันตามลำดับ) สำหรับการเก็บรักษาโปรโตคอร์มที่เคลือบด้วยสารอัลจินตเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าสามารถเก็บรักษาเมล็ดเทียมได้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเท่านั้นและเก็บรักษาได้นาน 4 เดือน โดยมีความสามารถในการเจริญและพัฒนาลดลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษาที่นานขึ้น (62 35 23 และ 18 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบว่าระยะการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มทั้ง 2 ระยะมีความสามารถในการเจริญและพัฒนาไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อพิจารณาจากระยะเวลาที่โปรโตคอร์มมีการพัฒนาภายหลังการเก็บรักษาพบว่าระยะ pro meristematic ใช้ระยะเวลาในการฟื้นตัวน้อยกว่าระยะ leaf primordia

ผลการเก็บรักษาเมล็ดและโปรโตคอร์มของเอื้องแซะในไนโตรเจนเหลวในการทดลองที่ 3 พบว่า เมล็ดสามารถเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวได้แต่ต้องเติมสารละลาย PVS2 โดยการเติมสารละลาย PVS2 เป็นระยะเวลา 50-80 นาที เมล็ดสามารถงอกภายหลังการแช่แข็งได้เร็วที่สุดคือ 120 วัน ซึ่งงอกได้เร็วกว่าการเติมสารเป็นระยะเวลา 10 20 30 และ 40 นาที (147 153 155 และ 130 วันตามลำดับ) แต่เมล็ดสูญเสียความงอกทั้งหมด (0 เปอร์เซ็นต์) หากไม่เติมสารละลาย PVS2 ก่อนการเก็บแช่แข็ง และพบว่าวิธีการที่ศึกษาไม่สามารถเก็บรักษาโปรโตคอร์มในไนโตรเจนเหลวได้

Title	<i>In vitro</i> Conservation of <i>Dendrobium scabrilingue</i> Lindl.
Author	Miss Pornpan Sukhumpinij
Degree of	Master of Science in Horticulture
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr.Luckana Phetpradap

ABSTRACT

The study on *in vitro* conservation of *Dendrobium scabrilingue* Lindl. consisted of three experiments with the first experiment considering the effects of sucrose, mannitol and paclobutrazol in reducing plant growth to prolong subculture with Vacin and Went (1949) media supplementation, different concentrations of sucrose (0, 2, 4, 6, 8 and 10%), mannitol (0, 2, 4, 6, 8 and 10%) and paclobutrazol (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1 ppm) were used. The second experiment involved seed and protocorm (pro-meristematic and leaf primordia stages) encapsulation and storage at 4° and 25°C for 6 months. The last experiment was on the cryopreservation of seed and protocorm. All experiments were conducted at the Tissue Culture Laboratory, Department of Horticulture, Maejo University, Chiangmai during November 2004 to August 2005.

Results from the first experiment showed that 10% sucrose could reduce plant height for 0.56 cm (from 2.51 to 1.95 cm) and was able to increase psuedo-bulb diameter for 0.08 cm (from 0.64 to 0.72 cm) when compared with basic medium (2% sucrose). For mannitol, plant height was reduced when applied with 6, 8 and 10% (1.59, 1.56 and 1.35 cm, respectively) which were significantly higher than those applied with 0, 2 and 4% (1.96, 1.93, and 2.14 cm, respectively). When plants were treated with 10% mannitol, psuedo-bulb diameter was larger than those at 0 and 2% (0.49 and 0.54 cm, respectively). Paclobutrazol on the other hand, gave no significant differences on plant height (2.55, 2.72, 2.54, 2.47, 2.50 and 2.39 cm, respectively) but at concentrations 0.4, 0.6, 0.8 and 1 ppm, plants gave larger psuedo-bulb diameter (0.67, 0.67, 0.64 and 0.70 cm, respectively) than those at 0 and 0.2 ppm (0.56 and 0.54 cm)

The second experiment found that seeds could only be kept at 4°C for 4 months. However, reduction in germination percentage (66, 64, 23 and 10%) took place when storage was prolonged (38, 48, 63 and 75 days, respectively). On the other hand, encapsulated seeds could be stored only at 25°C for 4 months with 100% germination achieved every month and with faster

days to germination than stored seeds (23, 29, 32 and 32 days). Both developmental phases of encapsulated protocorms (pro-meristematic and leaf primordia stages) showed no significant differences on growth and development but survival occurred only when kept at 25°C with decreasing percentage of growth (62, 35, 23 and 18% after 1, 2, 3 and 4 months of storage , respectively). Pro-meristematic stage protocorm could regenerate faster than leaf primordia stage protocorm.

The last experiment involving of cryopreservation of seed and protocorm showed that seeds could be stored in liquid nitrogen only when treated with PVS2 solution. Seeds treated with PVS2 solution 50-80 minutes before plugging of liquid nitrogen, took 120 days to germinate which was much faster than those treated at 10, 20, 30 and 40 minutes (147, 153, 155 and 130 days, respectively). Both protocorm and encapsulated protocorm were found to have no survival after storage in liquid nitrogen.