การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชพื้นบ้านและสมุนไพรในระยะยาวนาน ภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด

ภาณี ทองพำนัก[1] มงคล พุทธวงศ์[2] สนั่น คุ้มกลาง[2] องอาจ หาญชาญเลิศ[3] บัวหลวง พันแปร[1] กัลยา พูลทรัพย์[1] สมใจ กล่ำทอง[1] และ ประเทือง ดอนสมไพร[1]

[1]ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน
[2]สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตน่าน จ. น่าน
[3]สถานีวิจัยปากช่อง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

Long term storage of native plant and medicinal plant seeds under liquid nitrogen

Panie Tongpamnak[1], Mongkol Putawong[2], Sanan Kumklang[2] Bualuang Panprae[1] and Pratrung Donsomprai[1]

[1]Central Laboratory and Greenhouse Complex, Kasetsart University Research and Development Institute, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom; [2]Rajamangala University of Technology Lanna, Nan Campus, Nan

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาหาเทคนิคและวิธีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชสมุนไพร และพืชพื้นบ้านในสภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว ณ อุณหภูมิ -196°ซ เมล็ดพันธุ์ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพดังกล่าวเป็นเวลานานกว่า 4 ปียังคงมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากัน หรือเหนือกว่าเมล็ดปกติ เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว 15 พันธุ์ ไปปลูกเปรียบเทียบในแปลงทดลองระหว่างต้นแม่ และลูกชั่วที่ 1 ของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเย็นยิ่งยวด ไม่พบความแตกต่างของการเจริญเติบโตของต้นกล้าและการออกดอก หลังการเก็บเกี่ยวไม่พบความแตกต่างคุณภาพและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ ขณะนี้โครงการได้ทำการเก็บรักษา เมล็ดพันธุ์พืชผักพื้นบ้าน ข้าวพื้นบ้าน และพืชสมุนไพร ไม้ยืนต้น ไว้ในถังบรรจุไนโตรเจนเหลว จำนวนมากกว่า 100 ชนิดพืช รวมทั้งสิ้น 401 เชื้อพันธุ์ และได้บันทึกลักษณะประจำพันธุ์ไว้ใน ระบบฐานข้อมูล

คำสำคัญ: พืชพื้นบ้าน เก็บรักษา ยาวนาน ไนโตรเจนเหลว

Abstract

Cryopreservation techniques were conducted using seeds of several kinds of medicinal and native plant kept in liquid nitrogen (-196°C) for long term storage of germplasm. After four years storage in liquid nitrogen, the seeds still keep in normal growth of seedlings and their

percentage of germination in average were improved. After 4 years keeping yard long bean seeds in liquid nitrogen tank, fifteen cultivars were sown in the field comparing with their progeny in first generation (F_1) seeds. There were no difference between them of neither flower and pod color nor pod size and shape. One hundred kinds of plants included 401 accessions were being collected in storage tank and database.

Key words: local seeds, storage, long term, liquid nitrogen

บทนำ

ในประเทศไทย มีลักษณะของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์อากาศสูง ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความชื้นในเมล็ดสูงที่จุดสมดุล ทั้งสองปัจจัยทำให้เมล็ดพันธุ์พืช เสื่อมความงอกอย่างรวดเร็ว การลดความชื้นในเมล็ด และบรรจุในภาชนะปิดผนึก ก็สามารถชะลอความเสื่อมของเมล็ดได้บ้าง (ภาณี ทองพำนัก *และคณะ,* 2539) การเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุกรรมพืช แม้ว่าจะเก็บรักษาไว้ในโรงเก็บในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 50% อุณหภูมิ 10-150°ซ ก็ยังจำเป็นต้องนำมาปลูกเพื่อสืบทอดพันธุ์ และรักษาความงอกอย่างน้อยปีเว้นปี หรือแม้ว่ามีการเก็บรักษาในระยะยาวตามมาตรฐานสากล คือ อุณหภูมิ -180ซ และความชื้นสัมพัทธ์ <40% ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4-6% ก็ยังมีขบวนการ metabolism และความมีชีวิตของเมล็ดยังลดลงได้ (International Board for Plant Genetic Resources, IBPER, 1976) ทำให้สิ้นเปลืองเมล็ด และมีความจำเป็นต้องนำมาปลูกเพื่อสืบทอดพันธุ์เช่นกัน ซึ่งเมื่อนำมาปลูกบ่อยครั้งจะทำให้พันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไปได้ เนื่องจากผลของสภาพแวดล้อม เช่น โรค แมลง ในขณะการเจริญเติบโต (Allard, 1970) ยังต้องสูญเสียค่าใช้จ่าย และต้องการนักวิชาการเฉพาะด้านในการปลูกดูแลรักษาและเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ รวมถึงการปรับปรุงสภาพ และการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้ถูกต้องตามหลักวิชาการ

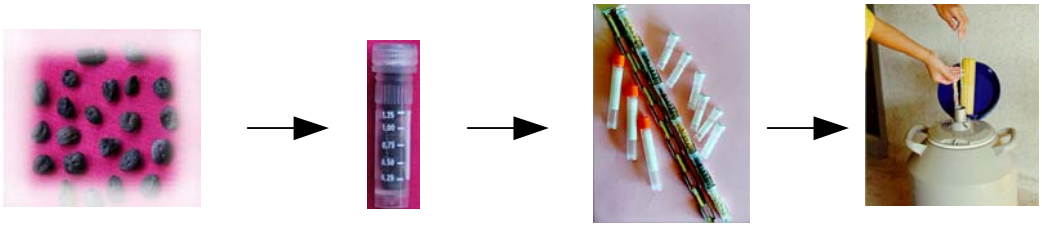
การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ เป็นเวลายาวนานภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว ณ อุณหภูมิ -196^{0}ซ ซึ่งสามารถหยุดปฏิกิริยาทางชีวเคมี การย่อยสลายและการแบ่งเซลล์โดยสิ้นเชิง เมื่อละลายเกล็ดน้ำแข็งออก เมล็ดพันธุ์พืชที่เก็บก็ยังคงมีชีวิตดังเดิม โดยไม่มีการเสื่อมความงอกหรือกลายพันธุ์ เพราะไม่ต้องนำเมล็ดไปปลูกเพื่อสืบทอดพันธุ์ ในช่วงเวลาของการเก็บรักษาพันธุ์แต่อย่างใด เป็นการลดปัญหาการกลายพันธุ์ในตัวของพืชเอง หรือลดการปนของพันธุ์ อันเนื่องจากการผสมข้ามต้นหรือข้อผิดพลาด จากการปฏิบัติงานของผู้ปฏิบัติเอง วิธีการดังกล่าวจะช่วย อนุรักษ์พันธุกรรมพืชไม่ได้สูญหาย หรือถูกทำลายไป โดยภัยธรรมชาติ หรือโรคแมลง หรือการกลายพันธุ์สะดวกต่อการใช้และไม่เปลืองเนื้อที่ สามารถเก็บรักษาเมล็ด 216 หลอด หรือเทียบเท่ากับ 216 ตัวอย่าง ในถังบรรจุไนโตรเจนเหลวปริมาตร 35 ลิตร โดยไม่ต้องใช้กระแสไฟฟ้า สามารถทำได้แม้แต่ในสภาพสถานที่ทุรกันดาร ไม่มีไฟฟ้าใช้ ประหยัดค่าใช้จ่าย และแรงงานในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืช แทนการเก็บรักษาในห้อง ควบคุมคุณภาพใต้จุดเยือกแข็ง ซึ่งต้องการค่าใช้จ่ายสูงในเรื่องกระแสไฟฟ้า

ในเรื่องการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ เป็นเวลายาวนานภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวดนั้น Sakai and

Noshiro (1975) ได้เริ่มทำการศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชบางชนิด ต่อมา Stanwood และ Bass (1981) ได้ทำการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุกรรมทั้งพืชไร่ พืชสวน ไม้ดอก และไม้ยืนต้น ได้สำเร็จมากกว่า 120 ชนิด สำหรับในประเทศไทย คณะผู้วิจัยได้ดำเนินการวิจัยและสรุปผลการวิจัยเมล็ดพันธุ์พืชผักทุกชนิด เช่น แมงลัก พริก มะเขือเทศ กระเจี๊ยบเขียว แตงกวา แคนตาลูป กวางตุ้งดอก ผักคะน้า และถั่วฝักยาว เป็นต้น สามารถเก็บรักษาในสภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว ซึ่งมีอุณหภูมิ -196°ซ เมื่อต้องการใช้ทำพันธุ์ จึงนำออกมาจากถังไนโตรเจนเหลว แล้วนำไปเพาะปลูกได้ทันที (ภาณี ทองพำนัก *และคณะ*, 2542) นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาวิจัย เก็บรักษาเฉพาะส่วนที่มีชีวิตในเมล็ดพันธุ์ ซึ่งเรียกว่า คัพภะ (embryo) ในไนโตรเจน เมื่อต้องการไปใช้ทำพันธุ์ ต้องผ่านขั้นตอนการนำไปเพาะเลี้ยง บนอาหารสูตร MS ย้ายกล้าลงอนุบาลในวัสดุปลูกให้แข็งแรง จึงนำไปปลูกในแปลง ชิ้นส่วนนี้มีขนาดเล็กจิ๋วทำให้ประหยัดพื้นที่ โดยทดลองในถั่วเหลืองและถั่วเขียว (ภาณี ทองพำนัก *และคณะ*, 2541) สำหรับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว สามารถเก็บรักษาคัพภะได้ 200 ชิ้น (เป็นส่วนมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว 200 เมล็ด) ใน cryotube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เพียง 1 หลอด แทนการเก็บรักษา เมล็ดถั่วฝักยาว 200 เมล็ดซึ่งต้องใช้หลอดบรรจุขนาดเดียวกันถึง 50 หลอดเลยทีเดียว ในปี 2541-2542 ได้นำเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเย็นยิ่งยวด ไปทดสอบในแปลงปลูก และบันทึกลักษณะการ เจริญเติบโต และลักษณะประจำพันธุ์ เปรียบเทียบเมล็ดพันธุ์ปกติ พบว่าเมล็ดพันธุ์เหล่านั้น สามารถนำมาปลูกและสืบทอดพันธุ์ได้อย่างไม่มีการเปลี่ยน แปลงพันธุ์ (ภาณี ทองพำนัก *และคณะ*, 2542) ในช่วงปี 2546-2548 นี้ ได้ขยายการวิจัยการเก็บรักษาสมุนไพร และพืชพื้นบ้านต่าง ๆ

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

นำเมล็ดที่เก็บ มาทำความสะอาด ผึ่งแดดให้แห้งจากนั้นจึงนำเมล็ดพันธุ์บรรจุในหลอดพลาสติกที่ทนอุณหภูมิได้ถึง -200°ซ แล้วนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา ต่าง ๆ กัน 1 - 4 ปี จึงทำการสุ่มบางส่วน นำเมล็ดทดสอบความมีชีวิตโดยนำมาละลายเกลือน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง (25°ซ) เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวมาทดสอบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดตามวิธีการของ International Seed Testing Association, ISTA (1993) เพาะในทรายหรือดินขึ้นอยู่กับชนิดพืช ในกล่องพลาสติกวงกลมขนาดกว้าง x สูง เท่ากับ 13 x 4 ซม.



Seeds **Dried and sealed in cryotube** **LN tank, -196 °C**

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

เมล็ดพันธุ์พืชพื้นบ้าน และสมุนไพรที่เก็บรักษาไว้ในไนโตรเจนเหลว ณ อุณหภูมิ -196^{0}ซ เป็นระยะเวลาต่างกัน ตั้งแต่ 1 - 4 ปี พบว่าเมล็ดพันธุ์เหล่านั้น ยังคงงอกและเจริญเป็นต้นกล้าปกติ และบางชนิดมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูง ขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดปกติ เช่น ผักกาดหอมป้อม เมล็ดพื้นบ้านจากจังหวัดเชียงใหม่ เมล็ดพันธุ์มะละกอ มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำกว่าเมล็ดปกติ 5% เมล็ดพันธุ์มะขามเทศ มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงขึ้นกว่าเมล็ดปกติ 15 - 20 % สำหรับเมล็ดพันธุ์ไม้ยืนต้น เช่น จามจุรี มีการงอกสูงขึ้นกว่าปกติร้อยละ 50 เป็นต้น สันนิษฐานว่า ความเย็นยิ่งยวดมีส่วนไปทำลายอายุการพักตัวของเมล็ดพันธุ์ที่มีเปลอกหุ้มเมล็ดหนา ดังเช่น เมล็ดพันธุ์ประดู่ มีปัญหาเมื่อนำไปเพาะปลูกในสภาพเหมาะ- สมก็ไม่งอก หลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวแล้วพบว่า มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 70% อย่างไรก็ตามภายใต้สภาวะการเก็บรักษาวัสดุใด ๆ ในไนโตรเจนเหลวเพียง 1 ชั่วโมง เทียบได้ว่า เก็บรักษาไว้เป็นเวลาล้านปี (Standwood and Bass, 1981) ในที่นี้ได้ทำการทดลองเพื่อตอบคำถามและข้อข้องใจ ซึ่งพิสูจน์ได้ตามสมมติฐาน เนื่องจากว่า ทันทีที่เมล็ดถูกหย่อนลงไปสัมผัสกับไนโตรเจนเหลวในถังบรรจุ ทุกส่วนจะแข็งตัวเป็นน้ำแข็งทันที และไม่มีการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ทางสรีระและชีวเคมี เมื่อเมล็ดนั้นไปปลูกก็จะงอกเป็นต้นกล้าปกติได้ (*ตารางที่ 1*)

ตารางที่ 1: Percentage of seed germination before and after storage in liquid nitrogen for either one hour or longer period.

Sample No.	Kind of plants	Code number	Germination before LN, %	Germination one hour after LN, %	Germination, %	storage period, years
1	*Phaseolus vulgaris*	KPS-1	96.5	98	90	3
2	*Phaseolus vulgaris*	KPS-2	91	96.5	100	3
3	*Phaseolus vulgaris*	UT 1	91	90.5	100	3
4	*Glycine max*	OCB	98	80	85	3
5	*Glycine max*	DK	96.5	86.5	85	3
6	*Glycine max*	Kaori	55	-	40	1
7	*Glycine max*	No 75	60	-	60	1
8	*Glycine max*	No 292	58	-	70	1
9	*Pithecolobium dulce* มะขามเทศ	A 1	90	90	95	5
10	*Pithecolobium dulce* มะขามเทศ	A 2	0	-	50	4
11	*Pithecolobium dulce* มะขามเทศ	A 7	87	-	100	1
12	*Pithecolobium dulce* มะขามเทศ	A 12	100	-	90	1
13	*Pithecolobium dulce* มะขามเทศ	A 13	47	-	70	4 1/4
14	*Carica papaya*	MO 1	65	-	60	2
15	*Carica papaya*	MO 3	75	70	70	2
16	*Carica papaya*	MO 4	95	90	90	2
17	*Carica papaya*	MO 8	70	80	80	2
18	*Carica papaya*	FT 3	95	95	93	4 1/4

Sample No.	Kind of plants	Code number	Germination before LN, %	Germination one hour after LN, %	Germination, %	storage period, years
19	*Carica papaya*	FT 7	90	100	100	1
21	*Crum opticum* ผักชีลาว	SUT 1	73	90	90	1
22	*Cucumber sp* แคนตาลูป	CR 1	78.5	79.5	70	4 1/4
23	*Milingtonia hortensis* ปีบ	PP 1	30	-	20	1
24	*Caesalpinia pulcherrima* หางนกยูงไทย	KB 4	80	60	80	1
25	*Bauhinia malabarica* สัมเสี้ยว	SS 2	34	70	70	1
26	Samanea saman จามจุรี	JJR 1	20	37.5	70	1
27	*Pterocarpus macrocarpus* ประดู่	PD 2	0	60	60	1
28	*P. macrocarpus* ประดู่	PD 3	0	80	80	1
29	*Cassia bakriana* กัลปพฤกษ์	KLP 1	20	20	20	4

เมื่อสุ่มตัวอย่าง เมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวจำนวน 50 พันธุ์ ที่เก็บรักษาไว้ในไนโตรเจน เหลว เป็นระยะเวลา 4 ปี ปลูกเปรียบเทียบกับลูกชั่วที่1 ในแปลงทดลอง ไม่พบความแตกต่าง ของการเจริญเติบโตของต้นกล้าและช่วงเวลาการออกดอก สีของดอก ดังแสดงใน *ตารางที่ 2* หลังการเก็บเกี่ยว ไม่พบความแตกต่างคุณภาพ และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ ผลการทดลองนี้สนับสนุนผลการ วิจัยในถั่วเขียว (Tongpamnak *et al.*, 2000a) และในถั่วฝักยาว (Tongpamnak *et al.*, 2000b) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมระหว่างเมล็ดปกติ และเมล็ดที่เก็บรักษาไว้ในไนโตรเจนเหลว โดยการตรวจสอบด้วยลายพิมพ์ AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

ตารางที่ 2: Comparing plant type character between mother plants and F_1 plants of fifteen yard long bean cultivars.

Cultivar code	LN seeds of Female/F1	Germination, %	50% lowering date	Pod wt., gm	Pod length, cm	Pod size	Pod color
ST1	LN female	91	35	20.1	53.9	83/66	light green
ST1	LN -F1	92	36	19.48	54.1	82/67	dark green
ST2	LN female	93	32	13.99	40.9	76/62	light green
ST2	LN -F1	89	32	13.48	39.7	77/63	light green
KU8	LN female	90	34	15.9	54.9	75/63	light green
KU8	LN -F1	88	34	16.02	56.3	76/64	light green
RW24	LN female	93	37	22.38	59.1	80/70	light green
RW24	LN -F1	91	39	21.46	60.2	80/71	light green
CO8	LN female	92	38	16.35	47.9	74/62	light green

Cultivar code	LN seeds of Female/F1	Germination, %	50% lowering date	Pod wt., gm	Pod length, cm	Pod size	Pod color
CO8	LN -F1	96	39	15.98	48	76/63	light green
KIP15	LN female	89	38	18.94	57.1	75/63	light green
KIP15	LN -F1	90	39	19.04	56.5	74/62	light green

ในปัจจุบันมีเมล็ดพันธุ์พืชพื้นบ้าน และสมุนไพรมากกว่า 100 ชนิด (species) 400 เชื้อพันธุ์ (*ตารางที่ 3*) ตัวอย่างเช่น ฟักทอง แตงไทย ตำลึง มะแว้งขม มะแว้งกอ พริก พริกชี้ฟ้า พริกขี้หนูหอม พริกขี้หนูสวน มะระขี้นก มะระขี้นกลูกกลมเล็ก มะเขือเปราะ มะเขือกรอบ มะเขือข้างลายกรอบ ถั่วฝักยาว งาขี้ม้อน งาขาว งาดำ ผักขี้หูด ผักหอมป้อม ผักกาดหัว ผักกาดเขียว มะเขือเทศดอกขจร กระทกรก กระทกรกแม้ว ยอโนนิ ยอพื้นบ้าน หางปลาหลด โหระพาช่อยาว แมงลักแตงกวาผลสี่เหลี่ยม ฟักผลสี่เหลี่ยม ฟักลูกดก ข้าวไร่-ข้าวเจ้า ข้าวนา-ข้าวเจ้า ข้าวนา-ข้าวเหนียว ข้าวไร่-ข้าวเหนียว มะแว้งเครือ มะแว้งบก แคฝรั่ง พฤกษ์ จามจุรี จามจุรีสีทอง กัลปพฤกษ์ มะขามเทศหวาน มะกล่ำตาควาย มะกล่ำเผือก ชงโค ส้มเสี้ยว ชมพูพันธุ์ทิพย์ ราชพฤกษ์ เพกา ปีบ ภู่จอมพล หางนกยูงไทย หางนกยูงฝรั่ง ยี่เข่ง ย่านางแดง ขี้เหล็ก อินทนิล ทรงบาดาล ประดู่ ทองอุไรคราง ตันหยง ตะแบก โนราห์ โมกมัน สัตบันส้มป่อย จำปาเทศ เป็นต้น โครงการได้รับการสนับสนุน การเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์ จากโรงเรียนต่าง ๆ ทั่วประเทศที่เป็นสมาชิกโครงการสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียน ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และจากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตน่าน ได้ร่วม มือในการเก็บรักษา และจัดทำฐานข้อมูลข้าวพื้นบ้านจำนวน 188 สายพันธุ์ นอกจากนั้น เมื่อมีโอกาสเดินทางไปสัมมนา ได้เก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์ถั่ว และมะละกอจากประเทศเคนยา จำนวน 15 ชนิดพืช รวม 21 เชื้อพันธุ์

นอกจากนั้น งานเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืช ได้จัดอบรมเรื่อง การผลิตและควบคุมคุณภาพ เมล็ดพันธุ์พืชในระบบ GAP เกษตรอินทรีย์ และเกษตรยั่งยืน ซึ่งครอบคลุมถึงเทคนิคและวิธีการเก็บเกี่ยว ปรับปรุงสภาพ และเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชพื้นบ้าน แก่เกษตรกร และการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาวะเย็นยิ่ง ยวด แก่บุคลากรภาครัฐ และเอกชนที่มีหน่วยงานปรับปรุงพันธุ์

ตารางที่ 3: Number of seed accessions stored in liquid nitrogen tank

Plant Groups	Number of species (Kinds)	Accession numbers
Local vegetables	37	99
Local rice	4	188
Medicinal Plant and Tree	44	93
Local seeds from Kenya	15	21
Total	100	401

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ ในสภาวะเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว สามารถทำได้ในเมล็ดทุกชนิดในกลุ่ม Orthrodox ได้แก่ เมล็ดพืชผักพื้นบ้าน สมุนไพร และไม้ยืนต้นที่ทนต่อสภาพแห้ง หรือสภาพการสูญเสียความชื้น เมล็ดที่ได้รับการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวยัง คงงอกเจริญเติบโตเป็นต้นปกติ และอายุการพักตัวจะถูกทำลายไป เมื่อผ่านการเก็บรักษาในสภาพเย็นจัด ภายใต้สภาวะเย็นยิ่งยวด ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม ของเมล็ดพันธุกรรม

เอกสารอ้างอิง

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศ์มณีโรจน์, บัวหลวง จ้อยปอย และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2541. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง และถั่วเหลืองฝักสดภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว. ในการประชุมถั่วเหลืองแห่งชาติ ครั้งที่ 7 ณ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช จ. นนทบุรี.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศ์มณีโรจน์, บัวหลวง จ้อยปอย และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2542. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ และคัพภะ ภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด. ในการประชุมวิชาการเทคนิคของวิธีการทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ครั้งที่ 15 เรื่อง เทคโนโลยี เพื่อคุณภาพผลผลิตทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพง-แสน นครปฐม.

ภาณี ทองพำนัก, บัวหลวง พันแปร, มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และประเทือง ดอนสมไพร. 2542. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ และคัพภะพืชผักในสภาพเย็นยิ่งยวด. ในการประชุมสัมมนาวิชาการพันธุ์ศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 11 เรื่องพันธุศาสตร์ช่วยชาติแก้วิกฤติ. มหาวิทยาลัยสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศ์มณีโรจน์, บัวหลวง จ้อยปอย และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2543. การเก็บรักษาพันธุกรรมพืชพื้นบ้าน ในระยะยาวนานภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด. ในการประชุมวิชาการเมล็ดพันธุ์แห่งชาติ ครั้งที่ 5. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

Allard, R.W. 1970. Problems of maintenance. pp. 491-494. In O.H. Frankel and E. Bennett (eds.). Genetic Resources in Plants-Their Exploration and Conservation. IBP handbook no. 11.

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem Bull. 19:11-15.

International Seed Testing Association. 1993. International Rule for Seed Testing. Seed Sci. and Technol. 21, Supplement:2-228.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473.

Sakai, A. and Noshiro, M. 1975. Some factors contributing to the survival of crop seeds cooled to the temperature of liquid nitrogen. pp. 317-326. In O.H. Frankel and J.G. Hawkes (eds.). Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow. IBP handbook no. 2. Cambridge University Press, Cambridge.

Stanwood, P.C. and Bass, L.N. 1981. Seed germplasm preservation using liquid nitrogen. Seed Sci. & Technol. 423-437.

Tongpamnak P., Panprae, B., Patanatara, A., Sornsuwanwut, T., Jitraksa, A., and Srinives, P. 2000. Genetic stability and seedling growth of mungbean (*Vigna radiata*) varieties after cryopreservation of seed and excised embryo. In International Conference on Science and Technology for Managing Plant Genetic Diversity in the 21st Century, June 11-18, 2000. Kuala Lumpur, Malysia.

Tongpamnak, P., Panprae, B., Patanatara, A., Sornuwanwut, T., Jitraksa, A., Wongmaneeroj, M., and Srinives, P. 2000. Genetic stability and seedling growth of yard long bean varieties after cryopreservation of seed and excised embryo. In International Conference on Tropical Agriculture Technology for Better Health and Environment. Nov. 29-Dec. 2, 2000. Kasetsart University, Kamphaeng-saen, Nakhon Pathom, Thailand.