

ตัวอย่างการเขียนเรื่องเต็ม

ชื่อเรื่อง: ขนาด 16 pt,
จัดกึ่งกลาง ตัวใหญ่และหนา

การศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาคัพภะหวายในสภาพเย็นยิ่งยวด OPTIMIZATION OF CRYOPRESERVATION TECHNIQUE OF RATTAN'S EMBRYO

ชื่อผู้แต่ง: ขนาด 14 pt จัด
กึ่งกลาง ตัวปกติ

กำไล เรียนหัตถกรรม¹, สนธิชัย จันทน์เปรม², ภานิ ทองพานัก³,
ศิริกุล เกษา¹, ปิยรัชฎ์ เจริญทรัพย์¹ และพรชัย จุฑามาต¹
Kamlai Reanhatthakam¹, Sontichai Chanprame², Panie Tongpamnak³,
Sirikool Kesa¹, Piyarat Chareonsap¹ and Pornchai Jutamas¹

ที่อยู่: ขนาด 12 pt
จัดชิดซ้าย ตัวเอียง

¹โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สวนจิตรลดา เขตดุสิต กทม. 10303, ²ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน นครปฐม 73140, ³ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง 7 สถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
¹Plant Genetic Conservation Project, Chitralada Villa, Dusit, Bangkok 10303, ²Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 7314, ³Central Laboratory and Greenhouse Complex, Research and Development Institute Kasetsart University Kamphangsaeen Nakhon Pathom 73140

หัวข้อบทคัดย่อ:
ขนาด 14 pt,
ชิดซ้าย ตัวหนา

บทคัดย่อ

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ได้เก็บรวบรวมหวายที่มีคุณค่าใน *in vitro* และ *ex situ* และการเก็บรักษาพันธุกรรมที่นานที่สุด คือการเก็บในสภาพเย็นยิ่งยวด จึงศึกษาการเก็บรักษาคัพภะหวาย 3 ชนิด ซึ่งเป็นตัวอย่างทดลองจากหวายชนิดในท้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อพ.สธ. สวนจิตรลดา ได้แก่ หวายน้ำผึ้ง หวายกำพวนเล็ก และหวายซี่ไ้ ในไนโตรเจนเหลว 3 วิธีการ คือ vitrification-dehydration, encapsulation-dehydration และ encapsulation- vitrification ก่อนการเก็บรักษา คัพภะจะต้องผ่านขั้นตอนการเตรียมความพร้อม และเติมสารป้องกันความเย็นในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ พบว่า คัพภะของหวายทั้ง 3 ชนิดที่ผ่านการเตรียมความพร้อมแต่ไม่แช่ไนโตรเจนเหลว มีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 3 วิธีการ ส่วนคัพภะของหวายทั้ง 3 ชนิด ที่แช่ไนโตรเจนเหลวโดยวิธี vitrification-dehydrationและวิธี encapsulation-vitrification ไม่พบการรอดชีวิต ส่วนวิธี encapsulation-dehydration พบการรอดชีวิตของคัพภะของหวายหวายน้ำผึ้ง หวายกำพวนเล็ก และหวายซี่ไ้ เป็น 20, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การเตรียมความพร้อมของคัพภะทำโดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร preculture เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำคัพภะมาทำ encapsulation แล้วแช่คัพภะใน loading solution สารป้องกันความเย็นที่มี 2 M glycerol + 0.4 M sucrose เป็นเวลา 0, 20 และ 30 นาที จากนั้นวาง bead บน silica gel ปริมาณ 50 กรัมต่อคัพภะ 20 ชิ้น เป็นเวลานาน 14 และ 21 ชั่วโมง เพื่อลดปริมาณน้ำในเซลล์ก่อนนำไปแช่ไนโตรเจนเหลว วิธีการที่ให้ผลดีที่สุด คือ แช่สาร loading solution 30 นาที และลดปริมาณน้ำด้วย silica gel 14 ชั่วโมง ก่อนนำไปแช่ไนโตรเจนเหลว แล้วนำมาละลายน้ำแข็ง และนำไปเลี้ยงบนอาหาร preculture 1 วัน หลังจากนั้นแคะเอาเฉพาะส่วนคัพภะย้ายมาเลี้ยงบนอาหาร MS นาน 1 เดือน คัพภะสามารถรอดชีวิตได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในหวายซี่ไ้

เนื้อหา
บทคัดย่อ:
ขนาด 14 pt,
จัดเท่ากันทั้ง
สองด้าน ตัว
ปกติ

หัวข้อบทคัดย่อ:
ขนาด, 14 pt,
จัดชิดซ้าย
ตัวหนา

Abstract

Plant Genetic Conservation Project under the Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn (RSPG) has collected valuable rattan species and preserved then using *in vitro* and *ex situ* methods. Cryopreservation technique can preserve genetic resources for the longest period of time and this technique is used to determined preservation of 3 rattan species; *Calamus* sp., *Calamus longisetus* Griff., *Calamus myrianthus* Becc. Which are the rattan cultured at tissue culture laboratory, RSPG. in liquid nitrogen was studied using vitrification-dehydration, encapsulation-dehydration and encapsulation- vitrification . The preculturing and the cryoprotectant immersion duration were also

เนื้อหาบทคัดย่อ:
ขนาด, 14 pt, จัด
เท่ากันทั้งสองด้าน
ตัวปกติ

ตัวอย่างการเขียนเรื่องเต็ม

experimented in order to study the most suitable condition for this method. The survival rate of embryos before liquid nitrogen immersion was 100% and after liquid nitrogen immersion was 20, 80 and 100% in *Calamus sp.*, *C. longisetus* Griff., *C. myrianthus* Becc, respectively. The most suitable method was to preculture the embryos on precultured medium for seven days. The embryos were then encapsulated and left in loading solution containing 2M glycerol and 0.4M sucrose for 0,20 and 30 minutes. The encapsulated embryos were then dehydrated using silica gel (20embryos per 50 g silica gel) for 14 and 21 hours. After that the encapsulated embryos were plunged into liquid nitrogen. After thawing and reculturing on preculture medium for 1 days, the embryos were taken out from supported medium and transferred onto MS medium . They were then incubated for 1 month and it was found that survival rate of embryos was 100% in *C. myrianthus* Becc.

คำสำคัญและ
ติดต่อกวีวิจัย
ขนาด 12 pt., จัด
ชิดซ้าย ตัวหนา
ตรงหัวข้อ แต่
เนื้อความตัวปกติ

คำสำคัญ : การเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว, หวาย, encapsulation-dehydration

Keywords: cryopreservation, rattan, encapsulation-dehydration

*ติดต่อกวีวิจัย : กำไล เรียนหัตถกรรม (อีเมล kamlai@rspg.org)

*Corresponding author: Kamlai Reanhatthakam (Email: kamlai@rspg.org)

เนื้อหาขนาด 14 pt., จัดหน้าแบบ
เท่ากันทั้งสองด้าน และแบ่งเป็น 2
คอลัมน์

หัวเรื่องเช่น
บทนำ วิธีการ
ทดลอง :
ขนาด 14 pt.,
จัดชิดซ้าย
ตัวหนา

บทนำ

หวายเป็นพืชวงศ์ Palmae เป็นเถาเลื้อยลำต้นป็นปายตามต้นไม้ มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนแถบโลกเก่า (Old World tropics) และเขตกึ่งร้อน ในโลกมีหวายทั้งหมด 13 สกุล 600 ชนิด (Zehui, 2007) ในประเทศไทย พบ 6 สกุล 62 ชนิด คือ สกุล *Calamus*, *Daemonorops*, *Korthalsia*, *Plectocomia*, *Plectocomiopsis* และ *Myrialepsis* (Sutthisirilapa, 2004) พบมากบริเวณป่าดิบชื้นทางภาคใต้ของประเทศ หวายเป็นผลผลิตที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ได้มาจากป่า สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการทำเครื่องจักสาน ส่วนใหญ่ใช้ทำเฟอร์นิเจอร์ เพื่อส่งออกและใช้ภายในประเทศ ปัจจุบันประเทศประสบกับภาวะการขาดแคลนวัตถุดิบหวายเพื่อใช้ทำเฟอร์นิเจอร์เนื่องจากหวายหลายชนิดที่มีคุณภาพดีถูกตัดออกมาใช้กันอย่างไม่มีมีการควบคุมและขาดการอนุรักษ์ พื้นที่ป่าถูกทำลาย ทำให้หวายหลายชนิดเกือบสูญพันธุ์ไป อีกทั้งยังมีข้อจำกัดเรื่องการขยายพันธุ์ ในธรรมชาติหวายมีการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดและแตกหน่อ เมล็ดหวายเป็นเมล็ดที่ไม่สามารถเก็บรักษาได้เมื่อเก็บผลมาแล้วต้องนำมาปลูกทันทีเพราะถ้าเก็บไว้นานเกิน 1สัปดาห์เปอร์เซ็นต์การงอกจะลดลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องหาวิธีการเก็บรักษาเมล็ดในระยะยาวนานเพื่อใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต ซึ่งวิธีการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation)เป็นการเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชในไนโตรเจนเหลว ที่อุณหภูมิ -196 องศา

เซลเซียส (Withers and Engelmann, 1997) ซึ่งในการเก็บรักษาพันธุกรรมในสภาพที่อุณหภูมิต่ำทำให้การแบ่งเซลล์และขบวนการ metabolism ต่าง ๆ ภายในเซลล์หยุดการทำงาน ทำให้สามารถเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชไว้ได้นาน (Engelmann, 2004) การเก็บรักษาพันธุกรรมด้วยวิธีนี้นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากสามารถเก็บรักษาพันธุกรรมได้เกือบทุกชิ้นส่วน และสามารถขยายระยะเวลาในการเก็บรักษาไว้ได้ การทำ encapsulation (Hirai *et al.*, 1998) วิธีนี้ไม่เป็นพิษต่อพืชและสามารถป้องกันชิ้นส่วนระหว่างการดึงน้ำออกจากเซลล์ (Niino and Sakai, 1992) พืชที่ประสบความสำเร็จในการเก็บรักษาด้วยวิธีนี้ เช่น shoot tips ของ *Dendrobium* 'Walter Oumae' (Lurswigjarus and Thammasiri, 2004) protocorm-like bodies ของ *Oncidium* (Miao *et al.*, 2005) protocorm ของ *Oncidium bifolium* ในสภาพปลอดเชื้อ (Flachsland *et al.*, 2006) และ protocorms ของ *Vanda coerulea* (Jitsopakul *et al.* 2008)

จุดประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการเก็บรักษาศักยภาพหวายในไนโตรเจนเหลวในการอนุรักษ์พันธุกรรมหวายต่อไป งานวิจัยนี้เป็นงานสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ

ตัวอย่างการเขียนเรื่องเต็ม

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ศึกษาการเก็บรักษาตัวอ่อนหอย 3 ชนิด คือ หอยน้ำผึ้ง หอยกำพวนเล็ก และหอยขี้ไก่ ในไนโตรเจนเหลว 3 วิธี การ คือ vitrification-dehydration, encapsulation-dehydration, encapsulation-Vitrification

1. การเตรียมตัวอ่อนหอยก่อนการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว ล้างผลหอยในน้ำไหลนาน 20 นาที แล้วแช่ในสารละลาย Clorox 20% ร่วมกับ Tween 20 2-3 หยด นาน 30 นาที จากนั้นเผาผลด้วยแอลกอฮอล์ 95 % หลังจากนั้นนำเมล็ดมาเพาะเอาเฉพาะส่วนของตัวอ่อนมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร preculture (อาหาร MS ที่เติม 0.3 M sucrose) เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

2. การเก็บรักษาตัวอ่อนหอยในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี vitrification-dehydration บรรจุเฉพาะส่วนของตัวอ่อนหอยใส่ใน cryotube แช่ใน loading solution (LS ; 2 M glycerol + 0.4 M sucrose) เป็นเวลา 0, 20 และ 30 นาที แล้วนำไปแช่ในสาร cryoprotectant PVS₂ 30% (w/v) glycerol, 15%(w/v) dimethyl sulfoxide (DMSO), 15% (w/v) ethylene glycol ที่เติม 0.4 M sucrose) นำไป prefreezing ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 30, 45, 60 และ 90 นาที แล้วแช่ในไนโตรเจนเหลว

3. การเก็บรักษาตัวอ่อนหอยในไนโตรเจนเหลวโดยวิธี encapsulation-dehydration บรรจุส่วนของตัวอ่อนหอยลงในขวดที่มี 6% Na-alginate ใช้ trip ปลายตัดดูสารละลาย 6% Na-alginate ให้มีชิ้นส่วนของตัวอ่อนติดมาด้วย หยดลงในขวดที่มี 0.1 M CaCl₂

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการเก็บรักษาตัวอ่อนหอยในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี vitrification-dehydration

จากการนำตัวอ่อนหอยทั้ง 3 ชนิด ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร preculture เพื่อเตรียมความพร้อมนาน 7 วัน มาทดสอบหาช่วงเวลาในการแช่สาร loading solution และระยะเวลาการแช่สาร PVS₂ ที่อุณหภูมิ 0 °c พบว่า ตัวอ่อนที่ไม่แช่ไนโตรเจนเหลวมีการรอดชีวิตเป็น 100% ทุกการทดลอง สังเกตจากตัวอ่อนมีการขยายตัวใหญ่ขึ้น สีของตัวอ่อนมีสีขาวอมเหลือง และสังเกตได้ว่าการทำ preculture เพื่อกระตุ้นการปรับตัวให้ทนทานต่อสภาพแช่แข็งเพียงอย่างเดียวใน

ทิ้งไว้ 30 นาที ย้าย beads ที่เกิดขึ้น แช่ใน loading solution (LS) เป็นเวลา 0, 20 และ 30 นาที นำ beads วางบนจานแก้วเพื่อดึงน้ำออกด้วย silica gel 50 กรัม/ตัวอ่อน 20 ชิ้นในจานแก้วปิดฝา เป็นเวลา 0, 14 และ 21 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำ beads บรรจุลงใน cryotube แล้วแช่ไนโตรเจนเหลว

4. การเก็บรักษาตัวอ่อนหอยในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี encapsulation-vitrification บรรจุส่วนของตัวอ่อนหอยลงในขวดที่มี 6% Na-alginate ใช้ trip ปลายตัดดูสารละลาย 6% Na-alginate ให้มีชิ้นส่วนของตัวอ่อนติดมาด้วย หยดลงในขวดที่มี 0.1 M CaCl₂ ทิ้งไว้ 30 นาที ย้าย beads แช่ใน loading solution (LS) เป็นเวลา 0, 20 และ 30 นาที เติมน้ำ PVS₂ นำไป prefreezing ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 30, 45, 60 และ 90 นาที นำเม็ด beads ใส่ cryotube และเติมน้ำ PVS₂ ลงใน cryotube แล้วแช่ไนโตรเจนเหลว ในการทดลองการเก็บรักษาตัวอ่อนหอยทั้ง 3 วิธี จะศึกษาอัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนทั้งก่อนและหลังการแช่ไนโตรเจนเหลว โดยทดลองแช่ไนโตรเจนเหลวเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง

5. ทดสอบการรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว นำตัวอ่อนที่เก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวมาละลายน้ำแข็งด้วยน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที หลังจากนั้นนำมาล้างสาร PVS₂ ใน unloading solution (1.2 M sucrose) เป็นเวลา 20 นาที แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหาร preculture (MS+0.3 M sucrose) เป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหาร MS นาน 1 เดือน เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

เวลา 7 วัน ให้ผลการรอดชีวิตเหมือนกับการเติมน้ำ ป้องกันความเย็นทุกช่วงระยะเวลา แสดงว่าสาร cryoprotectants ไม่เป็นพิษต่อตัวอ่อน (Wang *et al.*, 2005) ส่วนตัวอ่อนที่แช่ไนโตรเจนเหลวไม่มีการตอบสนองต่ออาหาร MS ลักษณะของตัวอ่อนกลายเป็นสีดำ ทุกการทดลอง อาจเป็นเพราะช่วงเวลาในการแช่สาร Loading solution และ PVS₂ น้อยเกินไป ทำให้สาร cryoprotectants ประเทออกฤทธิ์ภายในเซลล์ ได้แก่ DMSO และ glycerol ไม่สามารถซึมผ่านเข้าไปภายในเซลล์ ทำให้การป้องกันการยึดตัวของเซลล์และปกป้องการเปลี่ยนแปลงของระบบ membrane

ตัวอย่างการเขียนเรื่องเต็ม

บกพร่อง ส่วนสารประเภทออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์ เช่น sucrose ที่ใช้ดึงน้ำออกจากเซลล์มีประสิทธิภาพลดลง ทำให้น้ำภายในเซลล์เปลี่ยนเป็นผลึกน้ำแข็งที่แทงเซลล์จนเสียหาย จึงไม่พบการรอดชีวิตของคัพภะ (Engelmann, 2000; Pennycooke and Towill, 2000)

2. ผลการเก็บรักษาคัพภะหวายในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี encapsulation-dehydration

จากการนำคัพภะหวายทั้ง 3 ชนิด ที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงบนอาหาร preculture เพื่อเตรียมความพร้อมนาน 7 วัน มาหาช่วงเวลาในการแช่ beads ที่มีคัพภะในการรอดชีวิตของหวายทั้ง 3 ชนิด แตกต่างกันคือหวายซี่ไก่อรอดชีวิต 100% จากการแช่สาร loading solution 30 นาที ร่วมกับการใช้ silica gel ที่ 14 ชั่วโมง หวายกำพวนเล็กรอดชีวิต 80% จากการแช่สาร loading solution 0 นาที ร่วมกับการใช้ silica gel ที่ 14 ชั่วโมง และหวายน้ำผึ้งรอดชีวิต 20% จากการแช่สาร loading solution 20 นาที ร่วมกับการใช้ silica gel ที่ 14 ชั่วโมง (ตารางที่ 1) เป็นผลจากการเตรียมความพร้อมของคัพภะบนอาหาร preculture ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูงถึง 0.4 M นาน 7 วัน ก่อน

สาร loading solution และระยะเวลาในการดึงน้ำออกจากเม็ด beads โดยใช้ silica gel 50 กรัม/คัพภะ 20 ชิ้น พบว่า คัพภะที่ไม่แช่ไนโตรเจนเหลวมีการรอดชีวิตเป็น 100% สังเกตจากคัพภะมีสีขาวอมเหลือง และขนาดใหญ่ ทุกการทดลอง แสดงว่า ระยะเวลาในการแช่สาร loading solution 0, 20 และ 30 นาที และการใช้ silica gel ที่ 14 และ 21 ชั่วโมง ไม่ทำให้คัพภะได้รับความเสียหาย ส่วนคัพภะที่แช่ไนโตรเจนเหลวมีการตอบสนองต่ออาหาร MS สังเกตจากคัพภะมีสีขาวอมเหลือง พร้อมทั้งจะพัฒนา

การทำเม็ด beads ช่วยทำให้เซลล์เกิดการสะสมน้ำตาลและเพิ่มความเสถียรของผนังเซลล์มากขึ้น โดยเฉพาะน้ำตาลซูโครสสามารถปกป้องเซลล์จากความเย็นในขณะที่เซลล์สูญเสียน้ำ การใช้ silica gel ที่ 14 ชั่วโมงดึงน้ำออก สามารถป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งที่บริเวณ intracellular ของเซลล์ (Uragami *et. al.*, 1990) และการดึงน้ำออกจากเม็ด beads ด้วยสาร loading solution ที่มี glycerol สามารถทำให้เนื้อเยื่อทนต่อความเย็นได้ดีขึ้น

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของคัพภะหวายทั้ง 3 ชนิด ที่ผ่านขั้นตอนการปรับสภาพโดยวิธี encapsulation-dehydration เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS นาน 1 เดือน

Silica gel (ชั่วโมง)	แช่ LS (นาที)	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต					
		หวายน้ำผึ้ง		หวายกำพวนเล็ก		หวายซี่ไก่อ	
		แช่ LN	ไม่แช่ LN	แช่ LN	ไม่แช่ LN	แช่ LN	ไม่แช่ LN
14	0	0%	100%	80%	100%	20%	100%
	20	20%	100%	60%	100%	40%	100%
	30	0%	100%	40%	100%	100%	100%
21	0	20%	100%	20%	100%	40%	100%
	20	0%	100%	40%	100%	80%	100%
	30	0%	100%	0%	100%	80%	100%

3) ผลการเก็บรักษาคัพภะหวายในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี encapsulation-vitrification

จากการนำคัพภะหวายที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงบนอาหาร preculture เพื่อเตรียมความพร้อมเป็นเวลา 7 วัน มาหาช่วงเวลาในการแช่ beads ที่มีคัพภะในสาร loading solution และระยะเวลาในการแช่ beads ใน PVS₂ ที่อุณหภูมิ 0 °C พบว่า คัพภะที่ไม่แช่ไนโตรเจนเหลว มีการรอดชีวิต 100% ลักษณะของคัพภะมีสีขาว

อมเหลือง พร้อมทั้งจะพัฒนาต่อไป ส่วนคัพภะที่แช่ไนโตรเจนเหลว ไม่มีการตอบสนองต่ออาหาร MS สังเกตได้จากสีคัพภะกลายเป็นสีดำ ทุกการทดลองเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS นาน 1 เดือน อาจเป็นเพราะระยะเวลาการแช่สาร loading solution และ PVS₂ น้อยเกินไป ทำให้ไม่สามารถดึงน้ำออกจากเซลล์ได้ จึงเกิดผลึกน้ำแข็งขึ้นภายในเซลล์ ส่งผลให้เซลล์ถูกทำลายและเสียหายได้

ตัวอย่างการเขียนเรื่องเต็ม

สรุปผลการทดลอง

การเก็บรักษา คัพภะหวายน้ำผึ้ง หวายกำพวนเล็ก และ หวายขี้ไก่ ในไนโตรเจนเหลว ทั้ง 3 วิธีการ คือ vitrification-dehydration, encapsulation-dehydration และ encapsulation-vitrification พบว่า วิธีที่เหมาะสมที่สุดในการเก็บรักษาทำได้โดยการ ปรับสภาพคัพภะด้วยการทำ preculture บนอาหาร MS ที่เติม 0.3 M sucrose เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 °C จากนั้นนำคัพภะมาทำ encapsulation และแช่ ใน loading solution เป็นเวลา 0, 20 หรือ 30 นาที ตามด้วยการทำให้แห้งด้วย silica gel ที่ 50 กรัม/คัพภะ 20 ชิ้น เป็นเวลา 14 ชั่วโมง เพื่อลดปริมาณน้ำในเซลล์ แล้วจึงนำไปแช่ในไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 1 วัน เมื่อนำมาทดสอบการรอดชีวิต โดยผ่านขั้นตอนการละลาย

น้ำแข็งและนำไปเลี้ยงบนอาหาร MS นาน 1 เดือน พบ การรอดชีวิตของคัพภะหวาย นอกจากนี้จะขึ้นอยู่กับ ระยะเวลาในการแช่ loading solution และ ดึงน้ำ ออกจากเซลล์ด้วย silica gel แล้วยังขึ้นอยู่กับชนิดของ หวายและขนาดของคัพภะที่นำมาเก็บรักษาด้วย ซึ่งใน ขั้นต่อไปจะหาวิธีการที่เหมาะสมในการเก็บรักษา คัพภะ หวายแต่ละชนิดโดยวิธี encapsulation-dehydration ต่อไป

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการ อนุรักษ์ พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากรพระราชดำริฯ ผู้วิจัย ขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

- Engelmann, F. 2000. Importance of cryopreservation for the conservation of plant genetic Resources, pp. 1-7. *In* Englemann, F. and Takagi, H. (eds.), Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm Current Research Progress and Application : IPGRI.
- Engelmann, F. 2004. Plant cryopreservation: progress and prospects. *In vitro Cell Biol Plant.* 40: 427-433 .
- Flachsland, E., G. Terada., A. Scocchi., H. Rey., L. Mroginski and F. Engelmann. 2006. Cryopreservation of seeds and *in vitro* -cultured proticorm of *Oncidium bifolium* (orchidaceae) by encapsulation-dehydration . *CryoLetters* 27: 235-242.
- Hirai D., K. Shirai. S. Shirai and A. Sakai. 1998. Cryopreservation of *in vitro*-grown meristems of strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch.) by encapsulation-vitrification. *Euohytica* 101: 109-115.
- Jitsopakul, N., K. Thammasiri and K. Ishikawa. 2008. Cryopreservation of *Vanda coerulea* protocorms by encapsulation-dehydration. *Cryoletters* 29: 253-260
- Lurswigidgarus W. and K. Thammasiri. 2004. Cryopreservation of shoottips of *Dendrobium* Walter Oumae by encapsulation-dehydration. *ScienceAsia* 30: 293-299.
- Miao, N. Hwey., Y. Kaneko and Y. Sugawara. 2005. Ultrastructural implications of pretreatment for successful cryopreservation of *Oncidium* protocorm-like body. *CryoLetters* 26: 333-340.
- Niino, T. and A. Sakai.1992. Cryopreservation of alginate-coated *in vitro*-grown shoot tips of apple, pear and mulberry. *Plant Sci.* 87; 199-206.
- Pennycooke, J. C. and Towill, L.E. 2000. Cryopreservation of shoot tips from *in vitro* plants of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) by vitrification. *Plant Cell Rep.* 19: 733-737.
- Sutthisrisilapa, C. 2004. Country report on the status of rattan resources and uses in Thailand, pp.224-250. *In:* Regional

ตัวอย่างการเขียนเรื่องเต็ม

- Conference on Sustainable Development of Rattan in Asia, January 22-23, 2004, Manila, Philippines.
- Uragami, A., A. Sakai. and M. Nagai. 1990. Cryopreservation of dried axillary buds from plantlets of *Asparaipilis oflcinalis* L grown *in vitro*. **Plant Cell Rep.** 9: 328-331.
- Withers, L. and F. Engelmann. 1997. *In vitro* conservation of plant genetic resources, pp.57-88. *In: Altman A (ed) Agricultural Biotechnology.* Marcel Dekker, Inc., New York.
- Wang, Q. and Laamanen, J. 2005. Cryopreservation of *in vitro*-grown shoot tips of raspberry (*Rubus idaeus* L.) by encapsulation-vitrification and encapsulation-dehydration. **Plant Cell Rep.** 24: 280-288
- Zehui, J. 2007. Rattan resources and its industry, *In* Bomboo and Rattan in the World.pp.261-276.