บทคัดย่อ

กล้วยไม้กุหลาบกระเป๋าปิด (*Aerides odorata* Lour.) เป็นกล้วยไม้ป่าที่พบในประเทศไทย ปัจจุบันถูกจัดอยู่ในกลุ่มเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ดังนั้นการเก็บรักษาพันธุ์กล้วยไม้ชนิดนี้โดยวิธีการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้กุหลาบกระเป๋าปิดในระยะยาว การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้กุหลาบกระเป๋าปิดและการชักนำให้เจริญเป็นต้น และการเก็บรักษาพันธุ์กล้วยไม้ในไนโตรเจนเหลว จากการศึกษาพบว่า อาหารสังเคราะห์สูตร ND ดัดแปลงที่เติมน้ำต้มมันฝรั่ง 1% (w/v) และน้ำตาลซูโครส 1% (w/v) เหมาะสมในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้กุหลาบกระเป๋าปิด เมื่อศึกษาผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเป็นต้นของโพรโทคอร์มกล้วยไม้ พบว่าโพรโทคอร์มกล้วยไม้เกิดยอดได้สูงสุดคือ 6.20 ยอดต่อโพรโทคอร์ม เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 1 มก./ล. และสามารถชักนำให้ยอดเกิดรากได้สูงสุด 2.87 รากต่อต้น เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 0.5 มก./ล. เพียงอย่างเดียว อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้กุหลาบกระเป๋าปิดเมื่อเลี้ยงในสภาพโรงเรือนเฉลี่ยเท่ากับ 100% จากการศึกษาการเก็บเมล็ดกล้วยไม้ในไนโตรเจนเหลว โดยวิธีการเก็บในไนโตรเจนเหลวโดยตรง และ encapsulation-dehydration พบว่า เมล็ดมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 82% เมื่อเก็บรักษาเมล็ดในรูปเมล็ดเทียม และปรับสภาพในอาหารเหลวสูตร ND ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25°C ก่อนดึงน้ำออกโดยใช้ลมเป่าในตู้ปลอดเชื้อเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวเป็นเวลาอย่างน้อย 1 วัน การเก็บรักษาโพรโทคอร์มกล้วยไม้โดยวิธี encapsulation-dehydration สามารถทำได้ง่ายกว่าการเก็บรักษาโดยวิธี vitrification และ encapsulation-vitrification ซึ่งพบว่าการเก็บรักษาโดยวิธี encapsulation-dehydration เมล็ดเทียมมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดคือ 80% เมื่อผ่านการดึงน้ำออกโดยใช้ลมเป่าเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และมีปริมาณน้ำเหลือในเมล็ดเทียมเท่ากับ 13.06% การเก็บรักษาเมล็ดและโพรโทคอร์มกล้วยไม้กุหลาบกระเป๋าปิดในไนโตรเจนเหลวไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาและการเปลี่ยนแปลงชุดของโครโมโซมเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดและโพรโทคอร์มกล้วยไม้ที่ไม่ได้เก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว

ABSTRACT

Aerides odorata Lour. is a wild orchid in Thailand which is considered risk to extinction . Cryopreservation is an alternative method for long-term storage of biological materials. The aims of this study were to investigate the suitable conditions for seed germination, plant regeneration and cryopreservation of *A. odarata*. For seed germination, seeds were cultured on solid modified New Dogashima (ND) medium supplemented with 1% (w/v) potato extracted and 1% (w/v) sucrose resulted in high percentage of seed germination. Seed-derived protocorms were cultured on solid ND medium supplemented with various concentrations of NAA and BA to produce plantlets. The highest number of shoots (6.20 shoots/explant) was observed on solid ND medium supplemented with 1 mg/l BA. While, medium supplemented with 0.5 mg/l NAA showed the highest percentage of root formation (96%) and number of roots (2.87 roots/shoot). Survival rate of plantlets cultured in the greenhouse was 100%. Seeds of *A. odarata* were successfully cryopreserved using direct immersion into liquid nitrogen and encapsulation-dehydration. The highest survival rate of cryopreserved seeds was 82% when seeds were encapsulated with ca-alginate. They were then precultured in liquid ND medium supplemented with 0.5 M sucrose for 18 hours at 25°C and subsequently dehydrated by air-drying for 6 hours and plunged into liquid nitrogen for 1 day. Protocorms of *A. odorata* were successfully cryopreserved using encapsulation-dehydration. The manipulation of encapsulation-dehydration technique was much easier than vitrification and encapsulation-vitrification techniques. The highest survival rate of cryopreserved protocorms was 80% with 13.06% water content after 6 hours dehydration. There was no difference in morphology and similar patterns of ploidy level of non-cryopreserved and cryopreserved plantlets.