

การทดลองนำโปรโตคอร์มกล้วยไม้ไทยเอื้องแพะหอมเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิต่ำโดยนำขึ้นส่วนมาผ่านการเตรียมความพร้อมก่อนการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน แบ่งเป็น 3 การทดลอง คือ 1) เลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำตาลหรือสารพาโคลบิวทราโซลที่ความเข้มข้นต่างๆ 2) ผ่านการดูความชื้นโดยตรงจากซิลิกาเจลที่ระยะเวลาต่างๆ และ 3) การใช้เทคนิคเมล็ดเทียมร่วมกับการเลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำตาลเข้มข้นและการฝังในตู้ปลอดเชื้อที่ระยะเวลาต่างๆ แล้วนำมาผ่านการแช่ในสารละลายเข้มข้นชนิด Ls หรือ Pvs<sub>2</sub> ที่เวลาที่แตกต่างกัน ที่ 0 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำมาละลายในน้ำอุ่น 40 องศาเซลเซียส ล้างด้วยสารละลาย Rs ที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำไปเลี้ยงในอาหารสูตร VW (1949) ดัดแปลงเลี้ยงในที่มืด 1 คืน จากนั้นย้ายมาเลี้ยงในที่ที่มีแสง 37  $\mu\text{M m}^{-2}\text{s}^{-1}$  นาน 3 เดือน ณ.ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาคารเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 ถึงกันยายน 2547 พบว่าการใช้เทคนิคเมล็ดเทียมร่วมกับการแช่ในสารละลายเข้มข้นชนิด Ls นาน 30 นาที มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตก่อนการเก็บรักษาสูงสุดที่ 76 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามโปรโตคอร์มทุกชุดการทดลองที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิต่ำไม่สามารถรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษา

From October 2003 to September 2004 a study on cryopreservation of protocorm like bodies of *Dendrobium scabrilingue* Lindl. was conducted at the RENTOP tissue culture laboratory, Maejo University. Experiments about the most suitable preculture technique before freezing in liquid nitrogen included the use of high sucrose concentration or the addition of paclobutrazol to the media, dehydration by silica gel or encapsulation by calcium alginate in combination with dehydration. Further Ls and Pvs<sub>2</sub> solution, two cryoprotectant mixtures, were tested at high concentration for optimum dehydration duration at 0°C. After storage in liquid nitrogen, the protocorms were rapidly warmed up at 40°C for 2 min and subsequently rinsed in Rs solution at 25°C for 15 min to improve adaptation before being cultured on modified VW (1949) agar medium. All cultures were kept in complete darkness at 25°C overnight before being transferred for 3 months to a culture room lighted at 37  $\mu\text{M m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . It was found that encapsulation by calcium alginate in combination with subsequent soaking in Ls solution for 30 min showed the highest survival rate of 76 percent of all investigated pretreatments. However, probably due to the high water content of protocorms as compared to seeds and the insufficient penetration of cryoprotectants into the cell vacuoles none of the treatments finally survived storage in liquid nitrogen.