บทคัดย่อ

จากการศึกษาการเก็บรักษาชิ้นส่วนเริ่มต้นในรูปแบบต่างๆ ในระยะปานกลาง และระยะยาวในไนโตรเจนเหลว ด้วยวิธีการต่างๆ แล้วนำมาชักนำการงอกในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพปกติ พบว่า เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส เซลล์ชัสเพนชัน ตลอดจนต้นอ่อนที่ชักนำจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนที่ผ่านกระบวนการชะลอการเจริญเติบโตทุกวิธีการไม่สามารถที่จะพัฒนาให้ยอดใหม่ได้จึงใช้ปลายยอดที่ชักนำจากยอดรวมในหลอดทดลองเป็นวัสดุพืชเริ่มต้นในการเก็บรักษาอนุรักษ์เชื้อพันธุ์ การเก็บรักษาปลายยอดในอาหารเติมแมนนิทอลเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ให้อัตราความมีชีวิต 85% สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ หลังจากเก็บรักษาในระยะปานกลาง 6 เดือนโดยไม่ต้องมีการเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ และคาดว่าหากเก็บรักษาเป็นเวลา 1 ปีโดยไม่มีการเปลี่ยนถ่ายอาหารยังคงให้อัตรารอดชีวิตสูงกว่า 50% เมื่อพิจารณาการเก็บรักษาในระยะยาวในไนโตรเจนเหลว พบว่า การ vitrification ในสารละลาย PVS2 เป็นเวลา 75-120 นาที ให้อัตรารอดชีวิตของเซลล์หลังการเก็บรักษา 80-100% และอัตราการเจริญเป็นพืชต้นใหม่ในช่วง 1-4% ส่วนวิธีการดัดแปลงอื่นๆ หรือการใช้วิธีร่วมกันในการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ให้อัตรารอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืชสูงกว่า 50% แต่ไม่สามารถที่จะเจริญเป็นพืชต้นใหม่ได้ เมื่อนำต้นที่เก็บรักษาเชื้อพันธุ์มาขยายพันธุ์ในอาหารสูตรเพิ่มปริมาณและตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคทางด้านชีวเคมีและโมเลกุลเครื่องหมาย random amplified polymorphic DNA (RAPD) พบว่ายังคงมีความสม่ำเสมอของปลายยอด หรือต้นอ่อนที่เก็บรักษาสูง และเหมือนกับต้นที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งไม่ผ่านการเก็บรักษา

Abstract

Germplasm conservation in medium and long term (in liquid nitrogen) of vetiver grass was carried out using various starting plant materials in combination with conserved methods. The results showed that conservation of embryogenic callus, suspension cells including somatic embryos induced from young leaf could not regenerate new shoots. So, shoot apices from multiple shoot (induced *in vitro*) were used as initial explant for conservation. In medium term, conserved shoot apices on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 0.5 mg/l ∝-naphthaleneacetic acid (NAA), 1 mg/l benzyladenine (BA) and 0.1 M mannitol resulted in the highest survival rate and regeneration of new shoots at 85% after culture for 6 months without subculture. It is suspected that after conservation shoot apices in this medium for 1 year survival rate or regeneration of new shoots will be more than 50%. In case of long term conservation in liquid nitrogen (LN), vitrification of the shoot apice in PVS2 for 75-120 min gave survival rate at 80-100%. However, recovery rate or regeneration frequency of a new shoot was very low at 1-4%. The other methods of apex preparation or combine methods gave survival rate at higher than 50%. Unfortunately, recovery of new shoot was not obtained. Conserved shoots, both in medium and long term, proliferated in proliferation medium were uniform and high fidelity after analysis by isozyme and random amplified polymorphic (RAPD) markers.