รับที่ ๑๗๗๕
วันที่ ๑๓ มี.ค. ๒๕๕๖
เวลา ๐๙.๔๕

บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ กรมป่าไม้ สำนักโครงการพระราชดำริและกิจการพิเศษ โทร. ๕๐๖๐

ที่ ทส ๑๖๑๓.๐๔/ ๓๙๗๓ **วันที่** ๑๑ มีนาคม ๒๕๕๖

เรื่อง ขอเชิญร่วมเสนอผลงานในการจัดประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ ๖

เรียน รองอธิบดีกรมป่าไม้ทุกท่าน
ผู้ตรวจราชการกรมป่าไม้ทุกท่าน
ผู้อำนวยการสำนักทุกสำนัก
ผู้อำนวยการสำนักจัดการทรัพยากรป่าไม้ที่ ๑ – ๑๓
ผู้อำนวยการสำนักจัดการทรัพยากรป่าไม้สาขาทุกสาขา
ผู้อำนวยการกลุ่มพัฒนาระบบบริหาร
หัวหน้ากลุ่มตรวจสอบภายใน

กรมป่าไม้ ขอส่งสำเนาหนังสือโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ที่ พว ๐๐๐๑(อพ.) ๒๖๗๕/๒๕๕๖ ลงวันที่ ๓๐ มกราคม ๒๕๕๖ เรื่อง ขอเชิญร่วมเสนอผลงานในการจัดประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ ๖ พร้อมเอกสารที่เกี่ยวข้องจำนวน ๑ ชุด มาเพื่อโปรดทราบและพิจารณาแจ้งผู้สนใจร่วมเสนอผลงานตามนัยหนังสือดังกล่าว โดยให้ส่งผลงานให้สำนักโครงการพระราชดำริและกิจการพิเศษ ภายในวันที่ ๑๖ พฤษภาคม ๒๕๕๖ เพื่อดำเนินการในส่วนที่เกี่ยวข้องต่อไป

(นายประยูร เกื้อสุวรรณศิริ)
รองอธิบดีปฏิบัติราชการแทน
อธิบดีกรมป่าไม้

เรียน ผู้อำนวยการสำนักจัดการป่าชุมชน
- เพื่อโปรดทราบ

๑๓ มี.ค. ๒๕๕๖
(นายสัมพันธ์ มีสิทธิ์)
ผู้อำนวยการส่วนอำนวยการ

เรียนทุกท่าน ๑ ทราบ
โปรดทราบ

๑๓ มี.ค. ๒๕๕๖
(นายประลอง ดำรงค์ไทย)
ผู้อำนวยการสำนักจัดการป่าชุมชน

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สวนจิตรลดา พระราชวังดุสิต กรุงเทพมหานคร ๑๐๓๐๓ โทร ๐ ๒๒๘๒ ๑๘๕๐ ๐ ๒๒๘๒ ๐๖๖๕ โทรสาร ๐ ๒๒๘๒ ๐๖๖๕

กรมป่าไม้
เลขที่ 1336
วันที่ 22 ก.พ. 2556
เวลา

ที่ พว ๐๐๐๑(อพ.) ๒๖๗๕/๒๕๕๖

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ
สวนจิตรลดา กรุงเทพมหานคร ๑๐๓๐๓

สำนักโครงการพระราชดำริและกิจการพิเศษ
เลขรับ 1767
วันที่ 21 ก.พ. 56
เวลา 9.32

ห้องรายงานอธิบดีกรมป่าไม้
(นายประยูร รมณีย์)
เลขรับ 1587
วันที่ 26 ก.พ. 2556
เวลา 15.54 น.

๓๐ มกราคม ๒๕๕๖

เรื่อง เชิญร่วมเสนอผลงานในการจัดประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ ๖

เรียน อธิบดีกรมป่าไม้

สิ่งที่ส่งมาด้วย
๑. รายละเอียดการจัดประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ ๖
๒. แบบลงทะเบียนงานประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ ๖
๓. แบบลงประวัติโดยย่อผู้นำเสนอผลงานทางวิชาการงานประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ ๖
๔. ใบสมัครสมาชิกชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ.

เพื่อเป็นการเฉลิมฉลองในวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเจริญพระชนมายุครบ ๘๖ พรรษา ในปี พ.ศ. ๒๕๕๖ และเป็นการเทิดพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวที่ทรงดำเนินการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชและทรัพยากรธรรมชาติ ซึ่งสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ทรงสืบทอดพระราชปณิธานในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชและฐานทรัพยากรของประเทศ โดยโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ได้ดำเนินการกิจกรรมต่างๆทางด้านงานอนุรักษ์พันธุกรรมพืชและทรัพยากรและจัดการประชุมวิชาการทรัพยากรไทยอย่างต่อเนื่องทุก ๒ ปี ตั้งแต่ปี พ.ศ. ๒๕๔๔ และในปี พ.ศ. ๒๕๕๖ จะจัดประชุมวิชาการนิทรรศการ "ทรัพยากรไทย:นำสิ่งดีงามสู่ตาโลก" ระหว่างวันที่ ๒๐-๒๖ ธันวาคม ๒๕๕๖ ณ เขื่อนศรีนครินทร์ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี โดยมีหน่วยงาน ส่วนราชการ มหาวิทยาลัยที่เข้าร่วมสนองพระราชดำริ โรงเรียนสมาชิกสวนพฤกษศาสตร์และเกษตรกรเข้าร่วมงาน ในส่วนของชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ได้จัดงานประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ.ครั้งที่ ๖ ในวันที่ ๒๑-๒๓ ธันวาคม ๒๕๕๖ โดยการประชุมวิชาการฯในครั้งนี้เน้นในเรื่องการนำความรู้ที่เป็นประโยชน์สู่ประชาชนในทุกระดับ

ในการนี้อพ.สธ. จึงใคร่ขอเชิญหน่วยงาน และสถาบันที่ร่วมสนองพระราชดำริ อพ.สธ. ร่วมกันนำเสนอผลงานเพื่อจัดประชุมวิชาการของชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ในครั้งนี้ โดยลงทะเบียนและส่งหัวข้อเรื่องพร้อมบทคัดย่อและเรื่องเต็มที่ท่านต้องการนำเสนอ **ภายในวันที่ ๓๑ พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๕๖** สำหรับการลงทะเบียนเพื่อร่วมงานประชุมวิชาการของชมรมฯนั้นมีค่าลงทะเบียน ๑,๐๐๐ บาท ซึ่งการลงทะเบียนนี้ท่านจะได้รับเอกสารการประชุมวิชาการฯและอาหารว่างในช่วงของการประชุมวิชาการฯนี้

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ และพิจารณาดำเนินการให้ต่อไปด้วย จักขอบพระคุณยิ่ง

เรียน ท่านอธิบดี
เพื่อโปรดทราบ

(นายสุขุม มิตตัสสา)
ผู้อำนวยการสำนักบริหารกลาง

ขอแสดงความนับถือ

(นายพรชัย จุฑามาศ)
ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านวิชาการเกษตรทรงคุณวุฒิ
รองผู้อำนวยการโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ

สคร.
เพื่อทราบ
กรมการป่าไม้

(นายพัฒน์พงษ์ สมิตติพงษ์)
ผู้อำนวยการส่วนประสานงาน
รักษาการในตำแหน่งผู้อำนวยการ
โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ
โทรศัพท์/โทรสาร. ๐-๒๒๘๒-๐๖๖๕, ๐-๒๒๘๒-๑๘๕๐

สำเนาถูกต้อง
(นางสาวมาลินี แก้วข่าว)
กรมการป่าไม้ปฏิบัติการ

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ
รายละเอียดการประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ ๖
"ทรัพยากรไทย : นำสิ่งดีงามสู่ตาโลก"
๒๑-๒๓ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๕๖
ณ เขื่อนศรีนครินทร์ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี

การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ ๖ "ทรัพยากรไทย : นำสิ่งดีงามสู่ตาโลก" จะจัดขึ้น ณ เขื่อนศรีนครินทร์ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี ระหว่างวันที่ ๒๑-๒๓ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๕๖ ในการนี้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ขอเชิญหน่วยงานต่างๆส่งชื่อเรื่องพร้อมบทคัดย่อและเรื่องเต็มผลงานสำหรับร่วมประชุมวิชาการ โดยเรื่องที่นำมาจัดแสดงจะต้องเป็นผลงานที่หน่วยงานได้ร่วมสนองพระราชดำริในกิจกรรมต่างๆของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ตามหลักเกณฑ์ดังต่อไปนี้

๑. เป็น<u>ผลงานที่ดำเนินการในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯเท่านั้น</u> เช่น พื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชของหน่วยงานร่วมสนองพระราชดำริ พื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชเกาะแสมสาร พื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชของเขื่อน (กฟผ.) เป็นต้น
๒. เป็น<u>งานในพื้นที่สำรวจรวบรวมพันธุกรรมพืชที่อพ.สธ.และหน่วยงานสนองพระราชดำริได้ร่วมสำรวจแล้ว</u> เช่น อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะตะรุเตา เกาะช้าง หมู่เกาะอ่างทอง หมู่เกาะสิมิลัน เป็นต้น
๓. เป็น<u>ผลงานที่ดำเนินการภายใต้กรอบ/กิจกรรมของอพ.สธ.</u>โดยสถาบันหรือหน่วยงานที่ร่วมสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯเท่านั้น
๔. ต้องเป็นผลงานใหม่ที่ไม่เคยนำเสนอที่ใดมาก่อน

กำหนดการ

๑. ตอบรับ,ลงทะเบียน และส่งชื่อเรื่องพร้อมบทคัดย่อและเรื่องเต็มงานประชุมวิชาการ (เอกสารหมายเลข ๒) <u>ภายในวันที่ ๓๑ พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๕๖</u> โดยส่งไฟล์ข้อมูลมาทางอีเมล์ rspg56@gmail.com ในกรณีที่ไม่สามารถส่งทางอีเมล์ได้ กรุณาส่งแผ่น CD บทคัดย่อและเรื่องเต็มมาที่สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ
๒. ตอบรับเรื่องที่ได้รับพิจารณา<u>ภายในวันที่ ๓๐ มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๕๖</u>
๓. ส่งประวัติย่อผู้นำเสนอผลงาน <u>ภายในวันที่ ๑ พฤศจิกายน พ.ศ. ๒๕๕๖</u> (เอกสารหมายเลข ๓) โดยส่งมาที่ ดร.นัฏฐพร รุจิขจร สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ หรืออีเมล์มาที่ rspg56@gmail.com
๔. การชำระค่าลงทะเบียนสำหรับการประชุมวิชาการ กรุณาชำระโดยโอนเงินเข้า**<u>บัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ สาขาสวนจิตรลดา ชื่อบัญชี โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช บัญชี ๑ เลขที่บัญชี ๐๖๗-๒๐๒๐๕๗-๕ (067-202057-5)</u> ซึ่งค่าลงทะเบียนเป็นจำนวนเงิน ๑๐๐๐ บาท เมื่อชำระเงินเรียบร้อยแล้วกรุณาส่งหลักฐานใบโอนเงินมายังโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯเพื่อเป็นการยืนยันการชำระเงินทางโทรสารหมายเลข ๐-๒๒๘๒-๐๖๖๕ หรือ ๐-๒๒๘๒-๑๘๕๐ หรืออีเมล์ภาพสแกนใบโอนเงินมายัง rspg56@gmail.com
๕. การเตรียมบทคัดย่อและเรื่องเต็มโดยใช้รูปแบบที่กำหนดให้ดังรายละเอียดด้านล่างนี้

คำแนะนำการเตรียมตัวเสนอผลงานทางวิชาการ

๑. <u>การนำเสนอผลงานแบบบรรยาย</u> ใช้เวลารวมทั้งสิ้น ๑๕ นาที (บรรยาย ๑๒ นาที ซักถาม ๓ นาที)
๒. <u>การนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์</u> กำหนดโปสเตอร์แนวตั้ง ขนาดกว้าง ๙๐ เซนติเมตรและสูง ๑๒๐ เซนติเมตร

ส่ง<u>ชื่อเรื่องพร้อมบทคัดย่อ และเรื่องเต็มภายใน ๓๑ พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๕๖</u> โดยส่งในรูปแผ่น CD มาที่ ดร. นัฏฐพร รุจิขจร สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สวนจิตรลดา พระราชวังดุสิต กรุงเทพฯ ๑๐๓๐๓ หรือส่งทางอีเมล์ ที่ rspg56@gmail.com

การนำเสนอผลงานภาคบรรยาย

การนำเสนอผลงานแบบบรรยายกำหนดให้ใช้ไฟล์ Powerpoint presentation เท่านั้น และทาง อพ.สธ. ขอเก็บไฟล์บรรยายของผู้เข้าร่วมเสนอผลงานทุกท่านเพื่อเป็นฐานข้อมูลของ อพ.สธ.

การนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์

ในการนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ จะมีการจัดช่วงเวลา ๑ ชั่วโมงสำหรับผู้เสนอผลงานแบบโปสเตอร์ (Poster session) โดยผู้นำเสนอจะมาประจำที่โปสเตอร์ของตนเองเพื่อนำเสนอผลงาน นอกจากนี้ผู้ร่วมเสนอผลงานและผู้เข้าชมผลงานจะเป็นผู้ลงคะแนนให้กับโปสเตอร์ที่มาแสดงในครั้งนี้ โดยรางวัลที่ผู้นำเสนอผลงานและผู้เข้าชมผลงานลงคะแนนนั้น คือ รางวัลโปสเตอร์ยอดนิยม หรือ Popular Vote นอกจากนี้คณะกรรมการพิจารณาการนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์จะพิจารณาชื่นชมผลงานโปสเตอร์ที่นำมาจัดแสดง และจะมอบรางวัลรวม ๓ รางวัล ได้แก่ รางวัลโปสเตอร์ยอดเยี่ยม ๑ รางวัล และโปสเตอร์ดีเด่น ๒ รางวัล โดยจะมีการมอบรางวัลดังกล่าวในวันสุดท้ายของการประชุมวิชาการฯ

การเตรียมบทคัดย่อและเรื่องเต็ม

๑. การพิมพ์บทคัดย่อและเรื่องเต็มกรุณาใช้โปรแกรม Microsoft Office 2003 หรือในกรณีที่ใช้เวอร์ชั่นที่สูงกว่า กรุณาบันทึกผลงานให้อยู่ในรูปแบบของ Microsoft Office 2003

๒. จัดหน้ากระดาษเป็นกระดาษขนาด A4 จัดหน้าแบบ Portrait

๓. **บทคัดย่อ**ควรมีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ บทคัดย่อไม่ควรยาวมากเกินไป และไม่มีรูปภาพ ตารางหรือการอ้างอิงรวมอยู่ในบทคัดย่อนั้น

๔. **เรื่องเต็ม** กรุณาแยกเป็นหัวข้อต่างๆตามลำดับดังนี้

- ชื่อเรื่อง : ใช้ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ในส่วนของ**ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษให้ใช้ตัวพิมพ์ใหญ่ทั้ง**หมด
- ชื่อผู้ทำงานวิจัย : ใช้ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
- สถานที่ทำงาน : ใช้ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
- บทคัดย่อ (ภาษาไทยก่อนและตามด้วยภาษาอังกฤษ) เป็นการสรุปสาระสำคัญของเรื่อง โดยเฉพาะวัตถุประสงค์ วิธีการ และผล
- คำนำ : เขียนวัตถุประสงค์ของงานวิจัย ตรวจเอกสาร (literature review) เฉพาะที่เกี่ยวข้องกับงานในส่วนสำคัญเท่านั้น
- อุปกรณ์และวิธีการ : เขียนให้รัดกุม ไม่พรรณนาวิธีวิเคราะห์ ใช้วิธีอ้างชื่อหรือองค์กร เช่น การแยกเชื้อตามวิธีการของ Petrini (1986) เป็นต้น
- ผลการทดลองและวิจารณ์ : ผลการทดลองและวิจารณ์จะเขียนแยกหรือรวมกันก็ได้, รูปและตารางมีเนื้อหาและคำอธิบาย ให้แสดงเฉพาะข้อมูลที่สำคัญและจำเป็น
- สรุป : ยกใจความสำคัญ หรือเขียนไว้ในผลการทดลองและวิจารณ์
- คำนิยม : มีหรือไม่มีก็ได้
- เอกสารอ้างอิง ให้ใช้การเรียงลำดับตามตัวอักษร โดยเริ่มที่เอกสารภาษาไทยก่อน จึงตามด้วยเอกสารภาษาอังกฤษ

๕. ตัวอักษรที่กำหนดสำหรับบทคัดย่อและเรื่องเต็มคือ TH SarabunPSK

๖. สำหรับงานวิจัยที่จะนำเสนอในครั้งนี้ ในส่วนเนื้อความกรุณาเติมข้อความ **"งานวิจัยนี้เป็นงานสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ"**

หมายเหตุ:

- สำหรับการเขียนหรือสะกดชื่อสถานที่เป็นภาษาอังกฤษ เช่นอำเภอ หรือจังหวัด ขอให้ยึดตามหลักเกณฑ์ของราชบัณฑิตยสถาน
- ในกรณีที่มีผลการทดลองที่สำคัญมากหลายหัวข้อควรเลือกเฉพาะที่สำคัญหรือแยกเรื่องส่ง
- กรุณาเตรียมต้นฉบับให้ถูกต้องตามรูปแบบและส่งตามเวลาที่กำหนดไว้เท่านั้น ในกรณีที่ต้นฉบับไม่ถูกต้องตามรูปแบบที่กำหนดไว้ คณะอนุกรรมการฝ่ายวิชาการขออนุญาตในการแก้ไขตามที่เห็นสมควร และในกรณีที่จำเป็นจะไม่มีการตีพิมพ์เรื่องเต็มที่มีรูปแบบไม่ถูกต้องตามแบบที่กำหนดไว้โดยไม่ต้องแจ้งให้ทราบล่วงหน้า
- ในกรณีที่ส่งต้นฉบับเกินกว่าเวลาที่กำหนดไว้ อาจไม่มีการจัดพิมพ์โดยไม่ต้องแจ้งให้ทราบล่วงหน้า
- สามารถดาวน์โหลดต้นแบบการเขียนบทคัดย่อและเรื่องเต็มได้ที่เวปไซต์ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ http://www.rspg.or.th

แบบลงทะเบียน
การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ ๖
"ทรัพยากรไทย : นำสิ่งดีงามสู่ตาโลก"
๒๑-๒๓ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๕๖
ณ เขื่อนศรีนครินทร์ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี

ชื่อ-นามสกุล.....
หน่วยงาน/สถาบัน/ .....
ที่อยู่.....
.....
โทรศัพท์.....โทรสาร.....
อีเมล์แอดเดรส .....

ประเภทการลงทะเบียน:

☐ ลงทะเบียนนำเสนอผลงาน : ☐ แบบบรรยาย ☐ แบบโปสเตอร์
หัวข้อเรื่อง : (ภาษาไทย/ภาษาอังกฤษ)

๑. .....
.....
๒. .....
.....
๓. .....
.....

☐ ลงทะเบียนเข้าร่วมการประชุมโดยไม่นำเสนอผลงาน

พร้อมกันนี้ได้ชำระค่าลงทะเบียนประชุมวิชาการฯ เป็นจำนวนเงิน ..... บาท โดยโอนเงินเข้าบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ สาขาย่อยสวนจิตรลดา ชื่อบัญชี โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช บัญชี ๑ เลขที่บัญชี ๐๖๗-๒๐๒๐๕๗-๕ (067-202057-5) ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ เรียบร้อยแล้ว

ลงชื่อ .....
( )
วันที่ .....

<u>การชำระเงิน</u> 1. ผู้สนใจเข้าร่วมงานสามารถลงทะเบียนโดยการโอนเงินในอัตราคนละ ๑๐๐๐ บาท เข้าบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ สาขาย่อยสวนจิตรลดา ชื่อบัญชี โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช บัญชี ๑ เลขที่บัญชี ๐๖๗-๒๐๒๐๕๗-๕ (067-202057-5) โดยจะได้รับใบเสร็จรับเงินในวันประชุมวิชาการฯ (รับที่หน้างาน) พร้อมเอกสารประกอบการประชุมวิชาการฯและคูปองอาหารว่าง

2. เมื่อชำระเงินเรียบร้อยแล้ว<u>กรุณาส่งหลักฐานใบโอนเงิน</u>มายังโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ เพื่อเป็นการยืนยันการชำระเงิน ทางโทรสารหมายเลข ๐-๒๒๘๒-๐๖๖๕ หรือ ๐-๒๒๘๒-๑๘๕๐ หรืออีเมล์ภาพสแกนใบโอนเงินมายังอีเมล์ rspg56@gmail.com

<u>การส่งผลงาน</u> กรุณาส่งใบตอบรับพร้อมบทคัดย่อและเรื่องเต็มมายัง ดร. นัฏฐพร รุจิขจร
โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สวนจิตรลดา พระราชวังดุสิต กรุงเทพฯ ๑๐๓๐๓
โทร/โทรสาร ๐-๒๒๘๒-๐๖๖๕, ๐-๒๒๘๒-๑๘๕๐ อีเมล์ rspg56@gmail.com
หมายเหตุ : กรุณาแฟกซ์หรืออีเมล์แสดงความจำนงเข้าร่วมเสนอผลงาน <u>ภายในวันที่ ๓๑ พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๕๖</u>

เว็บไซต์โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ http://www.rspg.or.th

ประวัติโดยย่อผู้นำเสนอผลงานทางวิชาการ
งานประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ ๖
"ทรัพยากรไทย : นำสิ่งดีงามสู่ตาโลก"
๒๑-๒๓ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๕๖
ณ เขื่อนศรีนครินทร์ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี

๑ ชื่อเรื่องที่นำเสนอ .....
.....
.....

นำเสนอภาค ☐ บรรยาย ☐ โปสเตอร์

ภาคบรรยายวันที่ ..... เวลา .....น.

๒ ชื่อผู้นำเสนอ .....

๓ ตำแหน่งทางวิชาการ .....

๔ วุฒิการศึกษา .....
.....
.....

๕ สาขาที่เชี่ยวชาญ .....

๖ สถานที่ทำงาน .....
.....
.....

๗ ประวัติการทำงาน .....
.....
.....
.....
.....

๘ หมายเลขโทรศัพท์/โทรสารที่ติดต่อได้สะดวก .....
.....

๙ อีเมล์แอดเดรส .....

ต้องการผู้ช่วยในการนำเสนอหรือไม่? ☐ ต้องการ ..... คน ☐ ไม่ต้องการ

หมายเหตุ กรุณาส่งแบบฟอร์มนี้กลับมาที่สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ
<u>ภายในวันที่ ๑ พฤศจิกายน พ.ศ. ๒๕๕๖</u>

1. ทางโทรสาร หมายเลข ๐-๒๒๘๒-๐๖๖๕, ๐-๒๒๘๒-๑๘๕๐
2. ทางอีเมล์ rspg56@gmail.com

สมาชิกชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ.

ชื่อ-สกุล .....

ที่อยู่ปัจจุบัน .....

.....

สถานที่ทำงาน .....

.....

โทรศัพท์ ..... โทรสาร .....

โทรศัพท์มือถือ .....

อีเมล์แอดเดรส .....

สถานที่ติดต่อได้สะดวก ☐ ที่บ้าน ☐ ที่ทำงาน

อาชีพ ..... ตำแหน่ง .....

ประวัติการศึกษา:

ปีการศึกษาที่จบ	ระดับการศึกษา	สถาบัน	สาขาวิชา

ความเชี่ยวชาญ/ความถนัด .....

.....

.....

กรุณาส่งเอกสารฉบับนี้มาที่

ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ.
โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สวนจิตรลดา เขตดุสิต กรุงเทพฯ ๑๐๓๐๓
โทรสาร ๐-๒๒๘๒-๐๖๖๕ หรือ ๐-๒๒๘๒-๑๘๕๐
e-mail: nutthaporn@rspg.org / piyarat@rspg.org
เวปไซต์ : www.rspg.or.th

ตัวอย่างการเขียนเรื่องเต็ม

ชื่อเรื่อง: ขนาด 16 pt, จัดกึ่งกลาง ตัวใหญ่และหนา

การศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาคัพภะหวายในสภาพเย็นยิ่งยวด
OPTIMIZATION OF CRYOPRESERVATION TECHNIQUE OF RATTAN'S EMBRYO

กำไล เรียนหัตถกรรม[1], สนธิชัย จันทร์เปรม[2], ภาณี ทองพำนัก[3], ศิริกุล เกษา[1], ปิยรัษฎ์ เจริญทรัพย์[1] และพรชัย จุฑามาศ[1]

Kamlai Reanhatthakam[1], Sontichai Chanprame[2], Panie Tongpamnak[3], Sirikool Kesa[1], Piyarat Chareonsap[1] and Pornchai Jutamas[1]

[1]โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สวนจิตรลดา เขตดุสิต กทม. 10303, [2]ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน นครปฐม 73140, [3]ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง 7 สถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

[1]Plant Genetic Conservation Project, Chitralada Villa, Dusit, Bangkok 10303, [2]Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 7314, [3]Central Laboratory and Greenhouse Complex, Research and Development Institute Kasetsart University Kamphangsaen Nakhon Pathom 73140

ชื่อผู้แต่ง: ขนาด 14 pt จัดกึ่งกลาง ตัวปกติ

ที่อยู่: ขนาด 12 pt จัดชิดซ้าย ตัวเอียง

ตัวข้อบทคัดย่อ: ขนาด 14 pt. ชิดซ้าย ตัวหนา

บทคัดย่อ

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ได้เก็บรวบรวมหวายที่มีคุณค่าใน *in vitro* และ *ex situ* และการเก็บรักษาพันธุกรรมที่นานที่สุด คือการเก็บในสภาพเย็นยิ่งยวด จึงศึกษาการเก็บรักษาคัพภะหวาย 3 ชนิด ซึ่งเป็นตัวอย่างทดลองจากหวายชนิดในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อพ.สธ. สวนจิตรลดา ได้แก่ หวายน้ำผึ้ง หวายกำพวนเล็ก และหวายขี้ไก่ ในไนโตรเจนเหลว 3 วิธีการ คือ vitrification-dehydration, encapsulation-dehydration และ encapsulation- vitrification ก่อนการเก็บรักษาคัพภะจะต้องผ่านขั้นตอนการเตรียมความพร้อม และเติมสารป้องกันความเย็นที่ช่วงระยะเวลาต่าง 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 และหวายขี้ไก่ 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 ก่อนนำไปแช่ในโตรเจนเหลว แล้วนำมาละลายน้ำแข็ง และนำไปเลี้ยงบนอาหาร preculture 1 วัน หลังจากนั้นแคะเอาเฉพาะส่วนคัพภะย้ายมาเลี้ยงบนอาหาร MS นาน 1 เดือน คัพภะสามารถรอดชีวิตได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในหวายขี้ไก่

เนื้อหาบทคัดย่อ: ขนาด 14 pt จัดเท่ากันทั้งสองด้าน ตัวปกติ

ตัวข้อบทคัดย่อ: ขนาด 14 pt. จัดชิดซ้าย ตัวหนา

Abstract

Plant Genetic Conservation Project under the Royal Intiative of Her Royal Htighness 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. จัดเท่ากันทั้งสองด้าน ตัวปกติ

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.*

ชื่อและนักวิจัย 12 pt., จัดชิดซ้าย ตัวหนา เชื่อ แต่ ตามตัวอย่างปกติ

คำสำคัญ : การเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว, หวาย, encapsulation-dehydration
Keywords: cryopreservation, rattan, encapsulation-dehydration

*ติดต่อนักวิจัย : กำไล เรียนหัตถกรรม (อีเมล์ kamlai@rspg.org)
*Corresponding author: Kamlai Reanhatthakam (Email: kamlai@rspg.org)

เนื้อหาขนาด 14 pt., จัดหน้าแบบเท่ากันทั้งสองด้าน และแบ่งเป็น 2 คอลัมน์

เรื่องเต็ม นักวิจัยกรอก : ขนาด 14 pt., ชิดซ้าย หนา

บทนำ

หวายเป็นพืชวงศ์ Palmae เป็นเถาเลื้อยลำต้นปีนป่ายตามต้นไม้ มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนแถบโลกเก่า (Old World tropics) และเขตกึ่งร้อน ในโลกมีหวายทั้งหมด 13 สกุล 600 ชนิด (Zehui, 2007) ในประเทศไทยพบ 6 สกุล 62 ชนิด คือ สกุล *Calamus*, *Daemonorops*, *Korthalsia*, *Plectocomia*, *Plectocomiopsis* และ *Myrialepsis* (Sutthisrisilapa, 2004) พบมากบริเวณป่าดิบชื้นทางภาคใต้ของประเทศ หวายเป็นผลผลิตที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ได้มาจากป่า สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการทำเครื่องจักสาน ส่วนใหญ่ใช้ทำเฟอร์นิเจอร์ เพื่อส่งออกและใช้ภายในประเทศ ปัจจุบันประเทศประสบกับภาวะการขาดแคลนวัตถุดิบหวายเพื่อใช้ทำฟอร์นิเจอร์ เนื่องจากหวายหลายชนิดที่มีคุณภาพดีถูกตัดออกมาใช้กันอย่างไม่มีการควบคุมและขาดการอนุรักษ์ พื้นที่ป่าถูกทำลาย ทำให้หวายหลายชนิดเกือบสูญพันธุ์ไป อีกทั้งยังมีข้อจำกัดเรื่องการขยายพันธุ์ ในธรรมชาติหวายมีการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดและแตกหน่อ เมล็ดหวายเป็นเมล็ดที่ไม่สามารถเก็บรักษาได้เมื่อเก็บผลมาแล้วต้องนำมาปลูกทันทีเพราะถ้าเก็บไว้นานเกิน 1สัปดาห์ เปอร์เซ็นต์การงอกจะลดลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องหาวิธีการเก็บรักษาเมล็ดระยะยาวนานเพื่อใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต ซึ่งวิธีการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (Cryopresercation)เป็นการเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชในไนโตรเจนเหลว ที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส(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' (Lurswigidjarus 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)

จุดประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการเก็บรักษาคัภพะหวายในไนโตรเจนเหลวในการอนุรักษ์พันธุกรรมหวายต่อไป งานวิจัยนี้เป็นงานสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ"

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ศึกษาการเก็บรักษาคัพภะหวาย 3 ชนิด คือ หวายน้ำผึ้ง หวายกำพวนเล็ก และหวายขี้ไก่ ในไนโตรเจนเหลว 3 วิธีการ คือ vitrification-dehydration, encapsulation-dehydration, encapsulation-Vitrification

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

2. การเก็บรักษาคัพภะหวายในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี vitrification-dehydration บรรจุเฉพาะส่วนของคัพภะหวายใส่ใน cryotube แช่ใน loading solution (LS ; 2 M glycerol + 0.4 M sucrose) เป็นเวลา 0, 20 และ 30 นาที แล้วนำไปแช่ในสาร cryoprotectant PVS_2 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. การเก็บรักษาคัพภะหวายในไนโตรเจนเหลวโดยวิธี encapsulation-dehydration บรรจุส่วนของคัพภะหวายลงในขวดที่มี 6% Na-alginate ใช้ trip ปลายตัดดูดสารละลาย 6% Na-alginate ให้มีชิ้นส่วนของคัพภะติดมาด้วย หยดลงในขวดที่มี 0.1 M $CaCl_2$ ทิ้งไว้ 30 นาที ย้าย beads ที่เกิดขึ้น แช่ใน loading solution (LS) เป็นเวลา 0, 20 และ 30 นาที นำ beads วางบนจานแก้วเพื่อดึงน้ำออกด้วย silica gel 50 กรัม/คัพภะ 20 ชิ้นในจานแก้วปิดฝา เป็นเวลา0, 14 และ 21 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำ beads บรรจุลงใน cryotube แล้วแช่ในโตรเจนเหลว

4. การเก็บรักษาคัพภะหวายในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี encapsulation-vitrification บรรจุส่วนของคัพภะหวายลงในขวดที่มี 6% Na-alginate ใช้ trip ปลายตัดดูดสารละลาย 6% Na-alginate ให้มีชิ้นส่วนของคัพภะติดมาด้วย หยดลงในขวดที่มี 0.1 M $CaCl_2$ ทิ้งไว้ 30 นาที ย้าย beads แช่ใน loading solution (LS) เป็นเวลา 0, 20 และ 30 นาที เติมสาร PVS2 นำไป prefreezing ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 30, 45, 60 และ 90 นาที นำเม็ด beads ใส่ cryotube และเติม PVS_2 ลงใน cryotube แล้วแช่ในโตรเจนเหลว ในการทดลองการเก็บรักษาคัพภะหวายทั้ง 3 วิธี จะศึกษาอัตราการรอดชีวิตของคัพภะทั้งก่อนและหลังการแช่ในโตรเจนเหลว โดยทดลองแช่ในโตรเจนเหลวเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง

5. ทดสอบการรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว นำคัพภะที่เก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวมาละลายน้ำแข็งด้วยน้ำอุ่นอุณหภูมิ 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

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการเก็บรักษาคัพภะหวายในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี vitrification-dehydration

จากการนำคัพภะหวายทั้ง 3 ชนิด ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร preculture เพื่อเตรียมความพร้อมนาน 7 วัน มาทดสอบหาช่วงเวลาในการแช่สาร loading solution และระยะเวลาการแช่สาร PVS_2 ที่อุณภูมิ 0 °c พบว่า คัพภะที่ไม่แช่ในโตรเจนเหลวมีการรอดชีวิตเป็น 100% ทุกการทดลอง สังเกตจากคัพภะมีการขยายตัวใหญ่ขึ้น สีของคัพภะมีสีขาวอมเหลือง และสังเกตได้ว่าการทำ preculture เพื่อกระตุ้นการปรับตัวให้ทดทานต่อสภาพแช่แข็งเพียงอย่างเดียวใน เวลา 7 วัน ให้ผลการรอดชีวิตเหมือนกับการเติมสารป้องกันความเย็นทุกช่วงระยะเวลา แสดงว่าสาร cryoprotectants ไม่เป็นพิษต่อคัพภะ (Wang *et. al.*, 2005) ส่วนคัพภะที่แช่ในโตรเจนเหลวไม่มีการตอบสนองต่ออาหาร MS ลักษณะของคัพภะกลายเป็นสีดำ ทุกการทดลอง อาจเป็นเพราะช่วงเวลาในการแช่สาร Loading solution และ PVS_2 น้อยเกินไป ทำให้สาร cryoprotectants ประเภทออกฤทธิ์ภายในเซลล์ ได้แก่ DMSO และ glycerol ไม่สามารถซึมผ่านเข้าไปภายในเซลล์ ทำให้การป้องกันการยืดตัวของเซลล์และปกป้องการเปลี่ยนแปลงของระบบ membrane

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

<u>2. ผลการเก็บรักษาคัพภะหวายในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี encapsulation-dehydration</u>

จากการนำคัพภะหวายทั้ง 3 ชนิด ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงบนอาหาร preculture เพื่อเตรียมความพร้อมนาน 7 วัน มาหาช่วงเวลาในการแช่ beads ที่มีคัพภะในการรอดชีวิตของหวายทั้ง 3 ชนิด แตกต่างกันคือ หวายขี้ไก่รอดชีวิต 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 ก่อนสาร loading solution และระยะเวลาในการดึงน้ำออกจากเม็ด beads โดยใช้ silica gel 50 กรัม/คัพภะ 20 ชิ้น พบว่า คัพภะที่ไม่แช่ไนโตรเนเหลวมีการรอดชีวิตเป็น 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 พร้อมที่จะพัฒนา

การทำเม็ด beads ช่วยทำให้เซลล์เกิดการสะสมน้ำตาลและเพิ่มความเสถียรของผนังเซลล์มากขึ้น โดยเฉพาะน้ำตาลซูโครสสามารถปกป้องเซลล์จากความเย็นในขณะที่เซลล์สูญเสียน้ำ การใช้ silica gel ที่ 14 ชั่วโมง ดึงน้ำออก 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		หวายขี้ไก่	
		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%

<u>3) ผลการเก็บรักษาคัพภะหวายในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี encapsulation-vitrification</u>

จากนำคัพภะหวายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงบนอาหาร preculture เพื่อเตรียมความพร้อมเป็นเวลา 7 วัน มาหาช่วงเวลาในการแช่ beads ที่มีคัพภะในสาร loading solution และระยะเวลาในการแช่ beads ใน PVS_2 ที่อุณภูมิ 0 °c พบว่า คัพภะที่ไม่แช่ไนโตรเจนเหลว มีการรอดชีวิต 100% ลักษณะของคัพภะมีสีขาวอมเหลือง พร้อมที่จะพัฒนาต่อไป ส่วนคัพภะที่แช่ไนโตรเจนเหลว ไม่มีการตอบสนองต่ออาหาร MS สังเกตได้จากสีคัพภะกลายเป็นสีดำ ทุกการทดลอง เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS นาน 1 เดือน อาจเป็นเพราะระยะเวลาการแช่สาร loading solution และ PVS_2 น้อยเกินไป ทำให้ไม่สามารถดึงน้ำออกจากเซลล์ได้ จึงเกิดผลึกน้ำแข็งขึ้นภายในเซลล์ ส่งผลให้เซลล์ถูกทำลายและเสียหายได้

สรุปผลการทดลอง

การเก็บรักษาคัพภะหวายน้ำผึ้ง หวายกำพวนเล็ก และหวายขี้ไก่ ในไนโตรเจนเหลว ทั้ง 3 วิธีการ คือ vitrification-dehydration, encapsulation-dehydration และ encapsulation-vitrification พบว่า วิธีที่เหมาะสมที่สุดในการเก็บรักษาทำได้โดยการปรับสภาพคัพภะด้วยการทำ preculture บนอาหาร MS ที่เติม 0.3 M sucrose เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 °C จากนั้นนำชิ้นส่วนมาทำ encapsulation และแช่ใน 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 โดยผ่านขั้นตอนการละลายน้ำแข็งและนำไปเลี้ยงบนอาหาร MS นาน 1 เดือน พบการรอดชีวิตของคัพภะหวาย นอกจากนี้จะขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการแช่ loading solution และ ดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วย silica gel แล้วยังขึ้นอยู่กับชนิดของหวายและขนาดของคัพภะที่นำมาเก็บรักษาด้วย ซึ่งในขั้นต่อไปจะหาวิธีการที่เหมาะสมในการเก็บรักษาคัพภะหวายแต่ละชนิดโดยวิธี encapsulation-dehydration ต่อไป

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการ อนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ผู้วิจัยขอขอบคุณมา 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 shootips 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

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 *Asparaiplis 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.