ชื่อเรื่อง ระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อระดับอุตสาหกรรม

ชื่อผู้เขียน นางสาวพิมผกา ส่างกวาง

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ภูมิสุทธาผล

บทคัดย่อ

จากการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่สายพันธุ์ 'Superrex' ในสภาพปลอดเชื้อในระยะชักนำให้เกิดต้นได้เปรียบเทียบชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อและจำนวนชั้นของกาบใบที่ลอกออก พบว่า การใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์และการลอกกาบใบที่หัวออก 3 ชั้นลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้มากที่สุด และได้ศึกษาผลของ BA ร่วมกับ IAA พบว่า การใช้BAเพียงอย่างเดียวความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุดถึง100%ในระยะเพิ่มปริมาณต้นมีการใช้ BAหรือ TDZพบว่า TDZความเข้มข้น0.5มิลลิกรัมต่อลิตร เพิ่มปริมาณต้นได้มากที่สุด 4.7 ต้นต่อชิ้นส่วน และเมื่อเปรียบเทียบระบบเพาะเลี้ยง พบว่า ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (temporary immersion bioreactor; TIB) ที่มีการให้อาหารเหลว 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที เพิ่มปริมาณต้นได้มากที่สุด 7.3 ต้นต่อชิ้นส่วน ซึ่งเพิ่มขึ้น 2.2 เท่า เมื่อเทียบกับระบบอาหารแข็ง ในระยะชักนำให้ออกรากมีการใช้ NAA พบว่า การไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (กลุ่มควบคุม) ชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุดในต้นขนาดต่าง ๆ แต่ NAA ระดับความเข้มข้นสูง (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ยับยั้งการพัฒนาของราก ส่วนการศึกษาการกระตุ้นให้สร้างหัวขนาดเล็ก พบว่า ปัจจัยทั้งหมดที่ทดสอบกระตุ้นการสร้างหัวได้แตกต่างกันโดยการเติม PBZ ความเข้มข้น 0.3และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรและซูโครสความเข้มข้น 12% และการให้สภาวะเครียดระดับปานกลางจากความร้อนอุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียสกระตุ้นการสร้างหัวได้ดีที่สุด 50, 80, 80 และ 93%ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีต่าง ๆ พบว่า หัวที่เกิดขึ้นจากการเติมซูโครสระดับความเข้มข้นสูง (6-12%) มีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักสดมากกว่าการใช้กรรมวิธีอื่น ๆ โดยสภาวะที่เหมาะสม คือ การใช้ซูโครสความเข้มข้น 9% ซึ่งกระตุ้นให้สร้างหัวได้สูงและหัวมีการเจริญเติบโตดีที่สุด จากผลการศึกษาทั้งหมดได้นำมาออกแบบระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งมีการใช้ระบบ TIB เป็นส่วนหนึ่งของขั้นตอนการผลิต

Title	Large-scale micropropagation system for onion plantlet and bulblet production
Author	Miss Pimphaka Sangkwang
Degree of	Master of Science in Biotechnology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Paweena Pumisutapon

ABSTRACT

In this research, the factors affecting *in vitro* propagation of onion (*Allium cepa*) cv.'Superrex' were studied. In the initiation stage, sterilizing agents and removal of scale leaves were tested and results showed that optimal condition for surface sterilization was the use of mercuric chloride together with the removal of three-scaled leaves. Additionally, the effect of plant growth regulators, BA and IAA, on shoot induction was also examined. It was found that 2 mg/L BA gave the best shoot induction at 100%. In the multiplication stage, two types of cytokinins, BA and TDZ, were compared and highest shoot number at 4.7 shoots per explants was obtained when 0.5 mg/L TDZ was used. Furthermore, shoot multiplication in temporary-immersion bioreactor (TIB) system was investigated to enhance multiplication rate. Interestingly, TIB system showed the best multiplication rate at 7.3 shoots per explants when liquid medium was fed for 10 minutes 6 times a day, which enhanced multiplication rate by 2.2 times as compared to solid medium. For *in vitro* rooting, the effect of auxin, NAA, on root induction was observed. Highest root induction at 100% was obtained when growth regulator was not added into the medium, whereas, the use at high NAA (1 mg/L) was found to inhibit root development. In the study on *in vitro* bulblet formation, all factors including PBZ, ABA, sucrose and moderate-heat stress, showed the effects differently. The best results at 50, 80, 80 and 93% of bulblet formation were obtained when 0.3 and 0.6 mg/L PBZ, 2 mg/L ABA, 12% sucrose and heat treatment at 30 - 35°C were used, respectively. When all treatments were compared, sucrose at high concentration (6-12%) gave the larger and heavier bulblets than others. The optimal condition was the use of 9% sucrose which promoted high bulblet-formation rate and gave the best bulblet growth. Finally, the production scheme of *in vitro* onion shoots and bulblets was designed where the TIB system was also used in the production process.