ระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อระดับอุตสาหกรรม

พิมผกา ส่างกวาง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ชื่อเรื่อง

ระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่
ในสภาพปลอดเชื้อระดับอุตสาหกรรม

โดย

พิมผกา ส่างกวาง

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ภูมิสุทธาผล)
วันที่ 17 เดือน ก.ค. พ.ศ. 2557

กรรมการที่ปรึกษา .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.นพมณี โทปุญญานนท์)
วันที่ 17 เดือน ก.ค. พ.ศ. 2557

กรรมการที่ปรึกษา .....
(รองศาสตราจารย์ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์)
วันที่ 17 เดือน ก.ค. พ.ศ. 2557

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มงคล ถิรบุญยานนท์)
วันที่ 17 เดือน ก.ค. พ.ศ. 2557

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จาตุพงศ์ วาฤทธิ์)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่ 18 เดือน ก.ค. พ.ศ. 2557

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.

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษางานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร. ปวีณา ภูมิสุทธาผล และกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. นพมณี โทปุญญานนท์ และรองศาสตราจารย์ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ ที่ให้ความรู้ความช่วยเหลือ สนับสนุนพร้อมทั้งให้คำแนะนำและคำปรึกษาต่าง ๆ ในระหว่างดำเนินการวิจัย อีกทั้งยังเสียสละเวลาอันมีค่าในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ และคอยให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้ามาโดยตลอด ทั้งนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธัญญา ทะพิงค์แก ที่ให้เกียรติเป็นประธานคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ให้แก่ข้าพเจ้า และให้คำแนะนำในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ บริษัท SUNSWEET ที่เอื้อเฟื้อสายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในการทำการวิจัยในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนทุนการศึกษา ประเภททุนศิษย์เรียนดี ประจำปีการศึกษา 2555

ขอกราบขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา คุณพ่อเชาวฤทธิ์ คุณแม่กัลยา ส่างกวาง ที่มอบโอกาสในการศึกษาเล่าเรียนจนสำเร็จในครั้งนี้ คอยให้กำลังใจ อบรมสั่งสอนเลี้ยงดู พร้อมทั้งมอบความรักความห่วงใยให้ข้าพเจ้าตลอดมา และขอขอบพระคุณพี่ๆเพื่อนๆ และน้องๆ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือในการวิจัยและเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา

ประโยชน์และความดีอันเนื่องมาจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้จะพึงมีเพียงใด ขอมอบแด่คุณพ่อคุณแม่ ผู้อบรมเลี้ยงดูและให้การศึกษา ตลอดจนครูอาจารย์ที่ประสิทธิ์ประสาทความรู้ และอบรมสั่งสอนตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

พิมผกา ส่างกวาง

กรกฎาคม 2557

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
สารบัญตาราง	(9)
สารบัญภาพ	(11)
อักษรย่อ	(18)
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ขอบเขตของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
หอมหัวใหญ่	4
การขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	6
เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบTIB	8
การขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ	10
การกระตุ้นให้พืชสร้างหัวประเภทต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อ	11
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	14
อุปกรณ์และสารเคมี	14
วิธีการทดลอง	15
การทดลองที่1 การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ	16
การทดลองที่ 1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อ	16
การทดลองที่ 1.2การศึกษาผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการชักนำให้เกิดต้น	17
การทดลองที่ 1.3 การศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณต้น	18

หน้า

การทดลองที่ 1.4การศึกษาผลของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ต่อการเพิ่มปริมาณต้น 18
การทดลองที่ 1.5 การศึกษาผลของออกซินและขนาดลำต้น ต่อการชักนำให้ออกราก 20
การทดลองที่2 การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหัวขนาดเล็กของหอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ 21
การทดลองที่ 2.1 การศึกษาผลของสารชะลอการเจริญเติบโตต่อการสร้างหัว 21
การทดลองที่ 2.2การศึกษาผลของ ABAต่อการสร้างหัว 21
การทดลองที่ 2.3การศึกษาผลของ ABA ร่วมกับน้ำตาลต่อการสร้างหัว 22
การทดลองที่ 2.4 การศึกษาผลของสภาวะเครียดจากความร้อนต่อการสร้างหัว 23
การสร้างระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในระดับอุตสาหกรรม โดยใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 24
การวิเคราะห์ข้อมูล 24
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ 25
ผลการวิจัย 25
1.ผลการทดลองการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ 25
1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อ 25
1.2ผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการชักนำให้เกิดต้น 26
1.3ผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณต้น 27
1.4ผลของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIBต่อการเพิ่มปริมาณต้น 29
1.5ผลของผลของออกซินและขนาดลำต้นต่อการชักนำให้ออกราก 34
2. ผลการทดลองการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหัวขนาดเล็กของหอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ 38
2.1 ผลของสารชะลอการเจริญเติบโตต่อการสร้างหัว 38
2.2 ผลของ ABA ต่อการสร้างหัว 43

หน้า

2.3ผลของ ABAร่วมกับน้ำตาลต่อการสร้างหัว 47

2.4 ผลของสภาวะเครียดจากความร้อนต่อการสร้างหัว 57

3. การสร้างระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในระดับอุตสาหกรรม โดยใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 62

วิจารณ์ผลการทดลอง 65

บทที่ 5สรุปผลการทดลอง 69

บรรณานุกรม 70

ภาคผนวก 75

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์สถิติ 76

ภาคผนวก ข ประวัติผู้วิจัย 92

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	การวางแผนการทดลองในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อหอมหัวใหญ่	16
2	การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการชักนำให้เกิดต้น	17
3	การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณต้น	18
4	การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ต่อการเพิ่มปริมาณต้น	19
5	การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของออกซินและขนาดลำต้นต่อการชักนำให้ออกราก	20
6	การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของสารชะลอการเจริญเติบโตต่อการสร้างหัว	21
7	การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของ ABA ต่อการสร้างหัว	22
8	การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของ ABA ร่วมกับน้ำตาลต่อการสร้างหัว	22
9	การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของสภาวะเครียดจากความร้อนต่อการสร้างหัว	23
10	สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหัวหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	42
11	สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหัวหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABAระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	47
12	สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหัวหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมซูโครสเพียงอย่างเดียวระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หรือเติมร่วมกับ ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรหลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	54
13	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวของหอมหัวใหญ่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์	56

ตาราง		หน้า
14	จำนวนใบใหม่ของต้นหัวหอมหัวใหญ่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์	56
15	สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	62

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1	แผนผังงานวิจัยเรื่อง “ระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อระดับอุตสาหกรรม”	15
2	การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหอมหัวใหญ่ในระยะเพิ่มปริมาณเมื่อเริ่มการทดลองด้วยระบบอาหารแข็ง (a) และระบบ TIB แบบขวดแฝด (b) ทั้งสองระบบใช้อาหารปริมาตร 200 มิลลิลิตรต่อภาชนะ 24 ออนซ์ (bar = 10 มิลลิเมตร)	19
3	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนฐานของหัวหอมหัวใหญ่ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1% และคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 25% นาน 10 และ 20 นาที หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 2 สัปดาห์	25
4	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของชิ้นส่วนฐานของหัวหอมหัวใหญ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพียงอย่างเดียว(a) หรือร่วมกับการเติม IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (b) หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	26
5	ลักษณะต้นที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนฐานของหัวหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์(bar = 10 มิลลิเมตร)	26
6	จำนวนต้นที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA (a) และ TDZ (b)ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	27
7	ลักษณะต้นหลัก (main shoot; m) และต้นย่อย (axillary shoot; ax) หอมหัวใหญ่ที่เพิ่มปริมาณได้บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (a) และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (b) หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10 มิลลิเมตร)	28
8	จำนวนต้นที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่ด้วยระบบอาหารแข็งและระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาการให้อาหารเหลวต่าง ๆ ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	29

ภาพ		หน้า
9	ลักษณะต้นที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่ด้วยระบบอาหารแข็ง (a และ b) และระบบ TIB ให้อาหารเหลว 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที (c และ d) ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10 มิลลิเมตร)	30
10	น้ำหนักสดรวมต่อกอของต้นที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นด้วยระบบอาหารแข็งและระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาการให้อาหารเหลวต่าง ๆ ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	31
11	ความสูงต้นหลักและต้นย่อยที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่ด้วยระบบอาหารแข็งและระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาการให้อาหารเหลวต่าง ๆ ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	32
12	จำนวนใบต่อต้นที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่ด้วยระบบอาหารแข็งและระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาให้อาหารเหลวต่าง ๆ ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	33
13	เปอร์เซ็นต์การเกิดรากของต้นหอมหัวใหญ่ขนาดความกว้างส่วนฐาน1-3และ 3-5 มิลลิเมตร (a และ b ตามลำดับ)ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	34
14	ลักษณะต้นหอมหัวใหญ่ขนาดความกว้างส่วนฐาน 1-3 และ 3-5 มิลลิเมตร (บนและล่าง ตามลำดับ) ที่ออกรากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 (a และ e), 0.1 (b และ f), 0.3 (c และ g) และ 1 (d และ h) มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10 มิลลิเมตร)	35
15	ความยาวรากของต้นหอมหัวใหญ่ขนาดความกว้างส่วนฐาน1-3และ 3-5มิลลิเมตร (a และ b ตามลำดับ)ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	36
16	จำนวนรากของต้นหอมหัวใหญ่ขนาดความกว้างส่วนฐาน1-3และ 3-5มิลลิเมตร(a และ b ตามลำดับ)ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์	37

ภาพ		หน้า
17	ลักษณะต้นหอมหัวใหญ่ที่ได้จากการชักนำให้ออกรากในสภาพปลอดเชื้อหลังย้ายปลูกในโรงเรือน 4 สัปดาห์	37
18	เปอร์เซ็นต์การสร้างหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	38
19	ลักษณะต้นและหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ 0,0.15, 0.3 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (a, b, c และ d ตามลำดับ) หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์(bar = 10 มิลลิเมตร)	39
20	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	39
21	ความสูงรวมทั้งต้น(a)และความสูงหัว(b)ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	40
22	จำนวนใบต่อต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MSดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	41
23	น้ำหนักสดรวมทั้งต้น(a)และน้ำหนักสดหัว(b)ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	42
24	เปอร์เซ็นต์การสร้างหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	43
25	ลักษณะต้นและหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ 0,0.5, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร (a, b, c, d และ e ตามลำดับ) หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์(bar = 10 มิลลิเมตร)	44

ภาพ		หน้า
26	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	44
27	ความสูงรวมทั้งต้น(a)และความสูงหัว(b)ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	45
28	จำนวนใบต่อต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	46
29	น้ำหนักสดรวมทั้งต้น(a)และน้ำหนักสดหัว(b)ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	46
30	เปอร์เซ็นต์การสร้างหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม ABA(a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b) ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	48
31	ลักษณะต้นและหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติมหรือเติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (บนและล่าง ตามลำดับ)ร่วมกับซูโครสความเข้มข้น 3 (a และ e), 6(b และ f), 9 (c และ g) และ 12 (d และ h) %หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์(bar = 10 มิลลิเมตร)	49
32	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม ABA(a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b)ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	50
33	ความสูงรวมทั้งต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม ABA(a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b)ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	51

ภาพ		หน้า
34	ความสูงหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม ABA(a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b)ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	51
35	จำนวนใบต่อต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม ABA(a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b)ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	52
36	น้ำหนักสดรวมทั้งต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม ABA(a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b)ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	53
37	น้ำหนักสดหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม ABA(a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b)ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	53
38	ลักษณะต้นหอมหัวใหญ่ที่สร้างหัวซึ่งได้จากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 2 สัปดาห์	55
39	เปอร์เซ็นต์การสร้างหัวที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	57
40	ลักษณะต้นและหัวที่ได้จากการไม่ให้ความร้อน (a) หรือให้ความร้อนระดับอุณหภูมิ30, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส (b, c, d และ e ตามลำดับ)นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์(bar = 10 มิลลิเมตร)	58
41	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	59

ภาพ หน้า

42 ความสูงรวมทั้งต้น(a) และความสูงหัว(b)ที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์ 60

43 จำนวนใบต่อต้นที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์ 60

44 น้ำหนักสดรวมทั้งต้น (a) และน้ำหนักสดหัว (b) ที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์ 61

45 สรุปการออกแบบระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในระดับอุตสาหกรรม 64

สารบัญภาพผนวก

ภาพผนวก		หน้า
1	การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 1.1 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	77
2	การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 1.2 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	77
3	การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 1.3 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	78
4	การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 1.4 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	79
5	การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 1.5 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	80
6	การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 2.1 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	81
7	การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 2.2 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	83
8	การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 2.3 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	85
9	การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 2.4 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	90

อักษรย่อ

อักษรย่อ	ย่อมาจาก
ABA	Abscisic acid
BA	6-Benzylaminopurine
IAA	Indole-3-acetic acid
MS	Murashige and Skoog
NAA	1-Naphthaleneacetic acid
PBZ	Paclobutrazol
TDZ	Thidiazuron
TIB	ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor)

บทที่ 1
บทนำ

หอมหัวใหญ่เป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก ความต้องการหอมหัวใหญ่ภายในประเทศไทยในแต่ละปีเพื่อใช้บริโภคสดและเป็นวัตถุดิบแปรรูปในอุตสาหกรรม คือ 73,000 ตัน จะเห็นได้ว่าผลผลิตหอมหัวใหญ่ที่ปลูกภายในประเทศไทยยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ และในปี 2555 ผลิตหอมหัวใหญ่ได้เพียง 51,830 ตัน เนื่องจากประเทศไทยมีข้อจำกัดในการผลิตหอมหัวใหญ่หลายประการ ได้แก่ ฤดูกาลปลูกหอมหัวใหญ่ ซึ่งสามารถปลูกได้เพียงปีละครั้งในช่วงฤดูหนาว (กันยายนถึงธันวาคม) นอกจากนี้ต้องใช้เมล็ดพันธุ์ที่ได้จากการนำเข้าจากต่างประเทศเท่านั้น สาเหตุเพราะประเทศไทยไม่สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์หอมหัวใหญ่ได้เอง เพราะการผลิตเมล็ดพันธุ์จำเป็นต้องอาศัยความเย็นในการกระตุ้นการออกดอก การพัฒนาของดอกและเมล็ด แต่ประเทศไทยมีภูมิอากาศร้อนชื้นซึ่งไม่เหมาะสมต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์หอมหัวใหญ่อย่างไรก็ตามเมล็ดพันธุ์หอมหัวใหญ่ที่นำเข้ามามีราคาค่อนข้างสูง โดยขายที่ราคาปอนด์ละ 3,000 บาท ซึ่งใช้ปลูกได้เพียง 1 ไร่ (วิโรศณา, 2555)

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคโนโลยีที่ทางอุตสาหกรรมพืชสวนได้นำมาใช้ในการผลิตต้นพันธุ์ที่ดีมีคุณภาพในปริมาณมาก ทั้งเพื่อทดแทนการใช้เมล็ดพันธุ์และการผลิตต้นพันธุ์ดีต่างๆ ความสำเร็จของเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ได้รับการยอมรับ และมีการนำมาใช้ในวงการผลิตต้นกล้าพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น อ้อย มันฝรั่ง และสับปะรด ที่ต้องการต้นพันธุ์ไม่ต่ำกว่าปีละ 1 ล้านต้น ในปัจจุบันมีการพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้ก้าวหน้ายิ่งขึ้น โดยเฉพาะการให้อาหารเหลวแก่ต้นพืชเพื่อทำให้มีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น เทคโนโลยีที่ได้รับความสนใจ คือ ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (temporary immersion bioreactor; TIB) ซึ่งมีข้อได้เปรียบเหนือระบบการผลิตแบบดั้งเดิม (อาหารแข็ง) คือ สามารถผลิตต้นได้เป็นจำนวนมากและช่วยลดต้นทุนด้านแรงงานซึ่งสูงกว่า 60-70% ของต้นทุนการผลิตแบบดั้งเดิม ทางห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เป็นหน่วยงานที่ได้พัฒนาระบบในการผลิตพืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว โดยได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) มาตั้งแต่ปี 2548 มีทั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดเล็ก (700 มิลลิลิตร) และขนาดใหญ่ (20 ลิตร) เพื่อรองรับการผลิตต้นพืชในระดับอุตสาหกรรม จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาได้ประสบผลสำเร็จในการผลิตต้นพันธุ์พืชเศรษฐกิจ เช่น อ้อย ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวได้คราวสามารถผลิตต้นพันธุ์ได้ไม่ต่ำกว่า 5,000 ต้นต่อภาชนะต่อรอบ สามารถลดต้นทุนการผลิตต่อต้นได้สูงถึง 50% (นพมณีและ

คณะ,2553)และขณะนี้กำลังศึกษาวิจัยการผลิตต้นพันธุ์สับปะรดซึ่งมีแนวโน้มการผลิตที่สูง นอกจากนี้ยังได้ศึกษาวิจัยการผลิตหัวพันธุ์พืชเศรษฐกิจอื่นๆ เช่น ปทุมมา (นพมณีและคณะ, 2547) และบุก (รังสิมาและคณะ, 2554) เป็นต้น

การกระตุ้นให้สร้างหัวจิ๋วในสภาพปลอดเชื้อเป็นวิธีการที่สามารถนำมาใช้ผลิตหัวพันธุ์ได้ซึ่งจะช่วยในการย่นระยะเวลาในการปลูกและใช้ผลิตหัวพันธุ์นอกฤดูได้ ซึ่งมีงานวิจัยในพืชหลายชนิด เช่น ลิลลี่ หอมหัวใหญ่ และกระเทียม เป็นต้น รวมทั้งหอมหัวใหญ่ พบว่า ปัจจัยต่าง ๆ เช่นสารควบคุมการเจริญเติบโต สารชะลอการเจริญเติบโต น้ำตาล และสภาวะแวดล้อมของการเพาะเลี้ยงมีผลต่อการกระตุ้นการสร้างหัวจิ๋ว (Kahane et al., 1997; Kim et al., 1994; Podwyszynska, 2006) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่น่าสนใจเกี่ยวกับการใช้สภาวะเครียดระดับปานกลาง (moderate stress) ที่เกิดจากความร้อนความเย็นความแห้งแล้ง ความเค็ม และการขาดอากาศกระตุ้นให้หัวพืชมีการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณมากขึ้นในสภาพปลอดเชื้อ (Pumisutaponet al., 2012)

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการขยายพันธุ์และการสร้างหัวของหอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อในการขยายพันธุ์มีปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ สภาวะฟอกฆ่าเชื้อ สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการชักนำให้เกิดต้น เพิ่มปริมาณต้น และออกรากนอกจากนี้มีการศึกษาสภาวะการให้อาหารเหลวในระบบTIB ในระยะเพิ่มปริมาณต้นด้วยในการกระตุ้นให้สร้างหัวมีปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ สารชะลอการเจริญเติบโตกรดแอบไซซิค (ABA) น้ำตาลหรือแหล่งคาร์บอนและสภาวะเครียดระดับปานกลาง ผลการศึกษาที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ปลูกหอมหัวใหญ่ทำให้ได้รับประโยชน์จากงานวิจัยและพัฒนาที่สร้างขึ้นภายในประเทศตลอดจนหาแนวทางการผลิตหัวพันธุ์ขนาดเล็กเพื่อใช้เป็นต้นพันธุ์ในการปลูก

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.เพื่อศึกษาปัจจัยในการผลิตต้นพันธุ์หอมหัวใหญ่ในขั้นตอนการชักนำให้เกิดต้น การเพิ่มปริมาณต้นทั้งในระบบอาหารแข็งและระบบ TIB และการชักนำให้ออกราก

2. เพื่อศึกษาปัจจัยในการสร้างหัวขนาดเล็กของหอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ

3.เพื่อสร้างระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ระดับอุตสาหกรรม โดยใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ขอบเขตของการวิจัย

ในการศึกษาการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อได้เปรียบเทียบผลของชนิดสารฆ่าเชื้อ ระยะเวลาฟอกฆ่าเชื้อ และการเตรียมชิ้นส่วนพืชในระยะชักนำให้เกิดต้น ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซิน (IAA และ NAA) และไซโตไคนิน (BA และ TDZ) ในการระยะชักนำให้เกิดต้น ระยะเพิ่มปริมาณต้น และระยะชักนำให้ออกรากและในระยะเพิ่มปริมาณต้นยัง ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการเพาะเลี้ยงด้วยระบบTIB (ขนาด 700 มิลลิลิตร) กับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบดั้งเดิม (อาหารแข็ง) ด้วยโดยมีการผันแปรจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารเหลวในระบบ TIB ส่วนการกระตุ้นให้สร้างหัวได้เปรียบเทียบผลของระดับความเข้มข้นสารชะลอการเจริญเติบโต (PBZ และ ABA) และน้ำตาลซูโครสและสภาวะเครียดระดับปานกลางจากความร้อนโดยจะมีการวัดอัตราการสร้างหัวและการเจริญเติบโตของหัว สุดท้ายจึงทำการวิเคราะห์และออกแบบระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในระดับอุตสาหกรรม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ จะเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่สามารถนำมาใช้เปลี่ยนระบบการผลิตหอมหัวใหญ่ที่ต้องพึ่งพาการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ราคาสูงจากต่างประเทศ ทำให้เกษตรกรผู้ปลูกหอมหัวใหญ่ได้รับประโยชน์จากงานวิจัยและพัฒนาที่สร้างขึ้นภายในประเทศ

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

หอมหัวใหญ่

หอมหัวใหญ่มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Aliumcepa* Linn. จัดอยู่ในตระกูล Amaryllidaceae เป็นพืชล้มลุกตระกูลเดียวกันกับหอมแดง ลำต้นหอมหัวใหญ่มีลักษณะสั้นและอวบ มีระบบรากตื้นประมาณ 30-40 เซนติเมตร ส่วนตรงกลางของหัว (bulb) จะเป็นจุดเจริญที่ให้กำเนิดของใบและดอก ถูกห่อหุ้มด้วยกาบใบที่หนาและอวบซึ่งเป็นส่วนของลำต้นที่เปลี่ยนแปลงไปเป็นที่เก็บสะสมอาหาร (ดารนี, 2544) ในด้านการนำหอมหัวใหญ่ไปใช้ประโยชน์มีความนิยมนำมารับประทานสดกับผักสลัดนำไปประกอบอาหาร และใช้แปรรูปในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ หอมหัวใหญ่อบแห้ง หอมหัวใหญ่ดองน้ำส้ม หัวหอมทอด และใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตปลากระป๋อง เป็นต้น(ศูนย์บริการข้อมูลการค้าการลงทุนจังหวัดเชียงใหม่, 2554) ในด้านสรรพคุณทางยาหอมหัวใหญ่เป็นพืชที่มีสารฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ที่ช่วยป้องกันการเกาะและการอุดตันของไขมันที่ผนังหลอดเลือดซึ่งเป็นสาเหตุของโรคหัวใจขาดเลือด (ดารนี, 2544)

หอมหัวใหญ่เป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของโลก ในปี 2547-2551 ประเทศที่มีการส่งออกหอมหัวใหญ่มากเป็นอันดับหนึ่ง คือ จีน รองลงมา คือ อินเดีย สหรัฐอเมริกา และตุรกี ตามลำดับ (ศูนย์บริการข้อมูลการค้าการลงทุนจังหวัดเชียงใหม่, 2554) สำหรับประเทศไทยในปี 2553 มีพื้นที่การเพาะปลูกหอมหัวใหญ่รวมทั้งสิ้น 11,076 ไร่ ซึ่งใช้เมล็ดพันธุ์หอมหัวใหญ่ 11.07 ตัน ให้ผลผลิตต่อไร่ 4,195 กิโลกรัมต่อไร่ และได้ผลผลิตรวม 46,464 ตัน และ แหล่งเพาะปลูกหลักอยู่ในเขตจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย นครสวรรค์และกาญจนบุรี (ข้อมูลและสถิติการผลิตพืชเศรษฐกิจภาคเหนือ, 2553) อย่างไรก็ตามความต้องการผลผลิตหอมหัวใหญ่มีแนวโน้มสูงขึ้น ประมาณการความต้องการผลผลิตหอมหัวใหญ่ภายในประเทศไทยสูงถึง 73,000 ตันต่อปี แต่ในปี 2555 นั้น ผลิตได้เพียง 51,830 ตัน ซึ่งไม่เพียงพอกับความต้องการ เนื่องมาจากมีข้อจำกัดต่างๆ คือ ประเทศไทยไม่สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์เองได้ ในการเพาะปลูกจึงต้องใช้เมล็ดพันธุ์หอมหัวใหญ่ที่นำเข้าจากต่างประเทศเท่านั้น และประเทศไทยมีการเพาะปลูกหอมหัวใหญ่เพียงปีละครั้งตามฤดูกาลในช่วงเดือนกันยายนถึงธันวาคม

ตามข้อผูกพันองค์การการค้าโลก (WTO) ให้เปิดตลาดนำเข้าหอมหัวใหญ่ชนิดผงและหั่นแห้ง เพื่อใช้เป็น ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์สินค้าในการแปรรูปของอุตสาหกรรมอาหาร โดยให้โควตาปีละ 365 ตัน (อัตราภาษีในโควตา 27%)และเห็นชอบให้เปิดตลาดเมล็ดพันธุ์

หอมหัวใหญ่ ให้โควตาปีละ 3.15 ตัน (อัตราภาษีในโควตา 0 %) ซึ่งจะให้ผลผลิตเพียง13,214 ตัน นอกจากนี้ยังกำหนดภาษีนอกโควตา 218% โดยให้ชุมนุมสหกรณ์ผู้ปลูกหอมหัวใหญ่แห่งประเทศไทย จำกัด เป็นผู้นำเข้าแต่เพียงผู้เดียว การไม่เก็บภาษีจะช่วยลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกรและส่งผลให้มีผลผลิตหอมหัวใหญ่ใช้ในประเทศและเหลือส่งออกไปต่างประเทศ (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2555)ซึ่งประเทศไทยไม่สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์หอมหัวใหญ่ได้ เพราะมีภูมิอากาศร้อนชื้นจึงไม่เหมาะสมต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ที่ต้องการความเย็นในการกระตุ้น ดังนั้นรัฐบาลจึงมติให้เปิดตลาดนำเข้าสินค้าเกษตรปี 2555-2557 ในการจัดการการนำเข้าสินค้ากับความต้องการของตลาดภายในประเทศ

การปลูกหอมหัวใหญ่โดยทั่วไปนั้น การเพาะหอมหัวใหญ่ในพื้นที่ 1 ไร่ จะต้องใช้เมล็ดพันธุ์ 0.45 กิโลกรัม ฤดูกาลเพาะปลูกหอมหัวใหญ่อยู่ในช่วงเดือนกันยายนถึงธันวาคม การเพาะกล้าจะเริ่มในเดือนกันยายนถึงตุลาคม โดยนำเมล็ดพันธุ์หอมหัวใหญ่แช่น้ำค้างคืนไว้ 1 คืน เพื่อให้เมล็ดพันธุ์งอกอย่างสม่ำเสมอ แล้วนำมาคลุกด้วยสารป้องกันกำจัดโรคและแมลง และนำไปหว่านในแปลงเพาะหอมหัวใหญ่จะอยู่ในแปลงเพาะจนอายุ 40-45 วัน จึงย้ายลงแปลงปลูกในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคม เมื่อต้นหอมหัวใหญ่มีอายุ 150 วันนับจากการเพาะเมล็ดจึงเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ส่วนโรคต่าง ๆ ที่มักเกิดขึ้นในระหว่างการปลูกหอมหัวใหญ่ ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสหรือโรคหอมเลื้อยเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum Gloeosporioides* ทำให้ใบเน่า ต้นแคระแกร็น ใบบิดโค้งงอ หัวลีบยาวเลื้อยและไม่ลงหัว ระบบรากสั้น ทำให้ต้นเน่าเสียหายในแปลงปลูกและเก็บเกี่ยวไม่ได้ ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายสูงถึง 50-100% โรคใบจุดสีม่วงเกิดจากเชื้อรา*Alternariaporri*(Ell.) Cif. ทำให้เริ่มแรกใบจะเป็นจุดขาวเล็ก ๆ ต่อมากลายเป็นแผลใหญ่รูปไข่สีน้ำตาลปนม่วง มีสปอร์สีดำเป็นผงละเอียดอยู่บนแผล และโรคเน่าคอดินสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora*sp. และ *Fusarium*sp.ทำให้ต้นกล้ามีปลายใบแห้ง บริเวณรากจะเน่าและมีสีน้ำตาลที่โคนต้น บริเวณคอดินมีรอยช้ำสีน้ำตาลเป็นจุดเล็ก ๆ ก่อน ต่อมารอยช้ำจะเพิ่มขนาดจนเต็มรอบโคนต้น ทำให้ต้นกล้าหักพับแล้วแห้งตาย ส่วนโรคใบไหม้เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonascampestris* ทำให้ใบมีแผลฉ่ำน้ำ ในตอนเช้าตรู่จะพบหยดน้ำเล็ก ๆ เกาะอยู่บนแผล แผลนี้จะแห้งเมื่อถูกแสงแดดตอนสาย แผลบนใบเป็นรูปรี หัวท้ายแหลม เนื้อเยื่อตรงกลางโปร่งใส มีขอบแผลฉ่ำน้ำ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแห้ง นอกจากนี้ยังมีศัตรูพืชจำพวกแมลงและหนอนกระทู้หอม เป็นต้น (นิตยาและคณะ, 2533)

การขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประกอบด้วย 5 ระยะคือระยะที่ 0 การเตรียมต้นแม่พันธุ์ ระยะที่ 1 การกระตุ้นให้เกิดต้น ระยะที่ 2 การเพิ่มปริมาณต้น ระยะที่ 3 การยืดยาวของลำต้นและการกระตุ้นการออกราก และระยะที่ 4 การปรับสภาพหรือการย้ายปลูกต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช(Debergh and Maene, 1981;นพมณี,2545) ซึ่งในแต่ละระยะจะมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายปัจจัย ซึ่งจะขึ้นอยู่กับพืช และวัตถุประสงค์ในการขยายพันธุ์ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

ระยะที่ 0 การเตรียมต้นแม่พันธุ์ คือ การลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (microbial contamination) ของการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งขึ้นอยู่กับต้นแม่พันธุ์ที่นำมาเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น หากไม่เหมาะสมอาจมีผลต่อการตอบสนองของชิ้นส่วนนั้นๆ ดังนั้นจึงควรนำต้นแม่พันธุ์ที่คัดเลือกแล้วมาเลี้ยงในเรือนโรงก่อนเพื่อส่งเสริมปัจจัยการเจริญเติบโตของตาข้างหรือต้น ปัจจัยที่เกี่ยวข้องคือ การให้แสงหรืออุณหภูมิ นอกจากนี้ยังต้องลดปริมาณจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียและราที่ติดบนผิวต้นพืชให้เหลือน้อยที่สุด ส่วนการให้น้ำแก่แม่พันธุ์ต้องทำอย่างระมัดระวังเพื่อไม่น้ำไปสัมผัสหรือหรือสัมผัสกับชิ้นส่วนที่จะนำไปกระตุ้นน้อยที่สุด

ระยะที่ 1 การกระตุ้นให้เกิดต้น คือการทำให้ชิ้นส่วนพืชปราศจากเชื้อ โดยการฟอกฆ่าเชื้อที่ติดบนผิวชิ้นส่วนพืช แล้วเพาะเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้ชิ้นส่วนเจริญเติบโตได้ในการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ส่วนของพืชที่นำมาใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้น ได้แก่ ตายอด ตาข้าง ใบ และหัว ส่วนการกระตุ้นให้เกิดตาพิเศษนั้นค่อนข้างเสี่ยง เพราะอาจเกิดกลายกลายพันธุ์ได้ ซึ่งมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระยะชักนำให้เกิดต้น เช่น สารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และสารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำให้เกิดต้น เป็นต้น

สารที่มีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช เช่นเมอร์คิวริกคลอไรด์ (mercuric chloride) และคลอร็อกซ์ (Clorox®) เป็นต้น เมอร์คิวริกคลอไรด์เป็นสารฟอกฆ่าเชื้อที่ค่อนข้างมีฤทธิ์แรงจึงใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ มีหลายงานวิจัยที่ใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ในการฟอกฆ่าเชื้อ เช่น Srivastavaet al. (2010) พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาข้างและเมล็ดของ *Aconitum heterophyllum*ด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1% นาน 5 นาที มีการเกิดยอดที่สมบูรณ์ได้ถึง 100%และยังมีงานวิจัยในพืชชนิดอื่นที่ประสบความสำเร็จในการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ในการฟอกฆ่าเชื้อ เช่นปทุมมา (มัทยา, 2553), *Plumbagozeylanica* Linn. (Routet al.,1999),และ *Swertiachirayita* (Sharmaet al., 2014) เป็นต้น อย่างไรก็ตามการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์นั้นจะต้อง

ปฏิบัติด้วยความระมัดระวัง เพราะเมื่อเมอร์คิวริกคลอไรด์แตกตัวจะได้ปรอท ซึ่งเป็นโลหะหนักที่เป็นพิษต่อร่างกาย โดยจะไปทำลายระบบสมอง ทำให้สมองทำงานช้าลง(Clarkson, 1997)

ส่วนคลอร็อกซ์หรือโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) เป็นสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีการใช้ทั่วไปยกตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้คลอร็อกซ์ในการฟอกฆ่าเชื้อ เช่น อรอุมา และคณะ (2556ก) ได้นำชิ้นส่วนข้อของพืชสมุนไพรไทย *Dioscoreabirmanica*มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารปฏิชีวนะtetracycline ร่วมกับการเขย่าด้วยความถี่สูง(sonication)นาน 30 นาที แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อกซ์2 รอบ รอบแรกใช้คลอร็อกซ์ความเข้มข้น 15%นาน20 นาที และรอบที่ 2 ใช้คลอร็อกซ์ความเข้มข้น 10% นาน 15 นาที พบว่า ชิ้นส่วนข้อ มีการปนเปื้อน 4.76%และการรอดชีวิตสูงที่สุดที่ 95.24%นอกจากนี้มีงานวิจัยที่ใช้คลอร็อกซ์และเมอร์คิวริกคลอไรด์ร่วมกัน เช่น กาญจนรี และคณะ (2554) ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตายอดของไม้น้ำใบพาย พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วยคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 2 %นาน 15 นาที และฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ความเข้มข้น 1%นาน 20 นาที เป็นวิธีการที่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุดเพียง 15% และชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อมีอัตราการเจริญพัฒนาเกิดต้นใหม่สูงถึง 85%

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการชักนำให้เกิดต้น ได้แก่ กลุ่มออกซินเช่น IAA, IBAและ NAA และกลุ่มไซโตไคนินเช่น BA และ TDZโดยชนิดและระดับความเข้มข้นที่ใช้จะแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด ยกตัวอย่างเช่น งานวิจัยของแววดาว (2555) ที่ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดต้นอเมซอนในสภาพปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงต้นอเมซอน ในอาหารสูตร MS ที่มีการเติมออกซินIAA และ NAA ร่วมกับไซโตไคนินBA และ TDZ พบว่าTDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับIAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดต้นต่อกอมากที่สุดที่ 1.8 ต้น

ระยะที่2 การเพิ่มปริมาณต้นจุดประสงค์ของระยะนี้คือ การเพิ่มปริมาณต้นให้มากขึ้นในขวดอาหารเพาะเลี้ยง ต้นที่ได้ในระยะนี้จะอยู่ในรูปของยอดที่ไม่มีรากก่อนจะนำไปกระตุ้นให้ต้นยืดยาวและออกรากในระยะต่อไปในระยะนี้มีการใช้ปัจจัยส่งเสริมการเพิ่มปริมาณต้นได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มไซโตไคนินมีงานวิจัยที่ศึกษาถึงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มนี้ต่อการเพิ่มปริมาณต้น เช่นHusain et al. (2007) ศึกษาการเพิ่มปริมาณต้น *Pterocarpusmarsupium*จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1-10 ไมโครโมลาร์ พบว่า TDZ ความเข้มข้น 0. 4 ไมโครโมลาร์ สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด คือ 15.2 ยอดต่อชิ้นส่วน และ Jala (2012)ได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณต้นจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดขมิ้นชัน*Curcuma Longa* L.บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 and 4มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA0,0.5และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่า BAความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมเพียงอย่างเดียวสามารถเพิ่มปริมาณยอดมากที่สุด คือ2.6 ยอดต่อชิ้นส่วน

นอกจากนี้ในปัจจุบันยังการใช้มีเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสมัยใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์พืชในระดับอุตสาหกรรม คือ ระบบTIB ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณต้นได้หลายเท่าเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงแบบดั้งเดิมด้วยระบบอาหารแข็ง (ดูหัวข้อเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบTIB)

ระยะที่ 3 การยืดยาวของลำต้นและการกระตุ้นการออกรากต้นที่ได้จากการเพิ่มปริมาณต้น (ระยะที่ 2) มักจะเป็นต้นขนาดเล็กเพราะเกิดจากผลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเฉพาะกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งทำให้เกิดการแตกต้นมาก แต่ไม่สามารถนำไปย้ายปลูกในสภาพภายนอกได้ทันทีจึงต้องมีการกระตุ้นให้ลำต้นยืดสูงขึ้นและแข็งแรงพอที่จะออกสู่สภาพแวดล้อมภายนอก ซึ่งทำได้โดยย้ายต้นลงในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่วนการชักนำให้เกิดรากจะทำโดยนำต้นไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตซึ่งนิยมใช้กลุ่ม ออกซินเช่นในงานวิจัยของอรอุมา และคณะ (2556ข) ได้ศึกษาการออกรากของหัวข้าวเย็น พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นบนอาหารแข็งสูตร ½MS ที่เติมผงถ่านความเข้มข้น 0.01%และ BA ความเข้มข้น 2มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ IBA ความเข้มข้น 1มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการเกิดรากสูงที่สุดและต้นมีจำนวนรากมากและยาว

ระยะที่ 4 การปรับสภาพหรือการย้ายปลูกต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ขั้นตอนนี้มีความสำคัญมากหากไม่มีความระมัดระวังอาจจะสร้างความเสียหายให้กับต้นพืชได้ เนื่องจากต้นที่เพาะเลี้ยงในขวดมีความชื้นสูงและได้รับความเข้มแสงต่ำจึงมีการสังเคราะห์แสงต่ำ เมื่อย้ายออกปลูกจะต้องกระตุ้นให้พืชสามารถสังเคราะห์แสงได้เองโดยต้องปรับสภาพต้นในเรือนโรงที่ควบคุมสภาพแวดล้อมให้ได้ก่อน แล้วค่อยๆเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม เช่น ลดความชื้นและค่อยๆเพิ่มความเข้มแสง จนพืชสามารถเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติได้

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบTIB

ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวหรือระบบTIB มีการทำงานอัตโนมัติจึงสามารถลดขั้นตอนต่างๆในการทำงานเช่นการตัดถ่ายเนื้อเยื่อการเปลี่ยนอาหารและลดพื้นที่ของชั้นวางขวดในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ถึง 80%อีกทั้งยังสามารถทำงานง่ายสะดวกและรวดเร็วโดยมีการผสมผสานข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบระบบอาหารแข็งและอาหารเหลวเข้าด้วยกันซึ่งระบบอาหารแข็งมีข้อดี คือ มีการแลกเปลี่ยนอากาศที่ดีและต้นที่ได้มีคุณภาพดีแต่มีข้อเสียคือเพิ่มปริมาณต้นได้น้อยส่วนระบบอาหารเหลวมีข้อดี คือเพิ่มจำนวนต้นได้มากขึ้น แต่มีข้อเสียเสีย คือ ต้นที่ได้มีการฉ่ำน้ำ (hyperhydricity)หลักการทำงานของระบบTIB คือภาชนะที่ใช้จะแยกส่วนบรรจุอาหาร

กับส่วนบรรจุชิ้นส่วนพืชออกจากกันในแต่ละส่วนมีท่อเชื่อมเพื่อให้มีการดันอาหารไปและกลับด้วยแรงดันลมจากปั๊มลม ซึ่งปั๊มลมจะต้องเป็นแบบไม่ใช้น้ำมันอากาศที่เข้าไปภายในขวดจะถูกทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองผ่านแผ่นกรองอากาศ (air filter) ขนาดรูพรุน 0.2 ไมครอนและมีการกำหนดจำนวนครั้งและเวลาในการได้รับอาหารตามความเหมาะสมของชนิดพืช(นพมณีและคณะ ,2550)

ระบบTIB นั้นถูกนำมาใช้ขยายพันธุ์พืชเศรษฐกิจต่างๆหลายชนิด เช่น ในมันฝรั่งมีการใช้ไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 4 ลิตร และใช้อาหารเหลวสูตร MS ดัดแปลง ปริมาณ 3.5 ลิตร ที่เติมน้ำตาลซูโครส 80 กรัมต่อลิตร ในการผลิตหัวมันฝรั่งจิ๋วสายพันธุ์'Desiree'และ 'Atlantic'พบว่าสองสายพันธุ์มีการเกิดหัว 2.8-3.1 หัวต่อชิ้นส่วนขณะที่ระบบอาหารแข็งมีการเกิดหัวเพียง 1-1.5 หัวต่อชิ้นส่วน(Jimenez et al.,1999) และในกาแฟ(*Coffeaarabica* L.) มีการศึกษาการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอในไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 1 ลิตร โดยให้อาหารเหลวทุก ๆ 4, 12 และ 24 ชั่วโมง นานครั้งละ1 นาที พบว่าการให้อาหารทุกๆ 4 ชั่วโมง สามารถเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอมากที่สุดถึง 3,081 เอ็มบริโอ(Albarran et al., 2005)

ส่วนการศึกษาวิจัยในประเทศไทย นพมณีและคณะ (2547) ได้พัฒนาระบบการผลิตต้นพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับเศรษฐกิจที่สำคัญคือปทุมมาด้วยระบบTIBซึ่งได้ใช้อุปกรณ์ที่มีอยู่และจัดหาได้ง่ายภายในประเทศมาดัดแปลงทำให้ได้ระบบTIB แบบขวดแฝดต้นทุนต่ำและมีราคาถูกกว่าแบบมาตรฐานถึง 3.11 เท่านอกจากนี้ยังศึกษาการผลิตต้นจิ๋วปทุมมาในระยะเพิ่มปริมาณต้นในระบบTIB ขนาด700 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับระบบอาหารแข็งและอาหารเหลวแบบนิ่งพบว่าระบบTIB สามารถเพิ่มจำนวนต้นจิ๋วได้ประมาณ 27 เท่า จากเริ่มต้นซึ่งมากกว่าระบบอาหารแข็งและอาหารเหลว 10 เท่า นพมณีและคณะ (2553) ยังศึกษาการใช้ระบบTIB ขนาดอุตสาหกรรม 20 ลิตร ในการผลิตต้นพันธุ์อ้อย โดยการใช้ต้นอ้อยที่ได้จากระยะเพิ่มปริมาณต้นเป็นชิ้นส่วนตั้งต้นจำนวน 80 กอ (5 ต้นต่อกอ) ต่อภาชนะ และใช้อาหารเหลวที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อกระตุ้นให้ต้นยืดยาวและออกราก ซึ่งพบว่า ระบบ TIB ขนาดอุตสาหกรรมสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้สูงประมาณ 5,000 ต้นต่อภาชนะ ซึ่งเพิ่มขึ้นจากการใช้อาหารแข็งกว่า 16 เท่า

การขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ

Kahane et al. (1992) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่พันธุ์วันยาว 'De Mulhouse'-type 'Auxone' ในการตรวจสอบการพัฒนาของตาจากชิ้นส่วนลำต้นของต้นที่ได้จากระยะเพิ่มปริมาณ โดยตัดแบ่งลำต้นออกเป็นสี่ส่วนตามแนวตั้งแล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาพบว่าชิ้นส่วนลำต้นไม่มีการปรากฏของตาหรือ meristematic cell ตรงบริเวณซอกแผ่นใบมาก่อน แต่หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารแล้วจะมีการเกิดตาพิเศษ (adventitious bud) ขึ้นที่บริเวณซอกแผ่นใบ ซึ่งพัฒนาโดยตรงมาจากการแบ่งของชั้นเซลล์ด้านใต้ใบ (abaxial) โดยไม่ผ่านการเป็นแคลลัส ต่อมาตาพิเศษได้พัฒนาไปเป็นยอดที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ส่วนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นที่ไม่ได้มีการตัดแบ่งจะไม่มีการสร้างตาข้างหรือตาพิเศษนอกจากนี้ได้เสนอแผนการขยายพันธุ์โดยในแต่ละรอบจะประกอบด้วย การกระตุ้นให้เกิดยอดสามารถใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นที่เป็นส่วนฐานของหัว ช่อดอก หรือตาดอกซึ่งต้องผ่านการฟอกฆ่าเชื้อก่อน หรือใช้ต้นเดี่ยวที่อยู่ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งมีส่วนฐานขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 1 เซนติเมตรมาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้นก็ได้ โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินกระตุ้นให้เกิดยอดเช่นBAหรือ kinetin ต่อมาเป็นการเลี้ยงให้ยอดกลายเป็นต้นโตในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตแล้วจึงทำการแยกเลี้ยงเป็นต้นเดี่ยวๆ ในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเช่นกัน หลังจากขั้นตอนนี้สามารถนำต้นไปย้ายปลูกในเรือนโรงได้ หรืออาจจะกระตุ้นให้ส่วนฐานของลำต้นขยายขนาดมากขึ้น โดยเพาะเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง ซึ่งต้นขนาดใหญ่ที่ได้จากขั้นตอนนี้สามารถนำไปเป็นชิ้นส่วนตั้งต้นในการขยายพันธุ์รอบต่อไปได้

Khalid et al.(2001) ได้ทำการทดสอบในหอมหัวใหญ่สายพันธุ์ 'Jinhua red' โดยแบ่งครึ่งส่วนหัวเป็นสองส่วนเท่า ๆ กันในแนวขวาง แล้วนำเฉพาะส่วนหัวครึ่งล่างซึ่งมีส่วนฐานลำต้นมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 25% นาน 20 นาที แล้วตัดแบ่งออกเป็นแปดส่วนย่อย ๆ ตามแนวรัศมีของหัว และใช้ชิ้นส่วนที่มีกาบใบเพียง 2 ชั้นติดกันที่เรียกว่า twin scales มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มีออกซินNAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อกระตุ้นให้เกิดยอดพบว่า NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดมากที่สุดถึง93% เฉลี่ย 0.84 ยอดต่อชิ้นส่วนแต่การใช้ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไซโตไคนิน $4PU_{30}$(Forchlorfenuron)ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถกระตุ้นให้เกิดยอดมากที่สุด 1.25 ยอดต่อชิ้นส่วน และมีการเกิดยอด 79% ส่วนในการชักนำให้ยอดออกรากพบว่า การใช้ NAA ความ

เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไซโตไคนินBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นให้เกิดรากมากที่สุดจำนวน 1.06 รากต่อยอดและมีการเกิดราก 75%

Kamstaityteand Stanys(2004) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ 3 สายพันธุ์ 'Lietuvosdidieji', 'StutgartenRiesen' และ 'Centurion' F1 โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนฐานของหัวบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีการเติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 0.9, 4.4, 8.9, 13.1 ไมโครโมลาร์ หรือkinetinความเข้มข้น 1.1, 5.3, 10.6 และ 5.8 ไมโครโมลาร์ และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร พบว่า ในการใช้ BAP พบว่า ต้นเล็กมีจำนวนเพิ่มขึ้นจาก1.0 ต้น เป็น 2.1 ต้น ที่เมื่อระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจาก0.9ไมโครโมลาร์ เป็น 4.4 ไมโครโมลาร์ส่วนการใช้ kinetinพบว่าความเข้มข้น 10.6 ไมโครโมลาร์ ต้นเล็กมีจำนวนเพิ่มขึ้นและได้จำนวนต้นสม่ำเสมอจำนวน1.9-2.1 ต้นต่อชิ้นส่วน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบระหว่างBAP และ kinetinพบว่าการใช้ kinetin ให้ผลดีกว่า BAP

การกระตุ้นให้พืชสร้างหัวประเภทต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อ

ในการกระตุ้นให้พืชสร้างหัวในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้มีการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ เช่น สารควบคุมการเจริญเติบโต สารชะลอการเจริญเติบโต น้ำตาล และสภาวะแวดล้อมของการเพาะเลี้ยง เป็นต้น ในที่นี้จะยกตัวอย่างงานวิจัยที่ได้ศึกษาการกระตุ้นการสร้างหัวประเภท bulb เช่น ในหอมหัวใหญ่ กระเทียม ทิวลิปและลิลลี่ และหัวประเภทเหง้าหรือที่เรียกว่า ไรโซม (rhizome) เช่น ในอัลสโตรมีเรีย(*Alstroemeria*sp.)

Kahane et al.(1997) ศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ ต่อการสร้างหัวขนาดเล็กของหอมหัวใหญ่และกระเทียม (*A. sativum*) ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ ระยะเวลาการให้แสงฟลูออเรสเซนต์ อัตราส่วนระหว่างแสงสีแดงและแสง far red อุณหภูมิ น้ำตาลซูโครส และ ethephonพบว่าการผันแปรระยะเวลาการให้แสงฟลูออเรสเซนต์ไม่สามารถกระตุ้นให้หอมหัวใหญ่สร้างหัวได้ทั้งพันธุ์วันสั้นและพันธุ์วันยาว แต่การให้แสงจากหลอดไส้ (incandescent lamp) ซึ่งให้สเปคตรัมของแสง far- red ร่วมกับการให้แสงฟลูออเรสเซนต์ในสภาพวันยาว (16 ชั่วโมงต่อวัน) สามารถกระตุ้นให้สร้างหัวได้ ส่วนในกระเทียมมีการสร้างหัวเริ่มจากการให้แสงฟลูออเรสเซนต์นาน 10 ชั่วโมงต่อวันเป็นต้นไป ซึ่งมีการตอบสนองเฉพาะพันธุ์ฤดูใบไม้ร่วง โดยจะมีการสร้างหัวเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการให้แสงยาวนานขึ้น นอกจากนี้การให้แสงจากหลอดไส้ร่วมกับแสงฟลูออเรสเซนต์ยิ่งเพิ่มการสร้างหัวได้มากขึ้น การเพาะเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิต่ำ (3-4 องศาเซลเซียส) สามารถกระตุ้นให้กระเทียมสร้างหัวได้แต่หอมหัวใหญ่ไม่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิต่ำในสร้าง

หัวได้ การให้ทั้งแสงสภาพวันยาว (16 ชั่วโมงต่อวัน) และอัตราส่วนระหว่างแสงสีแดงต่อแสง far red ต่ำ น้อยกว่า 2 ร่วมกับสภาพอุณหภูมิต่ำ (3-4 องศาเซลเซียส) สามารถกระตุ้นให้พืชทั้งสองชนิดสร้างหัวได้ นอกจากนี้ในหอมหัวใหญ่ยังพบการสร้างหัวเมื่อมีการใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูง (มากกว่า 80 กรัมต่อลิตร) หรือ ethephon (มากกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่วนกระเทียมพันธุ์ฤดูใบไม้ร่วงมีการสร้างหัวน้ำหนักมากขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสสูงขึ้น

Khalidet al. (2001) ศึกษาการสร้างหัวเล็กจากการเพาะเลี้ยงต้นหอมหัวใหญ่พบว่าการใช้ไซโตไคนิน4PU_{30} (Forchlorfenuron) ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นให้มีการสร้างหัวมากที่สุดถึง 84% โดยหัวที่ได้มีขนาดเฉลี่ย2.6 เซนติเมตร ส่วนการใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูง 100 กรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นให้เกิดหัวมากที่สุด 81% และหัวมีขนาดเฉลี่ย 2.9 เซนติเมตร

Lapitan and Patena(1992)ศึกษาการสร้างหัวของกระเทียมโดยชักนำจากยอดหลายๆยอดบนอาหารแข็งสูตรGamborg(B5)ที่เติม2-iP ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนมีการแตกออกเกิดเป็นยอด แต่มีการฉ่ำน้ำเพิ่มขึ้น เมื่อทำการเพาะเลี้ยง 4 รอบ 4 สัปดาห์ต่อรอบ และมีอัตราการขยายพันธุ์ 4.5 ต่อรอบ ผลิตได้ 324 ต้นต่อ 1 ชิ้นส่วน หลังจาก 4 รอบของการผลิต ยอดถูกชักนำให้เกิดเป็นหัวเล็ก 95% และต้นที่ถูกสร้างให้เกิดหัวเล็กมีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าต้นที่ไม่มีหัว

Podwyszynska(2006) ศึกษาการสร้างหัวของทิวลิป3 สายพันธุ์ ได้แก่ 'Prominence''Blenda'และ'Blue Parrot' โดยในการสร้างหัวทิวลิปนั้นจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ การพัฒนาของ bulb primordiaในต้นในช่วงสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงก่อนนำไปให้ความเย็น การกระตุ้นการพัฒนาของหัวโดยให้ความเย็นกับต้น และการสร้างหัวที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ซึ่งเริ่มจากการนำชิ้นส่วนยอดมาเพิ่มปริมาณบนอาหารแข็งที่เติมไซโตไคนิน TDZ และเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ต่อมาจึงเติมอาหารเหลวที่มีออกซิน NAA และ/หรือสารชะลอการเจริญเติบโต คือ PBZและ ancymidolระดับความเข้มข้นต่างๆ ลงไปบนอาหารแข็งทำให้มีสภาพเป็น double-phases และเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 6 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายต้นไปเลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูงและปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน แล้วจึงย้ายไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-5 เดือน เพื่อกระตุ้นให้สร้างหัว ผลปรากฏว่า การเติมอาหารเหลวที่มี NAA และ/หรือ PBZ หรือ ancymidol สามารถกระตุ้นให้มีการสร้างหัวอย่างมีนัยสำคัญทั้งนี้การตอบสนองขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของทิวลิปด้วย ในพันธุ์ 'Prominence'การเติมอาหารเหลวที่มี Ancy ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้มีการเกิดหัวสูงประมาณ100% ในพันธุ์ 'Blenda'การเติมอาหารเหลวที่มี NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ร่วมกับ PBZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีการสร้างหัวสูงถึง 125%และในพันธุ์ 'Blue Parrot'การเติมอาหารเหลวที่มี NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ ancymidol ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีการสร้างหัวมากที่สุดประมาณ40%

Bach and Ptak.(2005) ศึกษาเกี่ยวกับการสร้างหัวของทิวลิปสายพันธุ์ 'Apeldoorn' โดยเริ่มจากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ภายใต้สภาพมีแสงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนาน 10 สัปดาห์ เพื่อกระตุ้นให้เอ็มบริโอพัฒนาไปเป็นต้นแล้วทำการต้นไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MSที่เติมน้ำตาลซูโครส 6% ภายใต้สภาพมืดที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 12 สัปดาห์เพื่อกระตุ้นการสร้างหัว หลังจากนั้นย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพมีแสงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่ามีการเกิดหัวมากที่สุดที่ 25.4 % โดยมีน้ำหนักสดมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อหัว

Kim et al. (1994)ศึกษาการสร้างหัวในลิลลี่ พบว่าการสร้างหัวถูกควบคุมโดยกรด ABA โดยอาหารเพาะเลี้ยงABAมีการพัฒนาของหัวเกิดขึ้นจากต้นเล็ก แต่ไม่มีการพัฒนาของใบ ส่วนอาหารที่เติมสารยับยั้งการสังเคราะห์ ABA คือ fluridone จะมีเพียงการพัฒนาของใบเท่านั้น แต่ไม่มีการพัฒนาของหัวจากต้นเล็ก

Pumisutapon et al. (2012) ศึกษาการเจริญเติบโตของเหง้าอัลสโตรมีเรียหลังจากได้รับสภาวะเครียดแบบต่างๆ ในระดับปานกลาง ได้แก่ ความร้อน คือ การบ่มในน้ำร้อนและอากาศร้อนอุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส ความเย็น คือ การแช่ในน้ำเย็นอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ความเค็ม คือ การแช่ในสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 500 มิลลิโมลาร์ ความแห้งแล้ง คือ การปล่อยให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ และสภาวะขาดอากาศ คือ การแช่ในน้ำที่อุณหภูมิห้อง โดยให้ชิ้นส่วนเหง้าได้รับสภาวะเครียดเป็นระยะเวลาต่างๆ ก่อนการนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร พบว่าสภาวะเครียดระดับปานกลางเหล่านี้สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของเหง้าได้ โดยเฉพาะการให้ความร้อนและความเย็นกระตุ้นให้เหง้ามีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ คือ 75และ 97% ตามลำดับ ขณะที่ความเครียดไม่มีผลต่อการเพิ่มน้ำหนักสดในส่วนของลำต้นด้านบน ซึ่งมีการสันนิษฐานว่าพืชตอบสนองต่อความเครียดโดยปรับตัวให้เหง้าซึ่งเป็นอวัยวะสะสมอาหารเพิ่มความสามารถในการสะสมชีวมวล (biomass) นอกจากนี้สภาวะเครียดระดับปานกลางต่างๆ ยังเพิ่มอัตราการเพิ่มปริมาณของเหง้าด้านข้างอีกด้วย โดยเฉพาะการให้ความเค็มสามารถกระตุ้นให้เหง้าด้านเพิ่มปริมาณมากขึ้นถึง 67%

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์และสารเคมี

1. หอมหัวใหญ่สายพันธุ์ 'Superrex' ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท SUN SWEET เลขที่ 9 หมู่ 1 ตำบลทุ่งสะโตก อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่

2. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)ดัดแปลง

3. สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มต่าง ๆได้แก่ออกซิน (IAA และNAA) ไซโตไคนิน (BA และ TDZ), ABA และสารชะลอการเจริญเติบโต (PBZ)

4. แหล่งคาร์บอน ได้แก่ น้ำตาลซูโครส

5. สารที่ทำให้อาหารแข็งตัว ได้แก่ เจลแลนกัม (gellan gum)

6. สารฟอกฆ่าเชื้อได้แก่ เอทิลแอลกอฮอล์เมอร์คิวริกคลอไรด์(mercuric chloride) และคลอร็อกซ์ (Clorox®) รวมทั้งน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

7. ขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตรความสูง 10.5 เซนติเมตร)และขนาด24 ออนซ์(เส้นผ่าศูนย์กลาง 7.5 เซนติเมตรความสูง15 เซนติเมตร)

8. อุปกรณ์สำหรับระบบ TIB ขนาดภาชนะ 24 ออนซ์ เช่น ตัวกรองอากาศข้อต่อและสายยางซิลิโคน เป็นต้น

9. เครื่องแก้วสำหรับการตวงวัดสารเคมีเช่น บีกเกอร์ปิเปต และกระบอกตวง

10.เครื่องชั่งทศนิยมสองและสี่ตำแหน่ง

11.เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter)

12.เตาแก๊ส

13.หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)

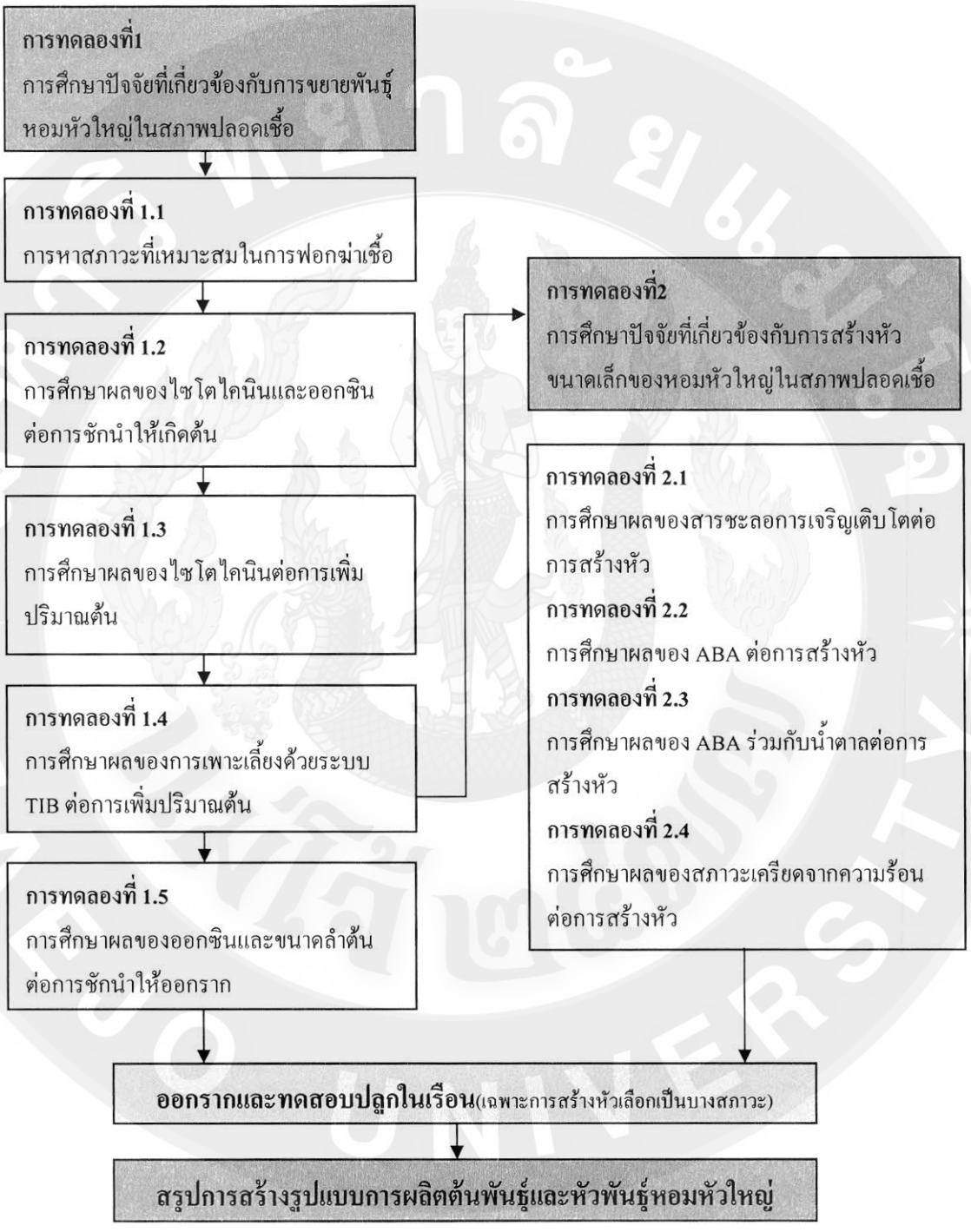
14.อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

15.ตู้ปลอดเชื้อสำหรับตัดถ่ายเนื้อเยื่อ(laminar-air flowcabinet)

16.อุปกรณ์ผ่าตัด เช่น ใบมีด ด้ามมีด และปากคีบ

วิธีการทดลอง

แผนผังการทดลองต่าง ๆ ในงานวิจัยนี้ แสดงดังภาพที่ 1



ภาพ 1 แผนผังงานวิจัยเรื่อง "ระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อระดับอุตสาหกรรม"

การทดลองที่1 การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองที่ 1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อ

1.1.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 2x2x2 Factorial in CRDทำการศึกษา 3 ปัจจัยคือปัจจัยที่ 1 ชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อได้แก่ เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1%และคลอร็อกซ์ 25%ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ 10 และ 20 นาที และปัจจัยที่ 3 จำนวนชั้นของกาบใบหอมหัวใหญ่ที่ลอกออกได้แก่ 1 และ 3 ชั้น รวม 8 กรรมวิธี (ตาราง 1)กรรมวิธีละ 16 ซ้ำ

ตาราง 1 การวางแผนการทดลองในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อหอมหัวใหญ่

จำนวนชั้นของกาบใบ	เมอร์คิวริกคลอไรด์		คลอร็อกซ์	
ที่ลอกออก	10 นาที	20 นาที	10 นาที	20 นาที
1 ชั้น	T1	T2	T3	T4
3 ชั้น	T5	T6	T7	T8

1.1.2 การฟอกฆ่าเชื้อ

นำหอมหัวใหญ่มาเช็ดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วผ่าครึ่งหัวตามแนวขวางทิ้งส่วนครึ่งบนของหัวใช้เฉพาะส่วนครึ่งล่างที่มีฐานติดอยู่เท่านั้นลอกกาบใบออก 1 หรือ 3 ชั้น ผ่าครึ่งอีกครั้งตามแนวตั้งนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยการแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70% นาน 1 นาทีตามด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% หรือคลอร็อกซ์ 25% นาน 10 และ 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง

1.1.3 การตัดแต่งชิ้นส่วนพืช

นำชิ้นส่วนหอมหัวใหญ่ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วจากข้อ 1.1.2 มาตัดแบ่งตามแนวตั้งให้ได้ทั้งหมด 8 ชิ้นส่วนย่อย (1 ชิ้นส่วนที่ผ่าครึ่งตัดแบ่งได้4 ชิ้นส่วนย่อย)

1.1.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

นำชิ้นส่วนย่อยจากข้อ 1.1.3 ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่มีซูโครส 3%และเจลแลนกัม 3 กรัมต่อลิตรซึ่งเติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรบรรจุในขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ (ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.8)

1.1.5 สภาวะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

เก็บเนื้อเยื่อพืชไว้ภายใต้สภาวะมีแสงความเข้ม 40 $\mu molm^{-2} s^{-1}$ นาน16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

1.1.6 การเก็บข้อมูล

บันทึกการรอดชีวิตและการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนพืชหลังเพาะเลี้ยงนาน2 สัปดาห์

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการชักนำให้เกิดต้น

1.2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 2x4 Factorial in CRD ทำการศึกษา 2 ปัจจัยคือ ปัจจัยที่ 1 ระดับความเข้มข้นของไซโตไคนิน BA ได้แก่ 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรและปัจจัยที่ 2 ระดับความเข้มข้นของออกซิน IAA ได้แก่ 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 8 กรรมวิธี (ตาราง 2)กรรมวิธีละ16 ซ้ำ

ตาราง2 การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการชักนำให้เกิดต้น

IAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	0	1	2	3
0	T1	T2	T3	T4
0.5	T5	T6	T7	T8

1.2.2 การฟอกฆ่าเชื้อ การตัดแต่งและการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

นำหอมหัวใหญ่มาเช็ดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วผ่าครึ่งหัวตามแนวขวางทิ้งส่วนครึ่งบนของหัวใช้เฉพาะส่วนครึ่งล่างที่มีฐานติดอยู่ลอกกาบใบออก 3 ชั้น ผ่าครึ่งอีกครั้งตามแนวตั้งนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยการแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70% นาน 1 นาทีและเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ตัดชิ้นส่วนพืชตามวิธีการในข้อ1.1.3 และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ1.1.4 แต่เติมBA ร่วมกับIAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตาราง 2 เก็บชิ้นส่วนพืชตามสภาวะเพาะเลี้ยงในข้อ 1.1.5

1.2.3 การเก็บข้อมูล

บันทึกการเกิดยอดหลังเพาะเลี้ยงนาน4สัปดาห์

การทดลองที่ 1.3 การศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณต้น

1.3.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการศึกษา 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 ระดับความเข้มข้นของไซโตไคนิน BA ได้แก่ 0, 1, 2และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และปัจจัยที่ 2 ระดับความเข้มข้นของไซโตไคนิน TDZ ได้แก่ 0, 0.1, 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 8 กรรมวิธี (ตาราง3) กรรมวิธีละ10 ซ้ำ

ตาราง 3 การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณต้น

BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)				TDZ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
0	1	2	4	0	0.1	0.2	0.5
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8

1.3.2 การตัดแต่งและการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

นำต้นหอมหัวใหญ่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 4 สัปดาห์ ที่มีฐานลำต้นกว้าง 3-5 มม. มาตัดใบออกให้เหลือความสูง 10มิลลิเมตร แบ่งครึ่งในแนวตั้ง แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.1.4 แต่เติม BA หรือ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตารางที่ 3 เก็บชิ้นส่วนพืชตามสภาวะเพาะเลี้ยงในข้อ 1.1.5

1.3.3 การเก็บข้อมูล

บันทึกจำนวนต้นที่เพิ่มปริมาณได้หลังเพาะเลี้ยงนาน4สัปดาห์

การทดลองที่1.4 การศึกษาผลของการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ต่อการเพิ่มปริมาณ

1.4.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการศึกษา 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 จำนวนครั้งในการให้อาหารเหลว ได้แก่ 6 และ 12 ครั้งต่อวัน และปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาในการให้อาหารเหลว ได้แก่ ครั้งละ 5 และ 10 นาที โดยมีกลุ่มควบคุม (control) เป็นการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็ง รวม 5 กรรมวิธี (ตาราง 4) กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ

ตาราง 4 การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ต่อการเพิ่มปริมาณต้น

ระยะเวลาการให้อาหารเหลว (นาทีต่อครั้ง)	จำนวนครั้งในการให้อาหารเหลว (ครั้งต่อวัน)		อาหารแข็ง
	6	12	
5	T1	T2	T5
10	T2	T4	

1.4.2 การตัดแต่งและการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

การตัดแต่งชิ้นส่วนพืชมีวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 1.3.2 การเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็งให้นำชิ้นส่วนพืชมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.1.4 แต่เติม TDZ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพ 1a) ส่วนการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB (นพมณีและคณะ, 2547) ใช้อาหารเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็ง แต่ไม่เติมเจลแลนกัม โดยใช้ชุดภาชนะแบบขวดแฝดขนาด 24 ออนซ์ (ภาพ 1b) ทั้งสองระบบใช้ชิ้นส่วนพืช 10 ชิ้นส่วนต่ออาหาร 200 มิลลิลิตร เก็บชิ้นส่วนพืชตามสภาวะเพาะเลี้ยงในข้อ 1.1.5

1.4.3 การเก็บข้อมูล

บันทึกจำนวนต้นที่เพิ่มปริมาณได้ ความสูงต้น จำนวนใบ และน้ำหนักสดของต้นหลังเพาะเลี้ยงนาน4สัปดาห์

ภาพ 2 การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหอมหัวใหญ่ในระยะเพิ่มปริมาณเมื่อเริ่มการทดลองด้วยระบบอาหารแข็ง (a) และระบบ TIB แบบขวดแฝด(b)ทั้งสองระบบใช้อาหารปริมาตร 200 มิลลิลิตรต่อภาชนะ 24 ออนซ์ (bar =10 มิลลิเมตร)

การทดลองที่ 1.5 การศึกษาผลของออกซินและขนาดลำต้นต่อการชักนำให้ออกราก

1.5.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 2x4Factorial in CRD ทำการศึกษา 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 ระดับความเข้มข้นของออกซิน NAA ได้แก่ 0, 0.1, 0.3และ1มิลลิกรัมต่อลิตร และปัจจัยที่ 2 ขนาดความกว้างฐานลำต้น ได้แก่ 1-3และ 3-5 มิลลิเมตร รวม 8 กรรมวิธี (ตาราง5) กรรมวิธีละ12 ซ้ำ

ตาราง 5 การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของออกซินและขนาดลำต้นต่อการชักนำให้ออกราก

ความกว้างฐานลำต้น	NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
(มิลลิเมตร)	0	0.1	0.3	1
1-3	T1	T2	T3	T4
3-5	T5	T6	T7	T8

1.5.2 การตัดแต่งและการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

นำต้นหอมหัวใหญ่ที่ได้จากระยะเพิ่มปริมาณอายุ 4 สัปดาห์ ที่มีฐานลำต้นกว้าง 1-3 และ 3-5 มิลลิเมตร มาตัดใบออกให้เหลือความสูง 10มิลลิเมตรแล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.1.4 แต่เติม NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตาราง 5 เก็บชิ้นส่วนพืชตามสภาวะเพาะเลี้ยงในข้อ 1.1.5

1.5.3 การนำต้นออกปลูกในโรงเรือน

นำต้นหอมหัวใหญ่ที่เพาะเลี้ยงได้ 3 สัปดาห์ มาออกปลูกในโรงเรือน โดยใช้วัสดุปลูก คือ ดิน : ทราย : ขี้เถ้าแกลบ : ขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1 : 0.5 : 3 : 1 โดยปลูกลงในถุงดำขนาด 2x 6 นิ้วตัดใบทิ้งให้เหลือความสูงประมาณ5 เซนติเมตร สภาวะแวดล้อมในโรงเรือนควบคุมความชื้น60-80% อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และพรางแสง 50-60%

1.5.4 การเก็บข้อมูล

บันทึกการเกิดราก จำนวนราก และความยาวรากหลังเพาะเลี้ยงนาน4สัปดาห์

การทดลองที่ 2 การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหัวขนาดเล็กของหอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองที่ 2.1 การศึกษาผลของสารชะลอการเจริญเติบโตต่อการสร้างหัว

2.1.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบCRD โดยศึกษาระดับความเข้มข้นของสารชะลอการเจริญเติบโต PBZ ได้แก่ 0, 1.5, 3และ 6มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 4 กรรมวิธี (ตาราง6) กรรมวิธีละ15 ซ้ำ

ตาราง 6 การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของสารชะลอการเจริญเติบโตต่อการสร้างหัว

PBZ(มิลลิกรัมต่อลิตร)			
0	1.5	3	6
T1	T2	T3	T4

2.1.2 การตัดแต่งและการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

นำต้นหอมหัวใหญ่ที่ได้จากระยะเพิ่มปริมาณอายุ 4 สัปดาห์ ที่มีฐานลำต้นกว้าง 3-5 มิลลิเมตร มาตัดใบออกให้เหลือความสูง 10 มิลลิเมตรแล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.1.4 แต่เติม PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตาราง 6 เก็บชิ้นส่วนพืชตามสภาวะเพาะเลี้ยงในข้อ 1.1.5

2.1.3 การเก็บข้อมูล

บันทึกลักษณะต้น จำนวนใบ ความสูงต้น ความสูงหัวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัว และน้ำหนักสดของต้นและหัว หลังเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์

การทดลองที่ 2.2 การศึกษาผลของ ABA ต่อการสร้างหัว

2.2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD คือ ระดับความเข้มข้นของ ABA ได้แก่ 0, 0.5, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรรวม 5 กรรมวิธี (ตาราง 7) กรรมวิธีละ 15 ซ้ำ

ตาราง 7 การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของ ABA ต่อการสร้างหัว

ABA(มิลลิกรัมต่อลิตร)				
0	0.5	1	2	4
T1	T2	T3	T4	T5

2.2.2 การตัดแต่งและการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

ตัดแต่งชิ้นส่วนพืชตามวิธีการในข้อ 2.1.2 แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.1.4 แต่เติม ABA ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตาราง 7 เก็บชิ้นส่วนพืชตามสภาวะเพาะเลี้ยงในข้อ 1.1.5

2.2.3 การเก็บข้อมูล

บันทึกผลเช่นเดียวกับข้อ 2.1.3

การทดลองที่ 2.3 การศึกษาผลของ ABA ร่วมกับน้ำตาลต่อการสร้างหัว

2.3.1การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 2x4 Factorial in CRD ทำการศึกษา 2ปัจจัยปัจจัยที่ 1 คือ ระดับความเข้มข้น ABA ได้แก่ 0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส ได้แก่ 3, 6, 9และ 12%รวม 8 กรรมวิธี (ตาราง 8) กรรมวิธีละ 15 ซ้ำ

ตาราง 8 การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของ ABA ร่วมกับน้ำตาลต่อการสร้างหัว

ABA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ซูโครส (%)			
	3	6	9	12
0	T1	T2	T3	T4
2	T5	T6	T7	T8

2.3.2 การตัดแต่งและการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

ตัดแต่งชิ้นส่วนพืชตามวิธีการในข้อ 2.1.2 แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.1.4 แต่เติมซูโครสและ ABA ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตาราง 8เก็บชิ้นส่วนพืชตามสภาวะเพาะเลี้ยงในข้อ 1.1.5

2.3.3 การนำต้นออกปลูกในโรงเรือน

นำต้นหอมหัวใหญ่ที่เพาะเลี้ยงได้ 8 สัปดาห์ มาออกปลูกในโรงเรือน ใช้วัสดุปลูกและควบคุมสภาวะแวดล้อมในโรงเรือนเช่นเดียวกับข้อ 1.5.3

2.3.4 การเก็บข้อมูล

ต้นที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยงบันทึกผลเช่นเดียวกับข้อ 2.1.3 และต้นที่ออกปลูกในโรงเรือนบันทึกการรอดชีวิต ขนาดของหัวที่เพิ่มขึ้น และจำนวนใบใหม่ หลังจาก 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 2.4 การศึกษาผลของสภาวะเครียดจากความร้อนต่อการสร้างหัว

2.4.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD คือ ศึกษาระดับอุณหภูมิที่ให้ความร้อนได้แก่ 30, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส โดยมีกลุ่มควบคุม (control) คือ การไม่ให้ความร้อน รวม 5 กรรมวิธี (ตาราง 9) กรรมวิธีละ 15 ซ้ำ

ตาราง 9 การวางแผนการทดลองในการศึกษาผลของสภาวะเครียดจากความร้อนต่อการสร้างหัว

ความร้อน (องศาเซลเซียส)				ไม่ให้ความร้อน
30	35	40	45	
T1	T2	T3	T4	T5(กลุ่มควบคุม)

2.4.2 การตัดแต่งการให้ความร้อนและการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

ตัดแต่งชิ้นส่วนพืชตามวิธีการในข้อ 2.1.2 แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.1.4 ต่อมานำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมินาน 1 ชั่วโมง ณ ระดับอุณหภูมิต่าง ๆ ดังตาราง 9 เก็บชิ้นส่วนพืชตามสภาวะเพาะเลี้ยงในข้อ 1.1.5

2.4.3 การเก็บข้อมูล

บันทึกผลเช่นเดียวกับข้อ 2.1.3

การสร้างระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในระดับอุตสาหกรรม โดยใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้จากทั้งการทดลองที่ 1 และ 2 ซึ่งได้ผลดีที่สุดหรือมีความเหมาะสมมากที่สุด มาสร้างเป็นระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อระดับอุตสาหกรรม

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลการทดลองมาทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้โปรแกรม Statgraphics Plus 5.1 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี One-way ANOVA Multiple Range Test ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 95%

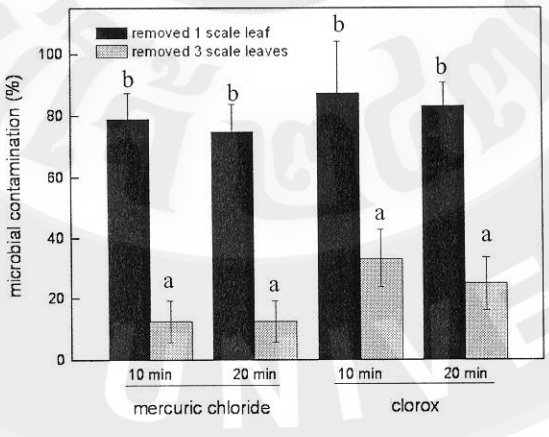
บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลการวิจัย

1. ผลการทดลองการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ

1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อ

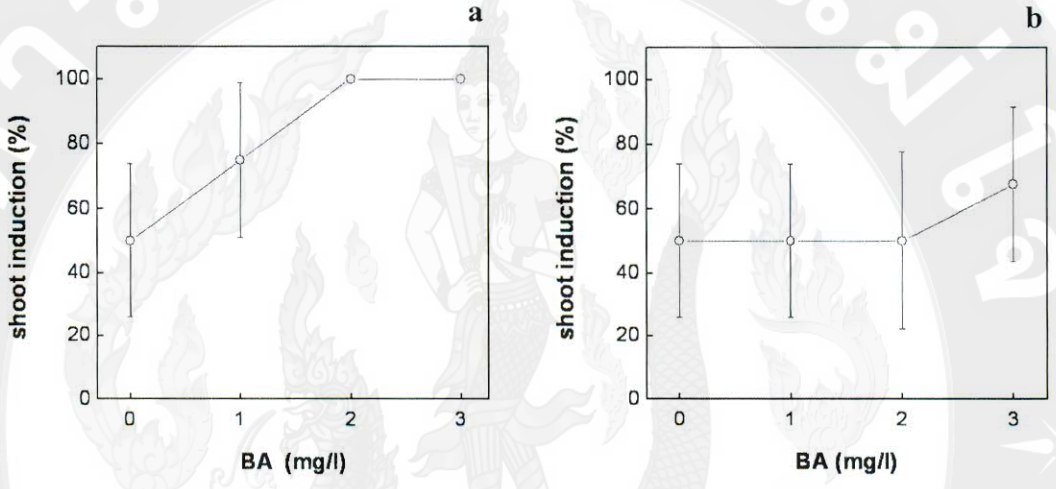
จากการนำชิ้นส่วนฐานของหัวหอมหัวใหญ่มาฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกชนิดต่าง ๆ ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ ในภาพ 3 พบว่า การลอกกาบใบออก 1 ชั้น เมื่อฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์และคลอร็อกซ์มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์สูงถึง 75-79 และ 83–88% ตามลำดับซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการลอกกาบใบออก 3 ชั้น เมื่อฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์และคลอร็อกซ์มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ คือ 13 และ 25-33 %ตามลำดับซึ่งลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการลอกกาบใบออก 1 ชั้น ประมาณ 2.6-6.3 เท่า เมื่อพิจารณาเฉพาะการลอกกาบใบออก 3 ชั้น การฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์เพียง 13% ซึ่งต่ำกว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อกซ์ที่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ 25-33%ประมาณ 2-2.7 เท่าส่วนระยะเวลาการฟอกฆ่าเชื้อนาน 10 และ 20 นาที ชิ้นส่วนพืชมีการปนเปื้อนไม่แตกต่างกันทางสถิติ



ภาพ 3 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนฐานของหัวหอมหัวใหญ่ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1% และคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 25% นาน 10 และ 20 นาทีหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา2สัปดาห์

1.2 ผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการชักนำให้เกิดต้น

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนฐานของหัวหอมหัวใหญ่บนอาหารที่เติมไซโตไคนิน BA และออกซิน IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่ได้รับ BA เพียงอย่างเดียวมีการเกิดยอด 50-100% โดย BA ความเข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 4a) ซึ่งมากกว่าชิ้นส่วนที่ได้รับ BA ร่วมกับ IAA ที่มีการเกิดยอดเพียง 50-67% (ภาพ 4b) ต้นที่ชักนำได้ในแต่ละกรรมวิธีมีการเจริญออกมาตรงบริเวณซอกของกาบใบ จำนวนไม่เกินหนึ่งต้นต่อชิ้นส่วน (ภาพ5)

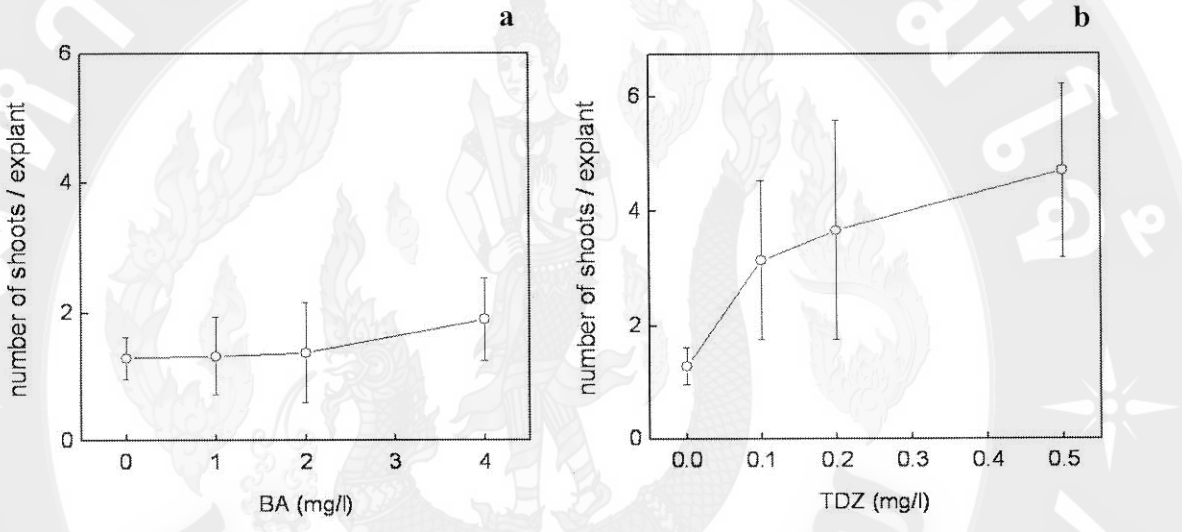


ภาพ 4 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของชิ้นส่วนฐานของหัวหอมหัวใหญ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆเพียงอย่างเดียว (a) หรือร่วมกับการเติม IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (b) หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

ภาพ 5 ลักษณะต้นที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนฐานของหัวหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10มิลลิเมตร)

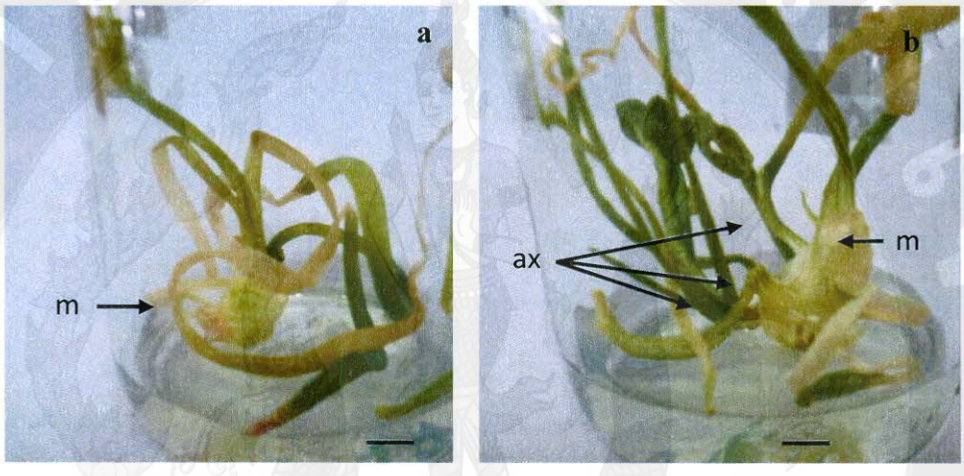
1.3 ผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณต้น

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารที่เติมไซโตไคนิน BA และ TDZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ ในภาพ 6a พบว่า BA ความเข้มข้นที่สูงขึ้นเพิ่มปริมาณต้นได้มากขึ้น โดย BA ระดับความเข้มข้นที่สูงที่สุดที่ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพิ่มปริมาณต้นได้สูงที่สุดคือ 1.9 ต้นต่อชิ้นส่วน และในภาพ 6b พบว่า TDZ ความเข้มข้นที่สูงขึ้นเพิ่มปริมาณต้นได้มากขึ้นเช่นเดียวกัน โดย TDZ ระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพิ่มปริมาณต้นได้สูงที่สุดคือ 4.7 ต้นต่อชิ้นส่วน



ภาพ 6 จำนวนต้นที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA (a) และ TDZ (b) ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

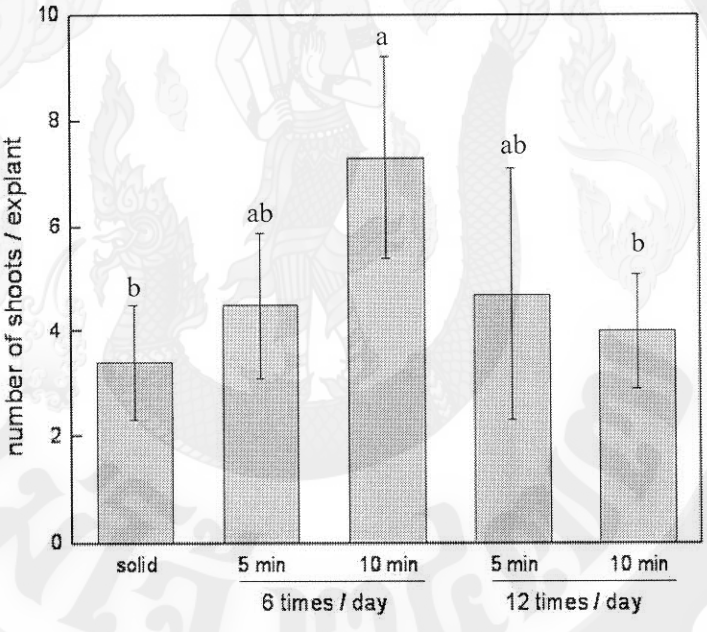
ต้นที่เกิดขึ้นจากการเติมไซโตไคนินทั้งสองชนิดมีลักษณะใกล้เคียงกัน โดยมีลักษณะแตกเป็นกอ แบ่งออกเป็น ต้นหลัก คือ ต้นที่เกิดขึ้นก่อนตรงบริเวณแกนกลางของชิ้นส่วนลำต้น มีเพียงต้นเดียว ขนาดใหญ่ ความสูงเฉลี่ย 230 มิลลิเมตร และต้นย่อย คือ ต้นที่เกิดขึ้นตามมาภายหลังตรงบริเวณซอกของกาบใบของชิ้นส่วนลำต้น มีจำนวนหลายต้น ขนาดเล็ก ความสูงเฉลี่ย 35 มิลลิเมตร โดยพบว่าชิ้นส่วนได้รับ BA เกิดต้นหลักเป็นส่วนใหญ่ และเกิดต้นย่อยเป็นบางชิ้นส่วนและพบการฉ่ำน้ำสูงถึง 40%(ภาพ 7a) ในขณะที่ชิ้นส่วนที่ได้รับ TDZ มีการเกิดทั้งต้นหลักและต้นย่อย และไม่พบการฉ่ำน้ำ(ภาพ7b)



ภาพ 7 ลักษณะต้นหลัก (main shoot; m) และต้นย่อย (axillary shoot; ax)หอมหัวใหญ่ที่เพิ่มปริมาณได้บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (a) และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (b) หลังเพาะเลี้ยง4 สัปดาห์ (bar= 10 มิลลิเมตร)

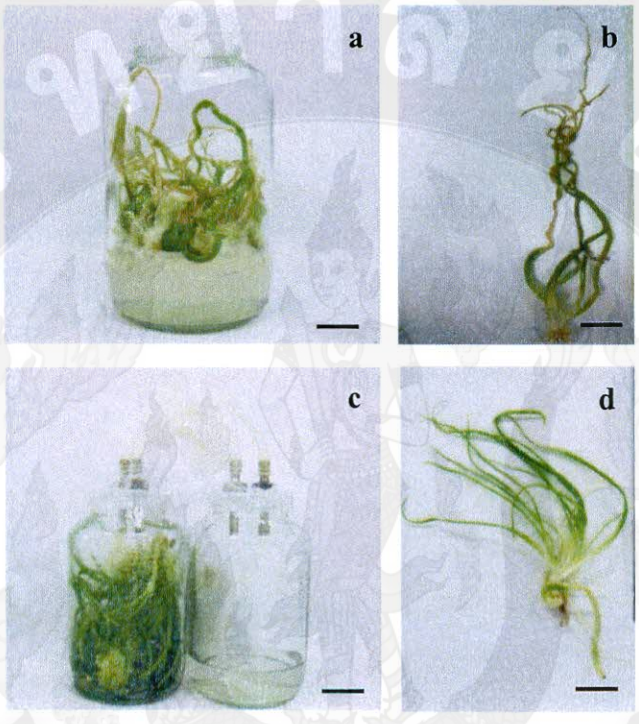
1.4 ผลของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ต่อการเพิ่มปริมาณต้น

ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่ด้วยระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาการให้อาหารเหลวแตกต่างกัน เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็ง โดยใช้อาหารสูตร ที่เติมTDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรหลังเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ จากภาพ8 พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็งเพิ่มปริมาณต้นได้ 3.4 ต้นต่อชิ้นส่วน ในขณะที่การเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เพิ่มปริมาณต้นได้มากขึ้น โดยการให้อาหารเหลว 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที เพิ่มปริมาณต้นได้สูงที่สุดถึง 7.3 ต้นต่อชิ้นส่วน ส่วนการให้อาหารเหลว 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที และ 12 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 และ 10 นาที เพิ่มปริมาณต้นได้น้อยกว่า คือ 4.0-4.7% ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับระบบอาหารแข็ง



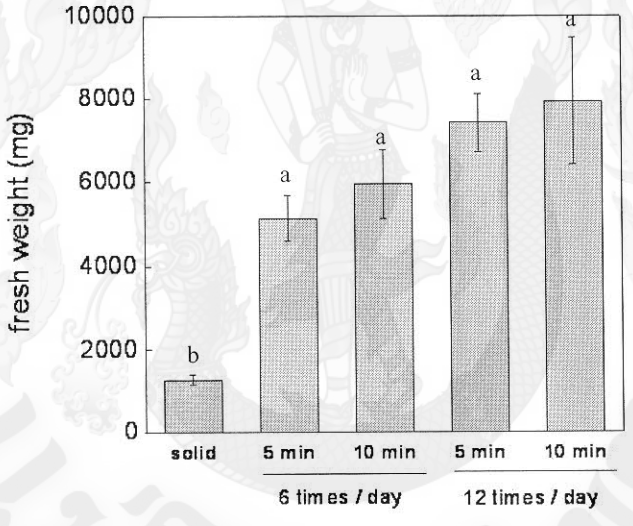
ภาพ 8 จำนวนต้นที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่ด้วยระบบอาหารแข็งและระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาการให้อาหารเหลวต่าง ๆ ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

ต้นที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงทั้งสองระบบมีลักษณะใกล้เคียงกัน แต่ต้นที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็งมีลักษณะปลายใบแห้ง (ภาพ9a และ 9b) ส่วนต้นที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เกิดการฉ่ำเล็กน้อยประมาณ 10% (ภาพ9c และ 9d)



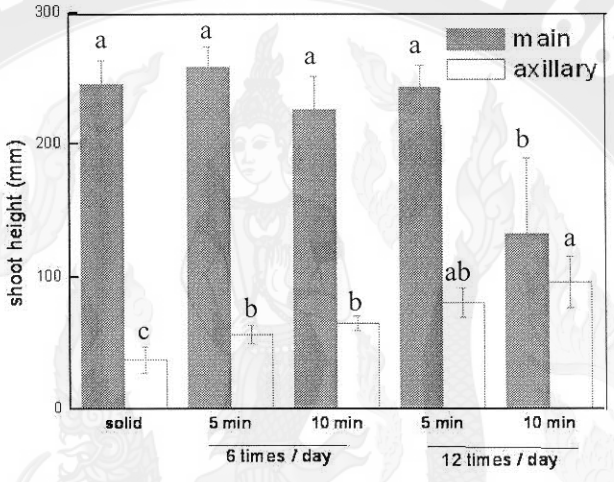
ภาพ 9 ลักษณะต้นที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่ด้วยระบบอาหารแข็ง (a และ b) และระบบ TIB ให้อาหารเหลว 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที (c และ d) ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10มิลลิเมตร)

ในด้านน้ำหนักสดรวมของต้นต่อกอ (ต้นต่อชิ้นส่วน) จากภาพ 10 พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็งมีน้ำหนักสดต่อกอน้อยที่สุดเพียง1,227มิลลิกรัม ในขณะที่การเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เพิ่มน้ำหนักสดต่อกอขึ้นอย่างชัดเจน โดยการให้อาหารเหลว12 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที มีน้ำหนักสดต่อกอมากที่สุด 7,937มิลลิกรัม รองลงมา คือ การให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที,6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที และ 6 ครั้งต่อวันครั้งละ 5 นาที ตามลำดับ มีน้ำหนักสดต่อกอคือ 7,416, 5,943และ 5,120มิลลิกรัมตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบแล้วการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB สามารถเพิ่มน้ำหนักสดต่อก่อได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็งถึง4.2-6.5 เท่า



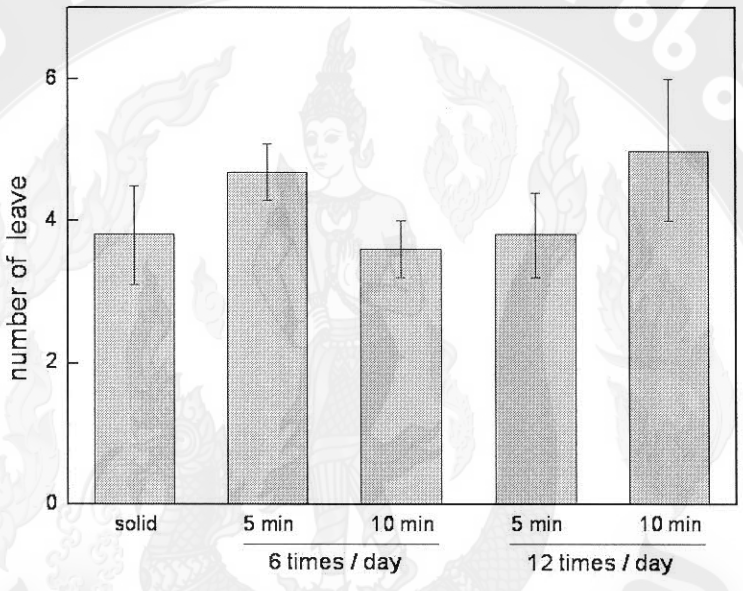
ภาพ 10 น้ำหนักสดรวมต่อกอของต้นที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นด้วยระบบอาหารแข็งและระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาการให้อาหารเหลวต่าง ๆ ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

ในด้านความสูงต้น จากภาพ 11 พบว่า ต้นหลักมีความสูงมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันครั้งละ 5 นาที คือ268 มิลลิเมตร และน้อยที่สุดเมื่อให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที คือ 203มิลลิเมตร ส่วนต้นย่อยมีความสูงมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที คือ 97 มิลลิเมตร และน้อยที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง 38 มิลลิเมตร



ภาพ 11 ความสูงต้นหลักและต้นย่อยที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่ด้วยระบบอาหารแข็งและระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาการให้อาหารเหลวต่าง ๆ ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

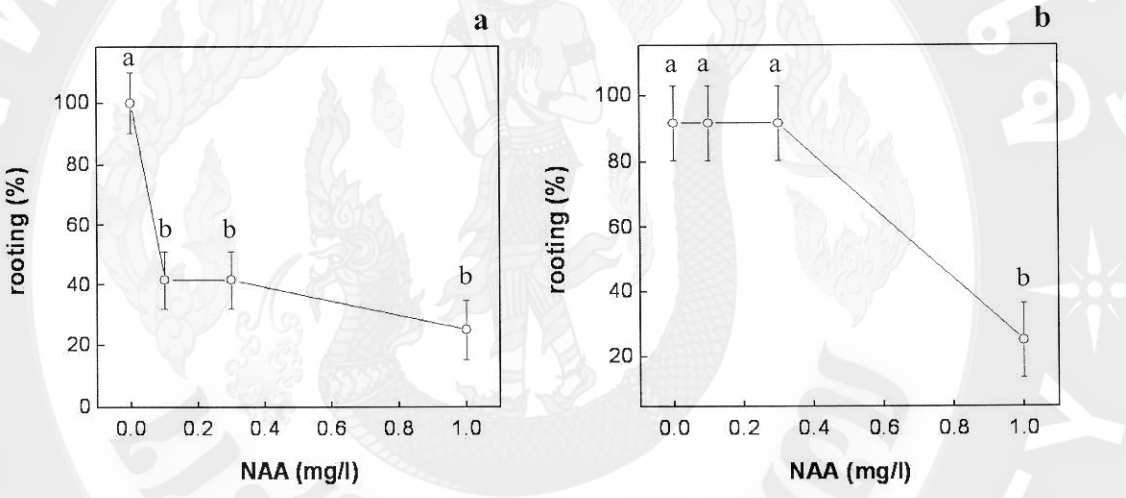
ในด้านจำนวนใบ จากภาพ 12พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที และให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที มีจำนวนใบต่อต้นสูงใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 4.8-5 ใบต่อต้น ส่วนการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็ง การเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที และ 12 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาทีมีจำนวนใบน้อยลงอยู่ระหว่าง 3.6-3.8 ใบต่อต้น



ภาพ 12 จำนวนใบต่อต้นที่เพิ่มปริมาณได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่ด้วยระบบอาหารแข็งและระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาให้อาหารเหลวต่าง ๆ ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง4 สัปดาห์

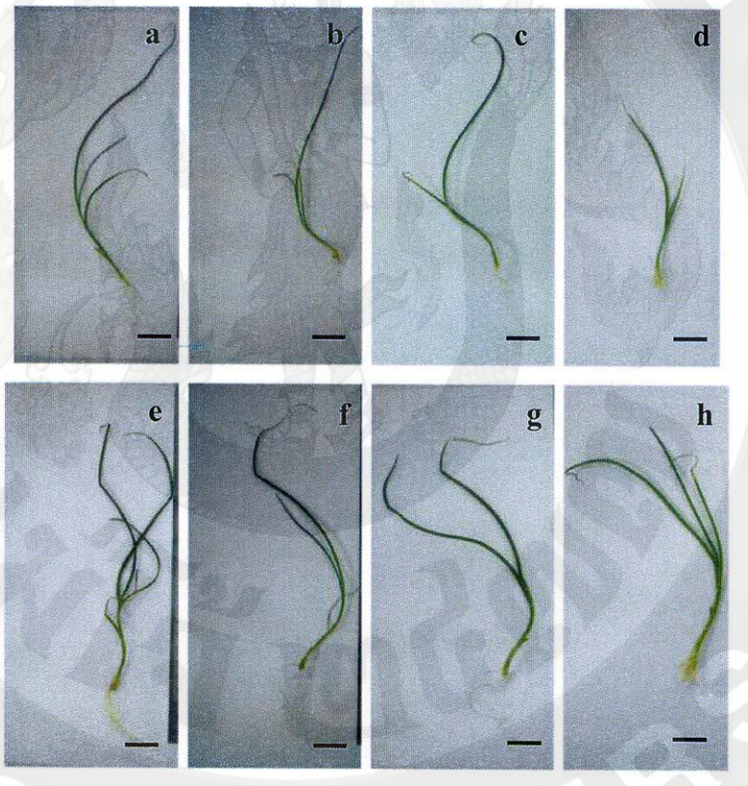
1.5 ผลของผลของออกซินและขนาดลำต้นต่อการชักนำให้ออกราก

จากการนำชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่ขนาดต่าง ๆ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมออกซิน NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ พบว่า ในภาพ 13a ต้นที่มีขนาดความกว้างส่วนฐาน 1-3 มิลลิเมตร เกิดรากได้มากที่สุดคือ 100% เมื่อไม่เติม NAA และเกิดรากได้น้อยลงหากเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น โดยเกิดรากได้น้อยที่สุดเพียง 8.3% ที่ระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ต้นที่มีขนาดความกว้างส่วนฐาน 3-5 มิลลิเมตร เกิดรากได้มากที่สุดคือ 92% เมื่อไม่มีการเติม NAA หรือเติม NAA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนการเติม NAA ระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่1 มิลลิกรัมต่อลิตรชักนำให้เกิดรากได้น้อยลงเพียง 25% (ภาพ 13b)

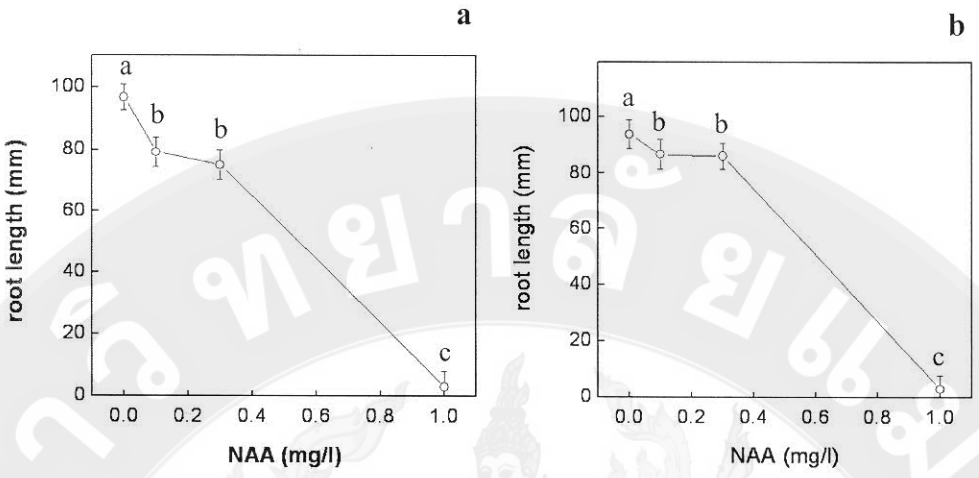


ภาพ 13 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากของต้นหอมหัวใหญ่ขนาดความกว้างส่วนฐาน 1-3 และ 3-5 มิลลิเมตร (a และ b ตามลำดับ)ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

การเกิดรากที่ชักนำได้เกิดขึ้นตรงบริเวณโคนต้น รากมีสีขาว มีจำนวนและความยาวแตกต่างกัน (ภาพ 14) จากภาพ 15a และ 15b พบว่า ต้นทั้งสองขนาดมีความยาวรากไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อได้รับ NAA ระดับความเข้มข้นเดียวกัน โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม NAA มีความยาวรากมากที่สุดอยู่ระหว่าง 94-97 มิลลิเมตร ส่วนการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวรากลดลงอยู่ระหว่าง 75-87 มิลลิเมตร และความยาวรากลดลงมากที่สุดเหลือเพียง 3 มิลลิเมตร เมื่อได้รับ NAA ระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพ 14dและ 14h)

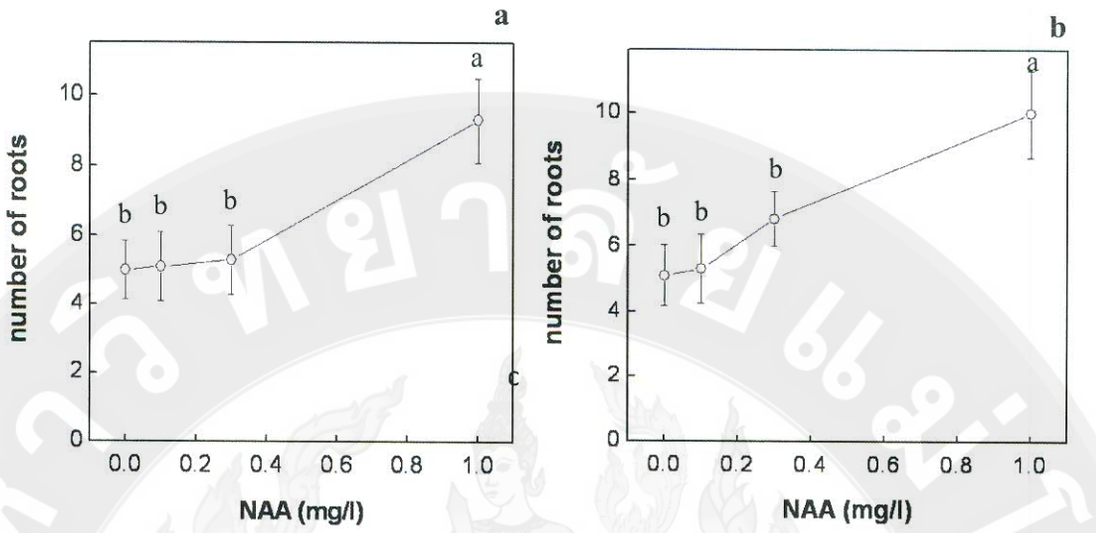


ภาพ 14 ลักษณะต้นหอมหัวใหญ่ขนาดความกว้างส่วนฐาน 1-3 และ 3-5 มิลลิเมตร(บนและล่างตามลำดับ)ที่ออกรากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 (a และ e), 0.1 (b และ f), 0.3 (c และ g) และ 1 (d และ h) มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10 มิลลิเมตร)



ภาพ 15 ความยาวรากของต้นหอมหัวใหญ่ขนาดความกว้างส่วนฐาน1-3 และ 3-5 มิลลิเมตร(a และ b ตามลำดับ)ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

จากภาพ 16aและ 16b พบว่า จำนวนรากเพิ่มมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ NAA ที่สูงขึ้น โดยต้นที่มีขนาดความกว้างส่วนฐาน 3-5 มิลลิเมตร มีจำนวนรากมากกว่าต้นที่มีขนาดความกว้างส่วนฐาน 1-3 มิลลิเมตร เมื่อได้รับ NAA ระดับความเข้มข้นเดียวกัน โดยการเติม NAA ระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากที่สุด คือ 9.3 และ 10 รากต่อต้น ในต้นที่มีขนาดความกว้างส่วนฐาน 1-3 และ 3-5 มิลลิเมตร ตามลำดับในขณะที่ต้นที่ไม่ได้รับ NAA มีจำนวนรากน้อยที่สุด คือ 5 และ 5.1 รากต่อต้น ในต้นที่มีขนาดความกว้างส่วนฐาน 1-3 และ 3-5 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับต้นที่ได้รับ NAA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพ 16 จำนวนรากของต้นหอมหัวใหญ่ขนาดความกว้างส่วนฐาน 1-3 และ 3-5 มิลลิเมตร (a และ b ตามลำดับ) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

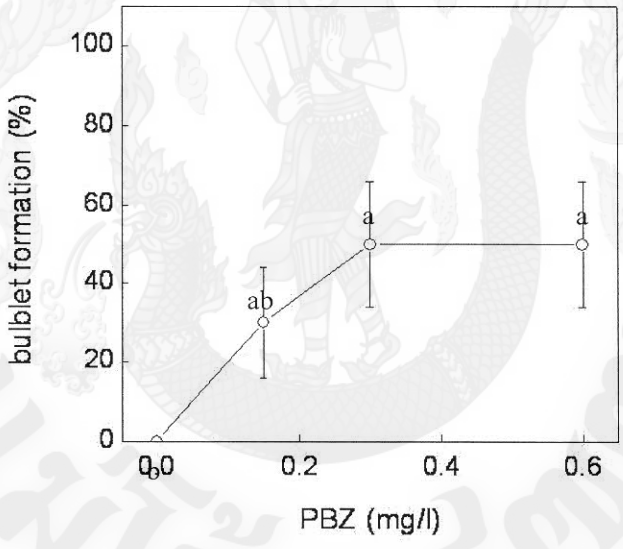
เมื่อนำต้นหอมหัวใหญ่ที่ออกรากในกรรมวิธีต่าง ๆ ไปย้ายปลูกและอนุบาลในโรงเรือน พบว่า ต้นสามารถตั้งตัวได้ดี แข็งแรง มีการรอดชีวิตรวมทั้งหมดสูงประมาณ 90% หลังย้ายปลูก 1 สัปดาห์ เริ่มมีใบใหม่เกิดขึ้นหลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์ (ภาพ17)และมีการสร้างหัวหลังจากย้ายปลูก 6 สัปดาห์ มีหัวขนาดเล็กขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ10-20 มิลลิเมตร

ภาพ 17 ลักษณะต้นหอมหัวใหญ่ที่ได้จากการชักนำให้ออกรากในสภาพปลอดเชื้อหลังย้ายปลูกในโรงเรือน 4 สัปดาห์

2. ผลการทดลองการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหัวขนาดเล็กของหอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ

2.1 ผลของสารชะลอการเจริญเติบโตต่อการสร้างหัว

ในการนำชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมสารชะลอการเจริญเติบโต PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ จากภาพ18 พบว่า มีการสร้างหัวขนาดเล็กเพิ่มมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ PBZ ที่สูงขึ้น โดย PBZ ความเข้มข้น 0.3 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการสร้างหัวมากที่สุดคือ 50% รองลงมาคือ PBZ ความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการสร้างหัว 25%ส่วนอาหารที่ไม่มีการเติม PBZ ไม่มีการสร้างหัว

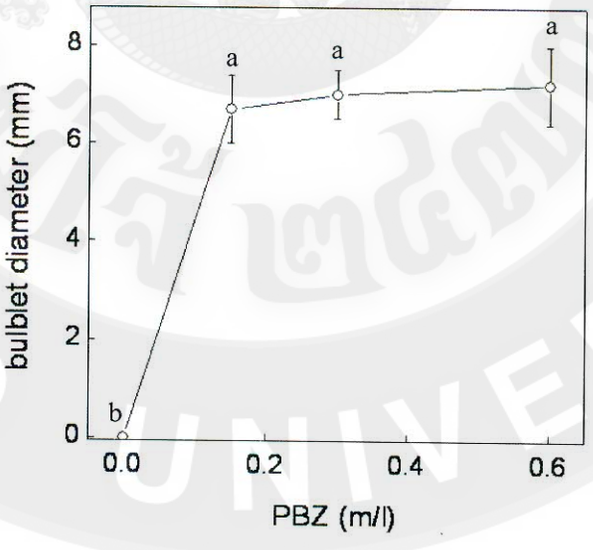


ภาพ 18 เปอร์เซ็นต์การสร้างหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

การสร้างหัวของต้นที่ได้รับ PBZ เริ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไปโดยโคนของลำต้นซึ่งมีสีขาวมีการบวมพองออกและเกิดการคอดเว้าตรงรอยต่อระหว่างโคนต้นกับใบด้านบน ใบมีลักษณะยาว มีสีเขียวสด (ภาพ 19)

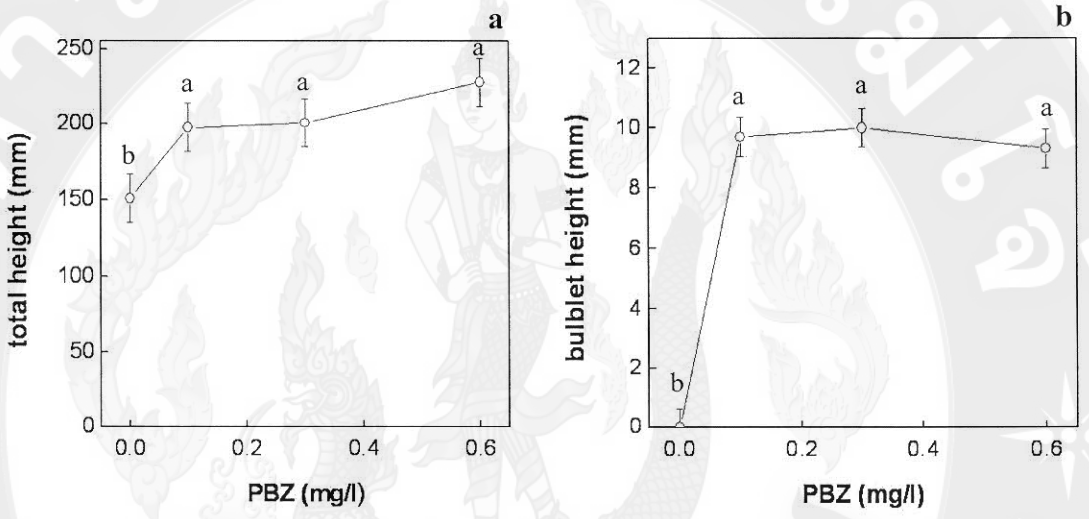
ภาพ 19 ลักษณะต้นและหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ 0,0.15, 0.3 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (a, b, c และ d ตามลำดับ) หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์(bar = 10 มิลลิเมตร)

ในด้านขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัว จากภาพ 20 พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม PBZ ความเข้มข้น 0.15-0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 6.7-7.2 มิลลิเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ



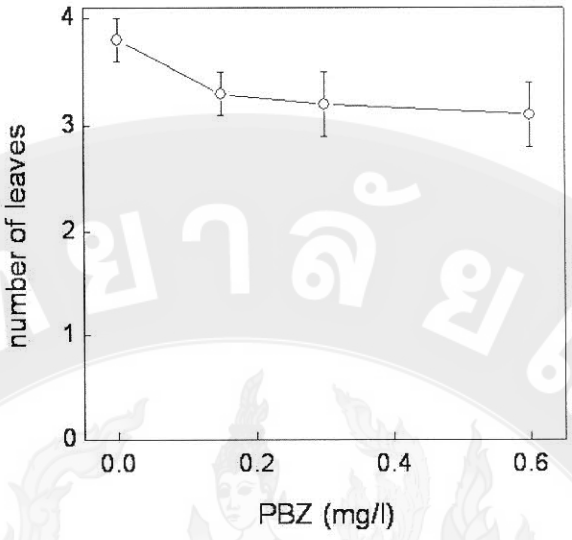
ภาพ 20 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ในด้านความสูงรวมทั้งต้นและความสูงหัว จากภาพ21a พบว่า ความสูงรวมทั้งต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเพิ่มมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ PBZ ที่สูงขึ้น โดยมีความสูงทั้งรวมต้นมากที่สุด 228 มิลลิเมตร เมื่อได้รับ PBZ ระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่ไม่มีการเติม PBZ ซึ่งไม่มีการสร้างหัว มีความสูงรวมทั้งต้นต่ำสุด คือ 151 มิลลิเมตร ในขณะที่ความสูงหัวมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 9.3-10 มิลลิเมตร เมื่อได้รับ PBZ ความเข้มข้น 0.15-0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพ21b)



ภาพ 21 ความสูงรวมทั้งต้น (a) และความสูงหัว (b) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

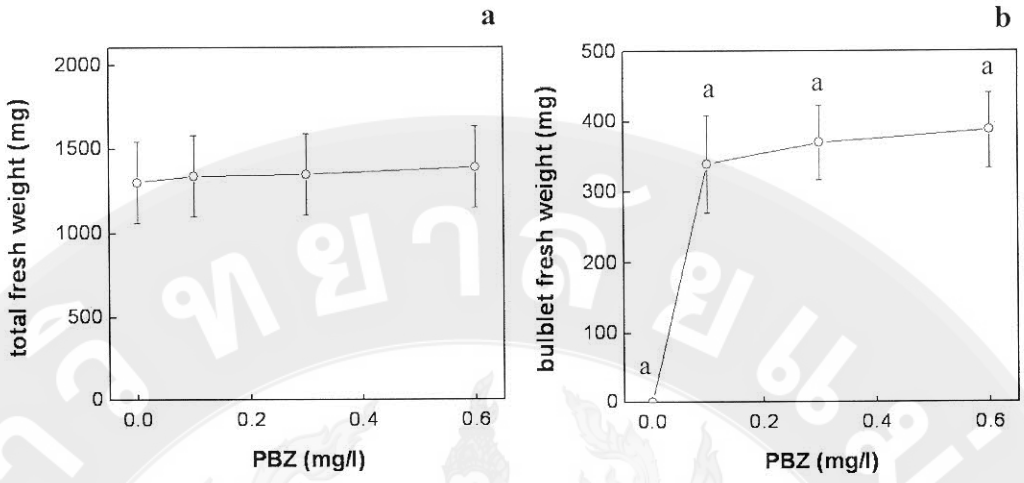
เมื่อเปรียบเทียบจำนวนใบ จากภาพ 22 พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม PBZ ซึ่งไม่มีการสร้างหัวนั้น มีจำนวนใบมากที่สุด คือ 3.8 ใบต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับต้นที่ได้รับ PBZ ความเข้มข้น 0.15-0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนใบลดลงใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 3.1-3.3 ใบต่อต้น



ภาพ 22 จำนวนใบต่อต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ในด้านน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและน้ำหนักสดหัว จากภาพ 23a พบว่า น้ำหนักสดเพิ่มมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ PBZ ที่สูงขึ้นเมื่อเติมPBZระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตรมีน้ำหนักสดรวมทั้งต้นมากที่สุด คือ 1,391มิลลิกรัม ซึ่งไม่แตกต่างจากการที่ไม่เติม PBZ ซึ่งไม่มีการสร้างหัวที่มีน้ำหนักสดรวมทั้งต้นน้อยที่สุด คือ 1,301 มิลลิกรัมน้ำหนักสดหัวเพิ่มมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ PBZ เช่นเดียวกัน โดยมีน้ำหนักสดหัวมากที่สุด คือ 388 มิลลิกรัม เมื่อเติม PBZ ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับการเติม PBZ ความเข้มข้น 0.15 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีน้ำหนักสดหัวลดลงคือ 340 และ 370 มิลลิกรัม ตามลำดับ (ภาพ23b)

เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้น จากตาราง 10 พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม PBZ ความเข้มข้น 0.15-0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดของหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 0.36-0.40



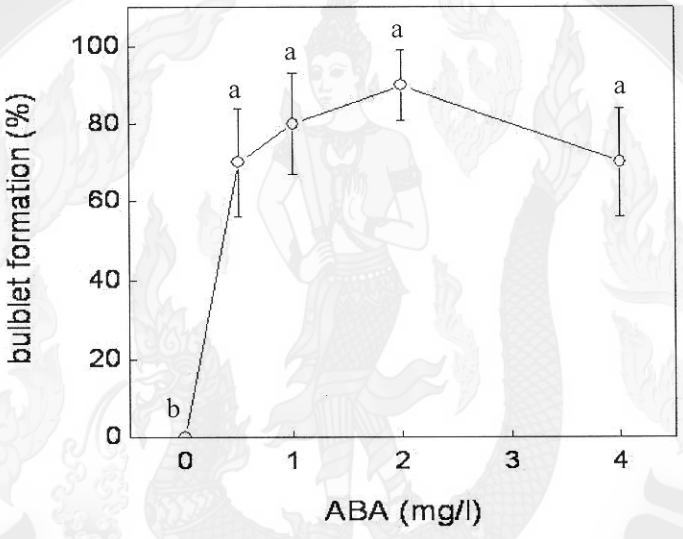
ภาพ 23 น้ำหนักสดรวมทั้งต้น(a)และน้ำหนักสดหัว(b)ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ตาราง 10 สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหัวหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

PBZ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้น
0	0b
0.15	0.38±0.01 a
0.3	0.40±0.03 a
0.6	0.36±0.02 a

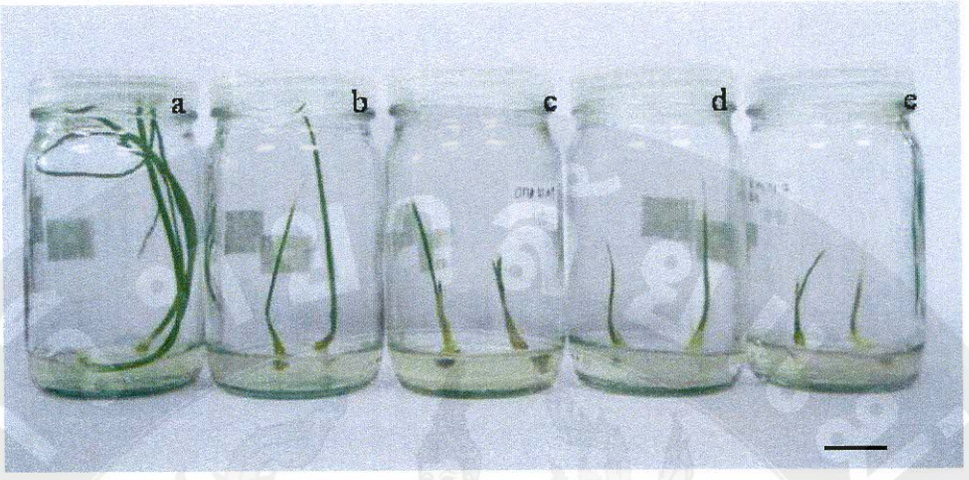
2.2 ผลของ ABA ต่อการสร้างหัว

ในการนำชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่มาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ จากภาพ24 พบว่า มีการสร้างหัวขนาดเล็กมากที่สุด คือ 90% เมื่อได้รับ ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมา คือ ABA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร กระตุ้นการสร้างหัวได้ 80% ส่วน ABA ความเข้มข้น 0.5 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการสร้างหัวน้อยลง คือ 70% ในขณะที่อาหารที่ไม่มีการเติม ABA ไม่มีการสร้างหัว



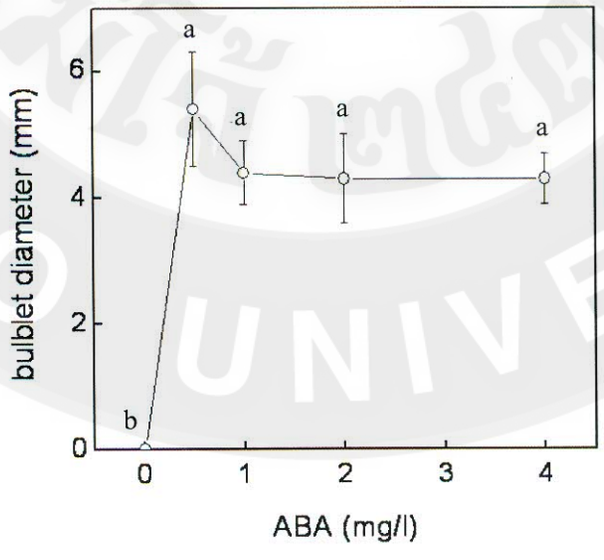
ภาพ 24 เปอร์เซ็นต์การสร้างหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

การสร้างหัวของต้นที่ได้รับ ABA เริ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไป โดยโคนของลำต้นซึ่งมีสีขาวมีการบวมพองออก และเกิดการคอดเว้าตรงรอยต่อระหว่างโคนต้นกับใบด้านบน ใบมีลักษณะค่อนข้างสั้น ความยาวใบลดลงตามระดับความเข้มข้นของ ABA ที่เพิ่มขึ้น (ภาพ 26) มีสีเขียวหม่น บางต้นผิวของหัวและใบนอกสุดแห้งมีสีน้ำตาล (ภาพ25)



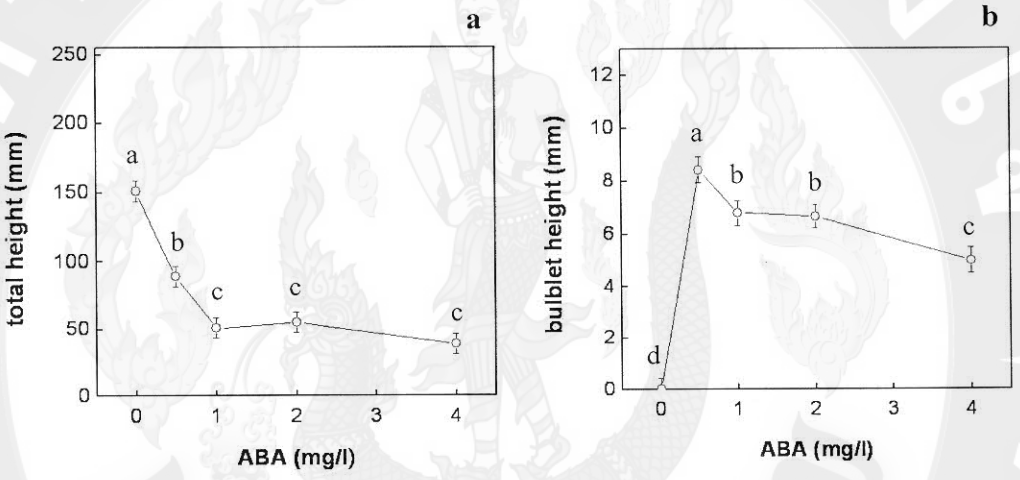
ภาพ 25 ลักษณะต้นและหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ 0,0.5, 1, 2 และ4 มิลลิกรัมต่อลิตร (a, b, c, d และ e ตามลำดับ) หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์(bar = 10 มิลลิเมตร)

ในด้านขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัว จากภาพ 26 พบว่า หัวสร้างขึ้นมาจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม ABA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวมากที่สุด คือ 5.4 มิลลิเมตร เมื่อได้รับ ABA ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการเติม ABA ความเข้มข้น 1-4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวเล็กลงใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 4.3-4.4 มิลลิเมตร



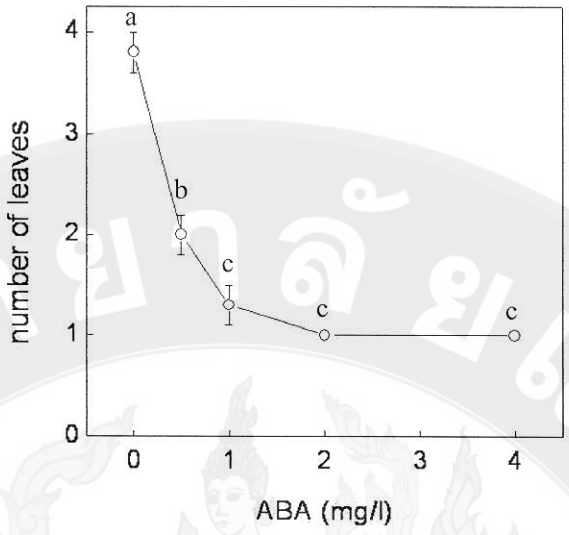
ภาพ 26 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ในด้านความสูงรวมทั้งต้นและความสูงหัว พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม ABAซึ่งไม่มีการสร้างหัวนั้น มีความสูงรวมทั้งต้นมากที่สุด คือ 151 มิลลิเมตร ส่วนการเติม ABA มีความสูงรวมทั้งต้นลดลงตามระดับความเข้มข้นของ ABA ที่สูงขึ้น โดยการเติม ABA ระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงทั้งรวมทั้งต้นลดลงมากที่สุด คือ 38.6 มิลลิเมตร (ภาพ 27a) ในขณะที่ความสูงหัวลดลงตามระดับความเข้มข้นของ ABA ที่สูงขึ้นเช่นเดียวกัน โดยความสูงหัวลดลงจาก 8.4 มิลลิเมตร เป็น 5 มิลลิเมตร เมื่อได้รับ ABA ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูงที่สุดที่ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพ 27b)



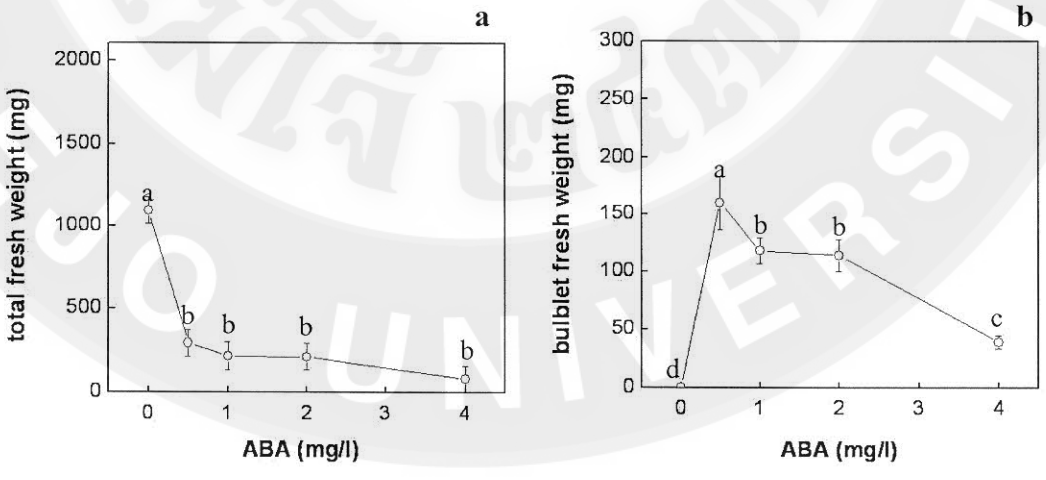
ภาพ 27 ความสูงรวมทั้งต้น (a) และความสูงหัว (b) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนใบ จากภาพ 28 พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม ABA ซึ่งไม่มีการสร้างหัวนั้น มีจำนวนใบมากที่สุด คือ 3.8 ใบต่อต้น ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับต้นที่ได้รับ ABA ที่มีจำนวนใบลดลงตามระดับความเข้มข้นของ ABA ที่สูงขึ้นโดยการเติม ABA ความเข้มข้น 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบลดลงมากที่สุดเหลือเพียง 1 ใบต่อต้น



ภาพ 28 จำนวนใบต่อต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ในด้านน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและน้ำหนักสดหัว พบว่า จากภาพ 29 การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม ABA ซึ่งไม่มีการสร้างหัวนั้น มีน้ำหนักสดรวมทั้งต้นมากที่สุด คือ 1,093 มิลลิกรัม ส่วนการเติม ABA มีน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและน้ำหนักสดหัวลดลงตามระดับความเข้มข้นของ ABA โดยการเพิ่มระดับความเข้มข้นของ ABA จาก 0.5 ไปเป็น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดรวมทั้งต้นลดลงจาก 292 เหลือ 79 มิลลิกรัม (ภาพ 29a) และน้ำหนักสดหัวลดลงจาก 160 เหลือ 39 มิลลิกรัม(ภาพ 29)



ภาพ 29 น้ำหนักสดรวมทั้งต้น(a)และน้ำหนักสดหัว(b)ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้น จากตาราง 11 พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นสูงที่สุด คือ 0.59 ส่วนการเติม ABA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดของหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นต่ำที่สุด คือ 0.47

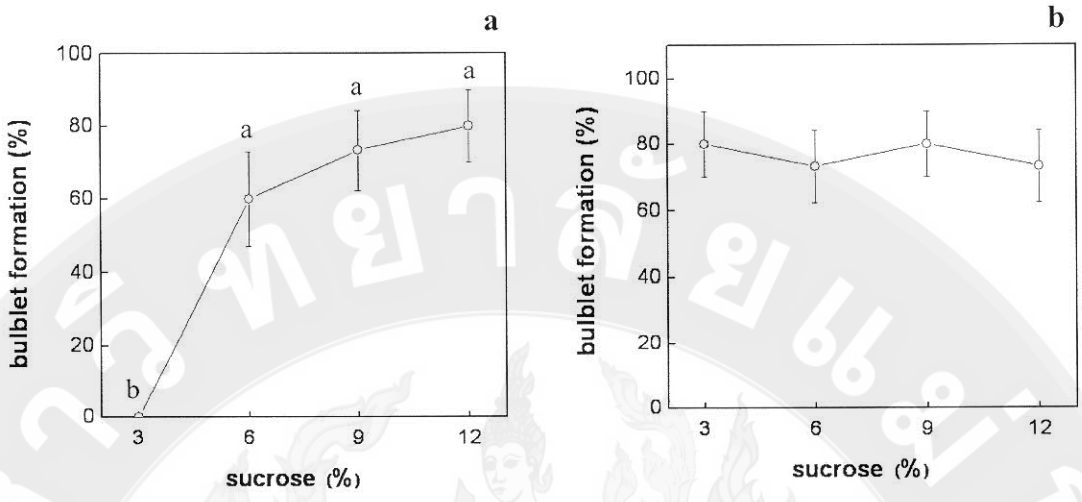
ตาราง 11 สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหัวหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ABA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้น
0	0 c
0.5	0.47 ± 0.03 b
1	0.55 ± 0.04ab
2	0.59 ± 0.1 a
4	0.52 ± 0.04ab

2.3 ผลของ ABA ร่วมกับน้ำตาลต่อการสร้างหัว

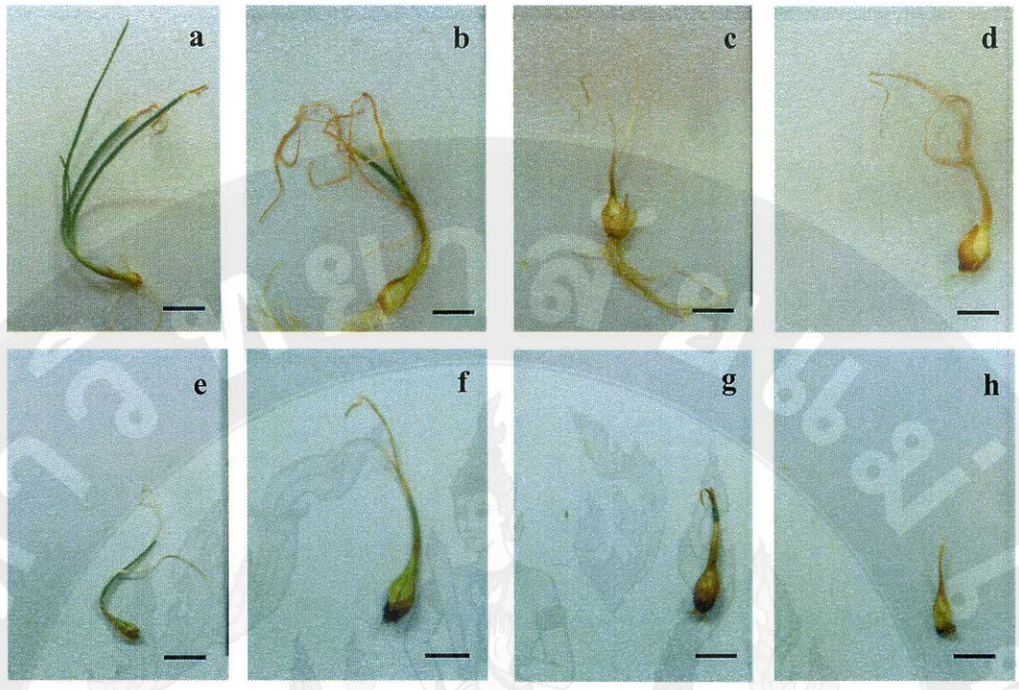
จากผลการทดลองที่ 2.2 ซึ่งพบว่า ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กระตุ้นการสร้างหัวได้มากที่สุด จึงใช้ ABA ระดับความเข้มข้นดังกล่าวในการศึกษาร่วมกับน้ำตาลซูโครส

ในการนำชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสแต่ไม่เติม ABAและมีการสร้างหัวมากที่สุด คือ 80% เมื่อเติมซูโครสระดับสูงความเข้มข้นสุดที่ 12% รองลงมาคือ ซูโครสความเข้มข้น 9 และ 6% มีการสร้างหัว 73 และ 60% ตามลำดับ (ภาพ30a) ไม่มีการสร้างหัวเมื่อเติมซูโครสความเข้มข้น 3% ส่วนการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ABA มีการสร้างหัวไม่แตกต่างกันทางสถิติอยู่ระหว่าง 73-80%(ภาพ30b)



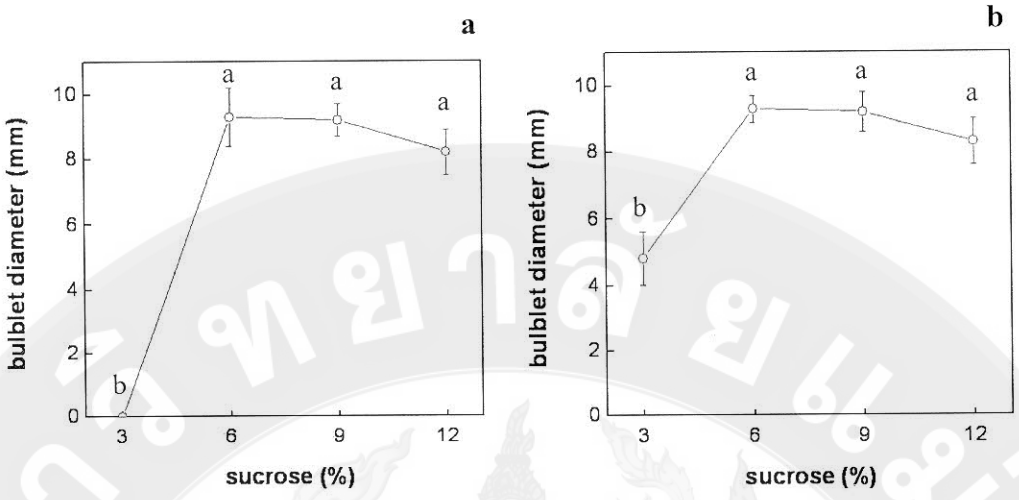
ภาพ 30 เปอร์เซ็นต์การสร้างหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม ABA(a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b)ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

การสร้างหัวของต้นที่ได้รับซูโครส 6-12% แต่ไม่ได้รับ ABA เริ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 เป็นต้นไปโดยโคนของลำต้นซึ่งมีสีขาวมีการบวมพองออก และเกิดการคอดเว้าตรงรอยต่อระหว่างโคนต้นกับใบด้านบนใบมีลักษณะยาว มีสีเขียวสด บางต้นปลายใบแห้งโดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้นของซูโครสสูง (9 และ 12%) ผิวของหัวและใบนอกสุดแห้งมีสีน้ำตาล (ภาพที่ 31b-31d) ส่วนต้นที่ได้รับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ABA เริ่มสร้างหัวตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไปโดยโคนของลำต้นซึ่งมีสีขาวมีการบวมพองออก และเกิดการคอดเว้าตรงรอยต่อระหว่างโคนต้นกับใบด้านบน ใบมีลักษณะค่อนข้างสั้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับซูโครสเพียงอย่างเดียว ใบมีสีเขียวหม่น ผิวของหัวและใบนอกสุดแห้งมีสีน้ำตาล (ภาพ31e-31h)



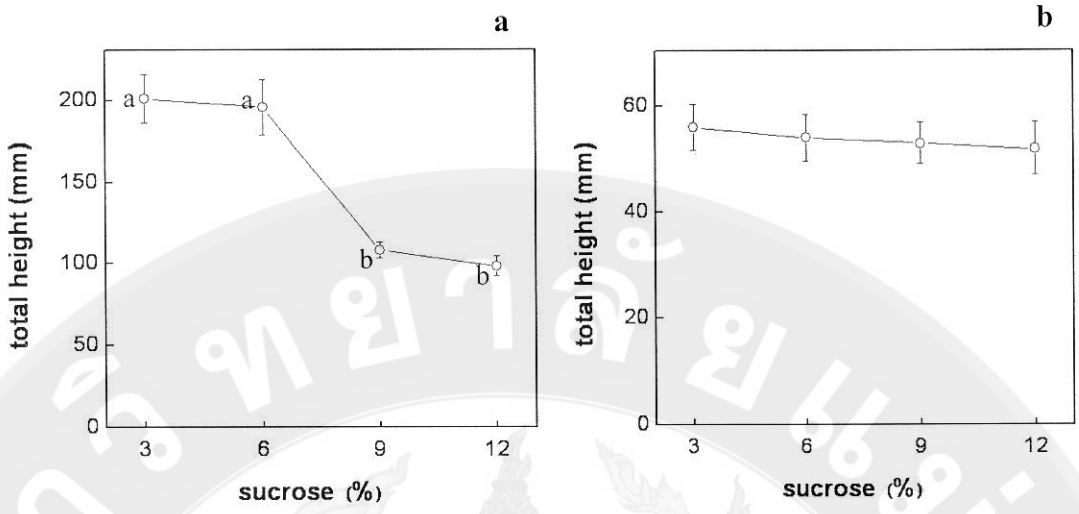
ภาพ 31 ลักษณะต้นและหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติมหรือเติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (บนและล่างตามลำดับ)ร่วมกับซูโครสความเข้มข้น 3 (a และ e), 6(b และ f), 9 (c และ g) และ 12 (d และ h) %หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์(bar = 10มิลลิเมตร)

ในด้านขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัว พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพียงอย่างเดียว หรือเติมร่วมกับ ABA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์ของหัวใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 8-10 มิลลิเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นการเติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ 3% ร่วมกับ ABA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวเล็กลง คือ 5 มิลลิเมตร (ภาพ 32aและ 32b)



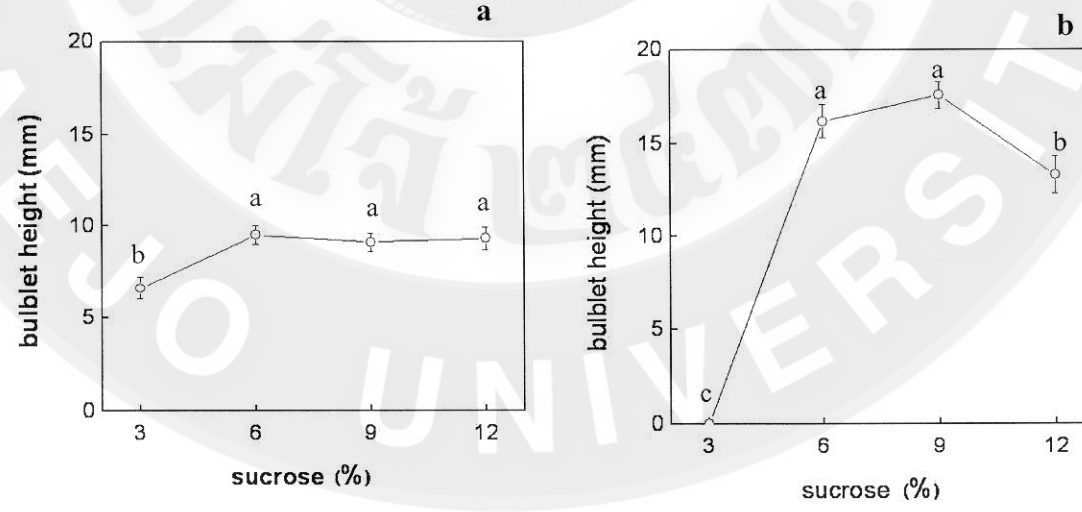
ภาพ 32 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติมABA(a) และที่เติมABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b)ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ในด้านความสูงรวมทั้งต้นพบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสแต่ไม่เติม ABA มีความสูงรวมทั้งต้นลดลงตามระดับความเข้มข้นของซูโครสที่เพิ่มขึ้น โดยซูโครสระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ 3% ซึ่งไม่มีการสร้างหัวนั้น มีความสูงรวมทั้งต้นมากที่สุด คือ 201 มิลลิเมตร ส่วนการเติมซูโครสระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่ 12% มีความสูงรวมทั้งต้นน้อยที่สุด คือ 98 มิลลิเมตร (ภาพ 33a) ในขณะที่การเติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ABA มีความสูงรวมทั้งต้นลดลงใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 52-56 มิลลิเมตร (ภาพ 33b)



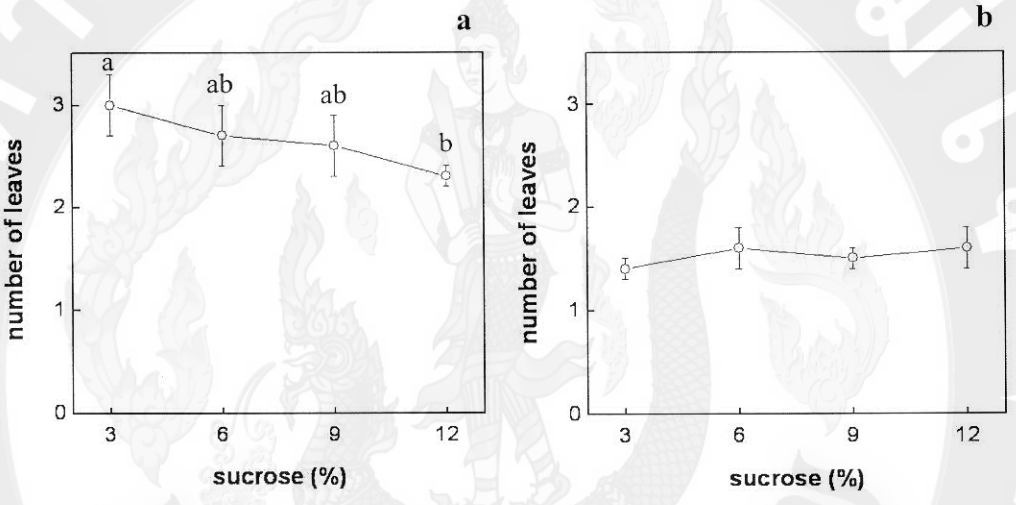
ภาพ 33 ความสูงรวมทั้งต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติมABA(a) และที่เติมABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b)ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

จากภาพ 34a การเติมซูโครสเพียงอย่างเดียวมีความสูงหัวมากที่สุดคือ 17.6 มิลลิเมตร เมื่อเติมซูโครสความเข้มข้น 9% รองลงมาคือ16 และ13 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเติมซูโครสตามความเข้มข้น 6และ 12% ตามลำดับ 13-18 มิลลิเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในภาพ 34b การเติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ABA ความสูงหัวมีค่าลดลงอยู่ระหว่าง 7-10 มิลลิเมตร



ภาพ 34 ความสูงหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม ABA(a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b) ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

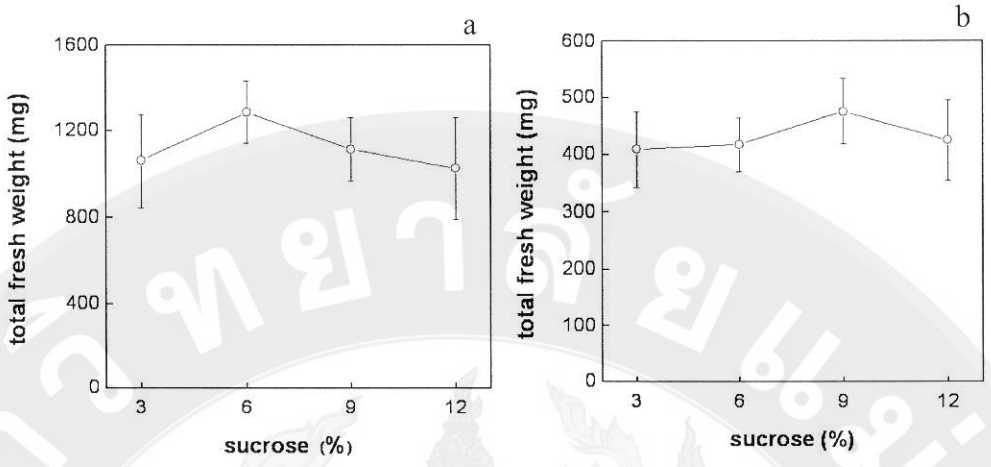
เมื่อเปรียบเทียบจำนวนใบ จากภาพ 35a พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสแต่ไม่เติม ABA มีจำนวนใบลดลงตามระดับความเข้มข้นของซูโครสที่สูงขึ้น โดยการเติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ 3% ซึ่งไม่มีการสร้างหัวนั้น มีจำนวนใบมากที่สุด คือ 3 ใบต่อต้น และการเติมซูโครสระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่ 12% มีจำนวนใบน้อยที่สุดคือ 2.3 ใบ ส่วนภาพ 35bการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ABA พบว่า มีจำนวนใบลดลงอยู่ระหว่าง 1.1-1.6 ใบต่อต้น ซึ่งแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับซูโครสเพียงอย่างเดียว



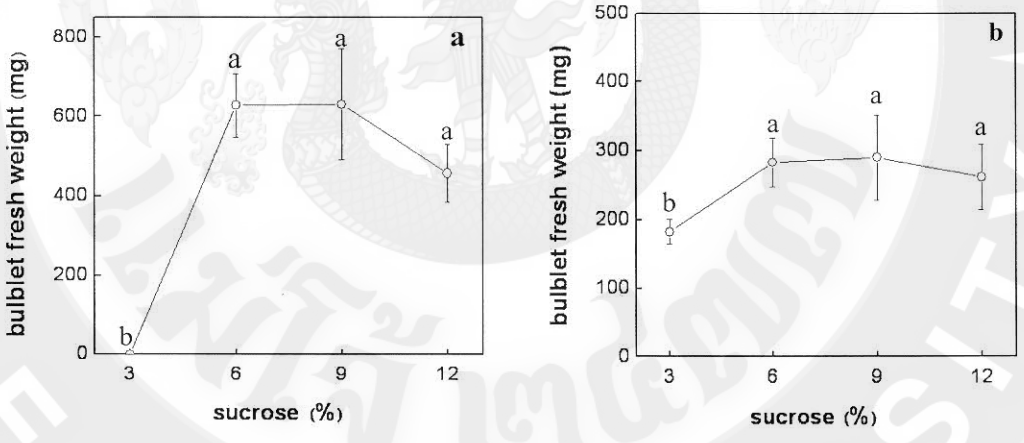
ภาพ 35 จำนวนใบต่อต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม ABA (a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b) ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ในด้านน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและน้ำหนักสดหัว จากภาพ 36aพบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แต่ไม่เติม ABA มีน้ำหนักสดรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 1,025-1,286 มิลลิกรัม ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเติมซูโครสความเข้มข้น 6% มีน้ำหนักสดรวมทั้งต้นมากที่สุด คือ 1,286 มิลลิกรัม ในขณะที่การเติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ABA มีน้ำหนักสดรวมทั้งต้นลดลงอยู่ระหว่าง 409-476 มิลลิกรัม (ภาพ 36b)

จากภาพ 37a พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสแต่ไม่เติม ABAมีน้ำหนักสดหัวมากที่สุด คือ 627 มิลลิกรัม เมื่อได้รับซูโครสความเข้มข้น 6 และ9% รองลงมาคือ 457 มิลลิกรัมเมื่อได้รับซูโครส 12% ส่วนการเติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ABA มีน้ำหนักสดหัวลดลงอยู่ระหว่าง 183-290 มิลลิกรัม (ภาพ 37b)



ภาพ 36 น้ำหนักสดรวมทั้งต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MSดัดแปลงที่ไม่เติม ABA (a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b)ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์



ภาพ 37 น้ำหนักสดหัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม ABA(a) และที่เติม ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (b) ร่วมกับซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้น จากตาราง 12 พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น 6-12% แต่ไม่เติม ABA มีสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดของหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 0.56-0.63 โดยการเติมซูโครสความเข้มข้น 9% มีสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดของหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นสูงที่สุด คือ 0.63 ในขณะที่การเติมซูโครสร่วมกับ ABA มีสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดของหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 0.53-0.65 โดยการเติมซูโครสความเข้มข้น 12% ร่วมกับ ABA มีสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดของหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นสูงที่สุด คือ 0.65 ทั้งนี้สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดของหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นของการเติมซูโครสเพียงอย่างเดียวหรือเติมร่วมกับ ABA ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นการเติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ 3% เพียงอย่างเดียว ไม่มีการสร้างหัว

ตาราง 12 สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหัวหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมซูโครสเพียงอย่างเดียวระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หรือเติมร่วมกับ ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรหลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ซูโครส (%)	การเติม ABA	สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้น
3	ไม่เติม	0b
6	ไม่เติม	0.59 ± 0.2a
9	ไม่เติม	0.63 ± 0.2a
12	ไม่เติม	0.55 ± 0.1a
3	เติม	0.53 ± 0.2a
6	เติม	0.63 ± 0.2a
9	เติม	0.59 ± 0.1a
12	เติม	0.65 ± 0.2a

จากการนำต้นหอมหัวใหญ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆซึ่งไม่เติม ABA ไปย้ายปลูกและเลี้ยงในโรงเรือน พบว่า ต้นทั้งได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีซูโครสความเข้มข้น 3% ซึ่งไม่มีการสร้างหัว และต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีซูโครส 6-12% ซึ่งมีการสร้างหัว สามารถตั้งตัวได้ดี แข็งแรง และมีการรอดชีวิตรวมทั้งหมดสูงประมาณ 90% และเริ่มมีใบใหม่เกิดขึ้นหลังย้ายปลูก 2 สัปดาห์ (ภาพ 38)

ภาพ 38 ลักษณะต้นหอมหัวใหญ่ที่สร้างหัวซึ่งได้จากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 2 สัปดาห์

เมื่อย้ายปลูกเป็นเวลา4สัปดาห์จากตาราง13พบว่า ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น6-12%มีเส้นผ่าศูนย์กลางหัวเพิ่มมากขึ้น โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากที่สุดมากที่สุด คือ9.55 มิลลิเมตร เมื่อเติมซูโครสความเข้มข้น 9% รองลงมา คือ ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น12และ 6%ตามลำดับ ซึ่งเส้นผ่าศูนย์กลางหัว 9.33 และ 9.19 มิลลิเมตรตามลำดับซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนต้นที่ได้จากการเติมซูโครสความเข้มข้น3มิลลิกรัมต่อลิตร มีการสร้างหัวหลังย้ายปลูก ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวน้อยที่สุด คือ 6.35 มิลลิเมตร

ตาราง 13 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวของหอมหัวใหญ่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์

ซูโครส (%)	เส้นผ่าศูนย์กลางหัว (มิลลิเมตร)
3	6.35 ± 0.55 b
6	9.19 ± 0.55 a
9	9.55 ± 0.55 a
12	9.33 ± 0.61 a

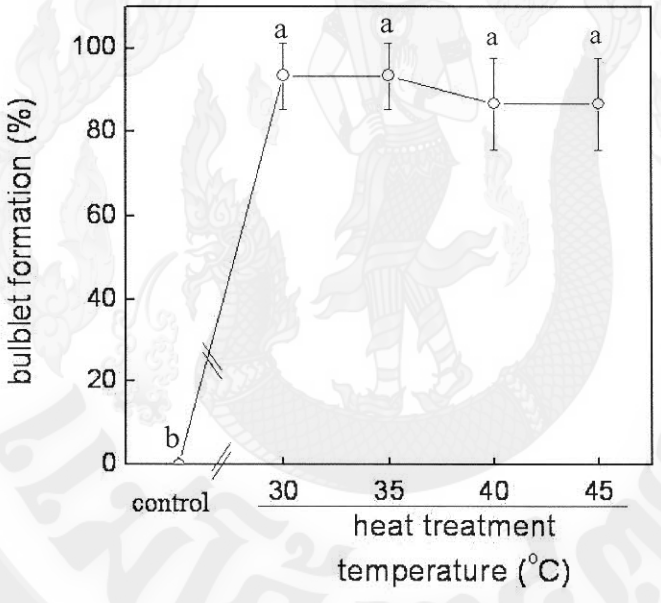
ต้นหอมหัวใหญ่มีการสร้างใบใหม่หลังย้ายปลูก จากตาราง 14 จำนวนใบใหม่ที่เกิดขึ้นหลังจาก 4สัปดาห์ พบว่า ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสความเข้มข้น 6-12% มีจำนวนใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเติมซูโครสความเข้มข้น9%มีจำนวนใบใหม่มากที่สุดคือ 5.72 ใบต่อต้น ส่วนการเติมน้ำตาล 3 %จำนวนใบใหม่น้อยที่สุด คือ 3.36 ใบต่อต้น

ตาราง 14 จำนวนใบใหม่ของต้นหัวหอมหัวใหญ่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมซูโครสระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์

ซูโครส (%)	จำนวนใบต่อต้น
3	3.36 ± 0.27 b
6	5.45 ± 0.27 a
9	5.72 ± 0.27 a
12	5.55 ± 0.30 a

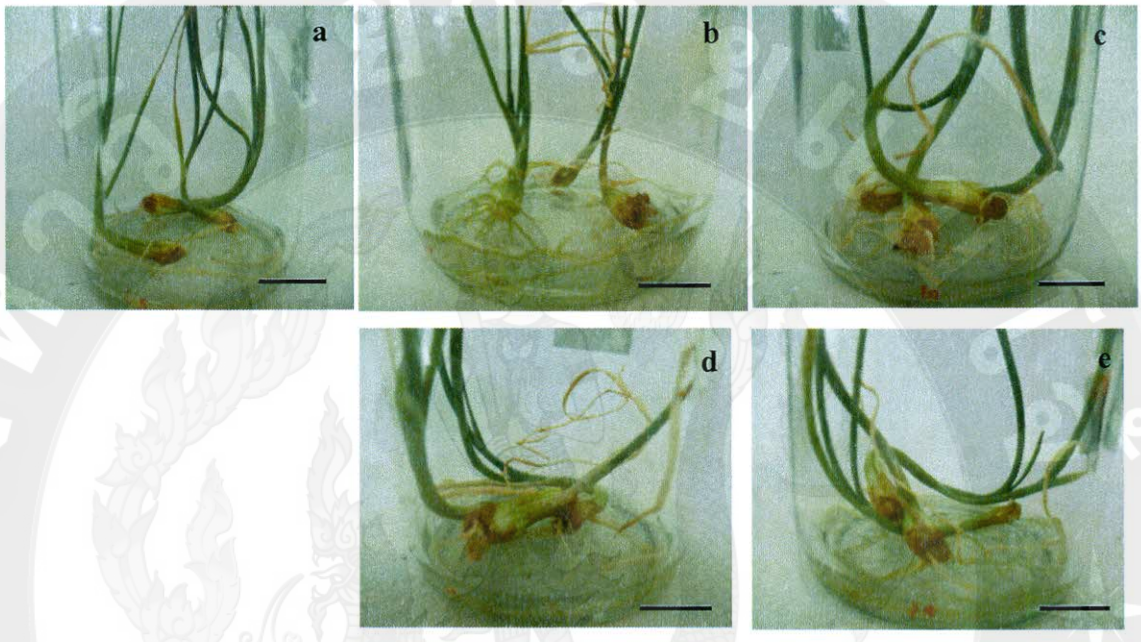
2.4 ผลของสภาวะเครียดจากความร้อนต่อการสร้างหัว

จากการทำให้ชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่ได้รับสภาวะเครียดระดับปานกลางซึ่งเกิดจากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิ30-45 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตพบว่า ชิ้นส่วนที่ได้รับความร้อนมีการรอดชีวิตทั้งหมด เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ จากภาพ 39 พบว่า การให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ มีการสร้างหัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการให้ความร้อนอุณหภูมิ 30และ 35 องศาเซลเซียสมีการสร้างหัวมากที่สุด คือ 93% รองลงมาคือ การให้ความร้อนอุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส มีการสร้างหัวที่ 87% ส่วนกลุ่มควบคุมซึ่งไม่มีการให้ความร้อนไม่พบการสร้างหัว



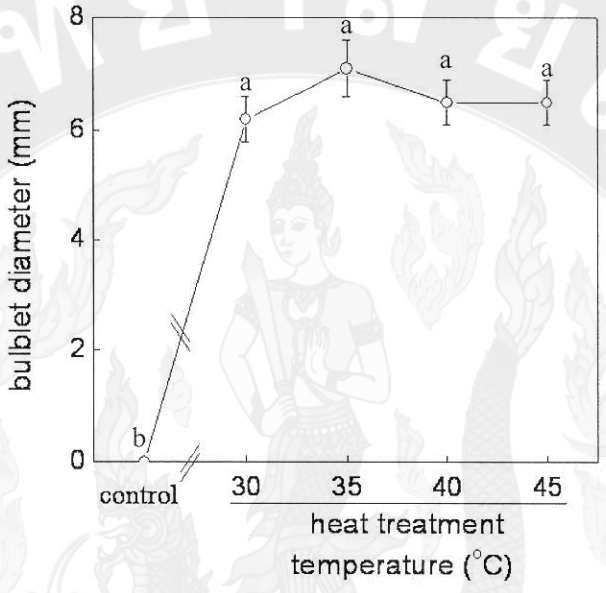
ภาพ 39 เปอร์เซ็นต์การสร้างหัวที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

การสร้างหัวของต้นที่มีการให้ความร้อนเริ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไป โดยโคนของลำต้นซึ่งมีสีขาวมีการบวมพองออก และเกิดการคอดเว้าตรงรอยต่อระหว่างโคนต้นกับใบด้านบน ใบมีลักษณะยาว มีสีเขียวสด บางต้นปลายใบแห้ง (ภาพ40)



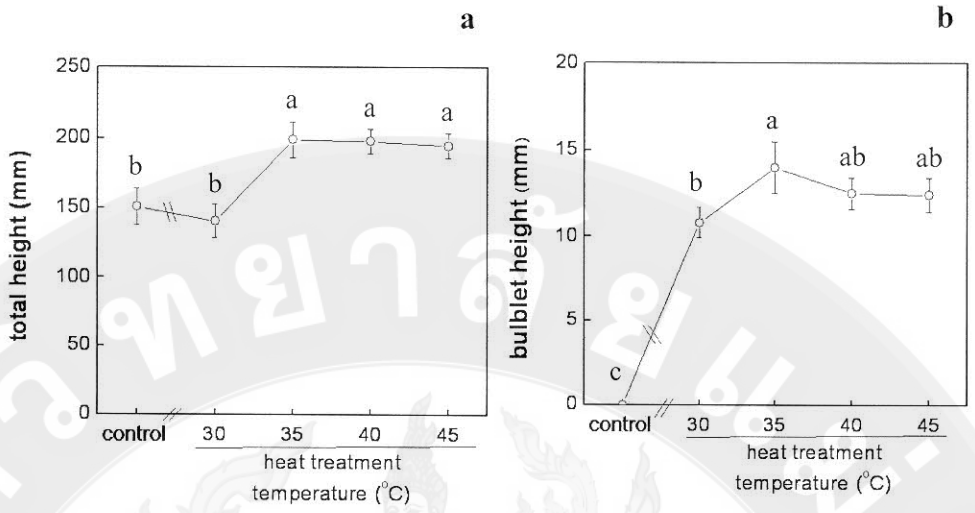
ภาพ 40 ลักษณะต้นและหัวที่ได้จากการไม่ให้ความร้อน (a) หรือให้ความร้อนระดับอุณหภูมิ30, 35, 40 และ45 องศาเซลเซียส (b, c, d และ e ตามลำดับ)นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตหลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์(bar = 10 มิลลิเมตร)

ในด้านขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวจากภาพ41พบว่า การให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 6.3-7 มิลลิเมตรซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการให้ความร้อนอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวมากที่สุด คือ 7 มิลลิเมตร



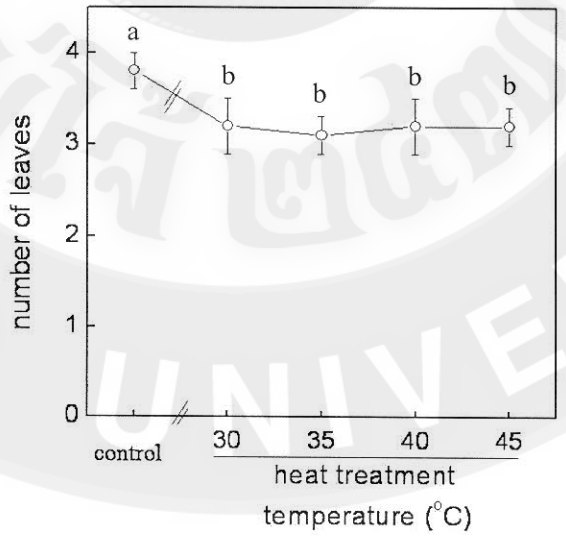
ภาพ 41 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ในด้านความสูงรวมทั้งต้นและความสูงหัว พบว่า การให้ความร้อนอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีความสูงรวมทั้งต้นมากที่สุด คือ199 มิลลิเมตร ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับการ ให้ความร้อนอุณหภูมิ40 และ 45 องศาเซลเซียส ที่มีความสูงรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 195-198 มิลลิเมตร ส่วนการให้ความร้อนอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และกลุ่มควบคุมมีความสูงรวมทั้งต้นลดลงอยู่ระหว่าง 141-151 มิลลิเมตร (ภาพ42a) ในขณะที่การให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ มีความสูงหัวของหัวไม่แตกต่างกันทางสถิติอยู่ระหว่าง 11-14 มิลลิเมตร (ภาพ42b)



ภาพ 42 ความสูงรวมทั้งต้น (a) และความสูงหัว (b) ที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

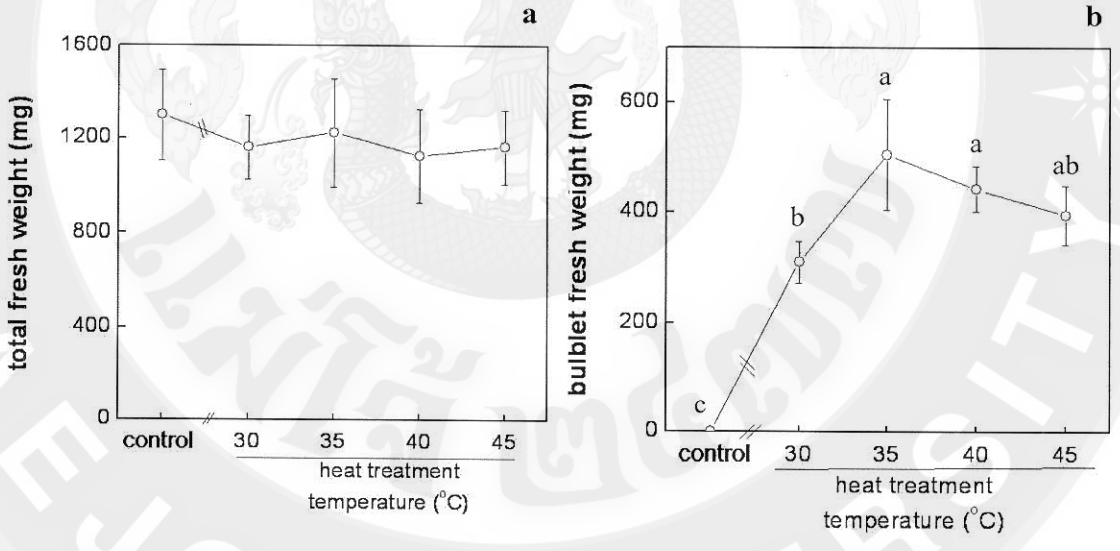
เมื่อเปรียบเทียบจำนวนใบ จากภาพ43 พบว่า กลุ่มควบคุมมีจำนวนใบมากที่สุด คือ 3.8 ใบต่อต้น ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ ที่มีจำนวนใบลดลงใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 3.1-3.2 ใบต่อต้น



ภาพ 43 จำนวนใบต่อต้นที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ในด้านน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและน้ำหนักสดหัว พบว่า กลุ่มควบคุมมีน้ำหนักสดรวมทั้งต้นสูงที่สุด คือ 1,301 มิลลิกรัม ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ ที่มีน้ำหนักสดรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 1,124-1,166 มิลลิกรัม (ภาพ44a)ในขณะที่การให้ความร้อนอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักสดหัวสูงที่สุด คือ 505 มิลลิกรัม ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับการให้ความร้อนอุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส ที่มีน้ำหนักสดหัวลดลง คือ 442 และ 395 มิลลิกรัม ตามลำดับ ส่วนการให้ความร้อนอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่มีน้ำหนักสดหัวน้อยที่สุด คือ 310 มิลลิกรัม (ภาพ44a)

เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้น จากตาราง 15 พบว่า การให้ความร้อนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดของหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นสูงที่สุด คือ 0.51รองลงมา คือ การให้ความร้อนอุณหภูมิ 35, 45 และ 30 องศาเซลเซียส มีสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดของหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นที่ 0.44, 0.37 และ 0.32 ตามลำดับ



ภาพ 44 น้ำหนักสดรวมทั้งต้น (a) และน้ำหนักสดหัว (b) ที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ตาราง 15 สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้นที่ได้จากการให้ความร้อนระดับอุณหภูมิต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นหอมหัวใหญ่บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

อุณหภูมิความร้อน (องศาเซลเซียส)	สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวม
กลุ่มควบคุม	0c
30	0.32 ± 0.1b
35	0.44 ab
40	0.51 ± 0.1a
45	0.37 ± 0.1ab

3. การสร้างระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในระดับอุตสาหกรรม โดยใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ในการศึกษาการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อระดับอุตสาหกรรม ในส่วนของงานวิจัยมีการแบ่งออกเป็น 2 การทดลองหลัก เพื่อที่จะสร้างรูปแบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ ในการทดลองที่ 1 ได้ศึกษาตั้งแต่ระยะการชักนำต้น ระยะเพิ่มปริมาณต้น และระยะยืดยาวและออกราก ส่วนการทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาการสร้างหัวขนาดเล็ก โดยเมื่อนำผลการทดลองที่ดีที่สุดหรือเหมาะสมที่สุดของแต่ละการทดลองมาสร้างรูปแบบการผลิต ได้ข้อสรุปของแต่แสดงดังภาพ 43 ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. การขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่

1.1 ระยะชักนำให้เกิดต้น

นำหอมหัวใหญ่มาทำการผ่าครึ่งตามขวาง จากนั้นลอกกาบใบด้านนอกออก 3ชั้น ผ่าครึ่งแนวตั้ง แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% นาน 1 นาที และเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% นาน 10 นาที แล้วแบ่งชิ้นส่วนให้ได้ 8 ชิ้นส่วนย่อยต่อหัว จากนั้นเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MSดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จะได้ต้นหอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ

1.2 ระยะการเพิ่มปริมาณต้นเริ่มจากการเพิ่มปริมาณในอาหารแข็ง ตามมาด้วยการเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวด้วยระบบ TIBเพื่อให้ได้ปริมาณต้นจำนวนมาก

1.2.1 ระบบอาหารแข็ง

นำต้นหอมหัวใหญ่ที่มีขนาดฐานลำต้นกว้าง 3-5 มิลลิเมตร อายุ 4 สัปดาห์ มาตัดใบออกให้เหลือความสูง 10 มิลลิเมตร แล้วผ่าครึ่งตามแนวตั้ง นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MSดัดแปลง ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะได้ต้นตามจำนวนที่ต้องการ

1.2.2 ระบบ TIB

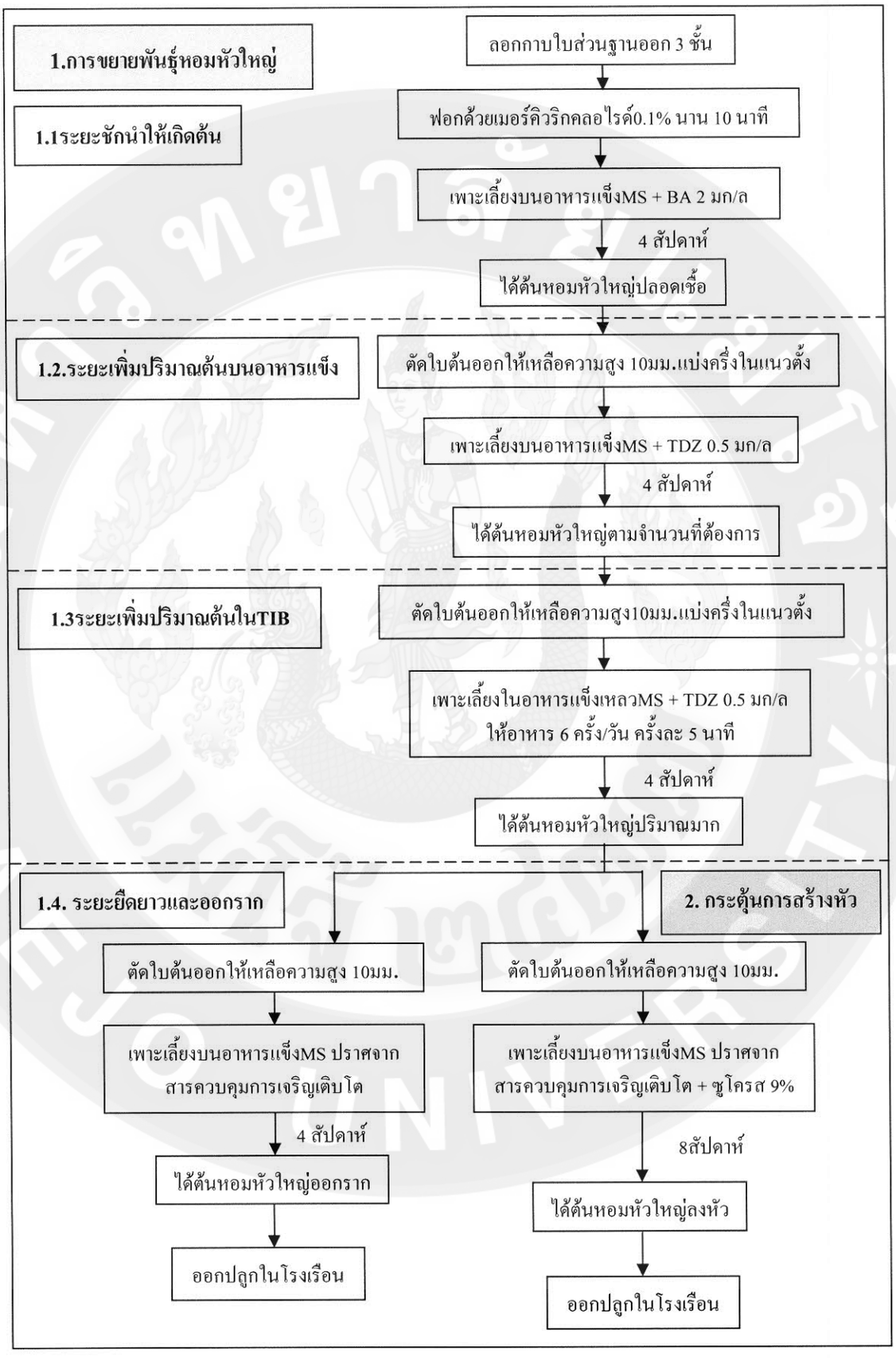
เตรียมชิ้นส่วนตั้งต้นเช่นกับการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในระบบ TIBโดยใช้อาหารเหลวสูตร MSดัดแปลง ที่มีการเติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อาหาร 6ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10นาที จะได้ต้นจำนวนมาก

1.3 ระยะยืดยาวและออกราก

นำต้นหอมหัวใหญ่ในระยะเพิ่มปริมาณต้นที่มีขนาดฐานลำต้นกว้าง 3-5 มิลลิเมตร มาตัดใบออกให้มีความสูงประมาณ 10มิลลิเมตรแล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อให้ได้ต้นออกที่พร้อมจะนำไปย้ายปลูกและอนุบาลในโรงเรือน

2. การสร้างหัวขนาดเล็ก

ในการสร้างหัวขนาดเล็ก จะเห็นได้ว่าจากที่ได้ทำการทดลองทั้งหมด 4การทดลองย่อยพบว่า ปัจจัยที่สามารถกระตุ้นการสร้างหัวได้สูงและหัวมีเจริญเติบโตดีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวใหญ่ คือน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูง (6-12%) โดยซูโครสความเข้มข้น 9% สามารถกระตุ้นการสร้างหัวสูงและหัวมีการเจริญเติบโตดีกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้ซูโครสระดับความเข้มข้นดังกล่าวในการกระตุ้นการสร้างหัว ในขั้นตอนการกระตุ้นการสร้างหัวขนาดเล็กจะนำต้นหอมหัวใหญ่ในระยะเพิ่มปริมาณต้นที่มีขนาดฐานลำต้นกว้าง 3-5 มิลลิเมตร มาตัดใบออกให้มีความสูงประมาณ 10 มิลลิเมตรแล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MSดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีเติมซูโครสความเข้มข้น 9% เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จะได้ต้นหอมหัวใหญ่ที่ลงหัว



ภาพ 45 สรุปการออกแบบระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์หอมหัวใหญ่ในระดับอุตสาหกรรม

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่และการสร้างหัวขนาดเล็กในสภาพปลอดเชื้อพบว่า แต่ละปัจจัยมีผลแตกต่างกัน ดังต่อไปนี้

ในระยะชักนำให้เกิดต้นได้ศึกษาสภาวะฟอกฆ่าเชื้อ พบว่า ชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อและจำนวนชั้นของกาบใบที่ลอกออกมีผลต่อการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ โดยเมอร์คิวริกคลอไรด์มีประสิทธิภาพสูงกว่าคลอร็อกซ์ มีหลายงานวิจัยที่นำสารที่มีฤทธิ์แรงอย่างเมอร์คิวริกคลอไรด์มาใช้ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชที่ได้จากส่วนที่เจริญใต้ดิน เช่น ฐานของหัว *Allium chinensis*(Xuet al., 2008) และตาจากเหง้า *Zingiberzerumbet*(Nongalleimaet al., 2013)เป็นต้น การเตรียมชิ้นส่วนพืชโดยการลอกกาบใบของหัวออก 3 ชั้น สามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้มากกว่าการลอกกาบใบออกเพียงชั้นเดียวอย่างชัดเจน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการลอกกาบใบออกเพียงชั้นเดียวนั้นยังไม่เพียงพอ สันนิษฐานว่ากาบใบที่อยู่ชั้นนอกสุดนั้นอาจมีเชื้อจุลินทรีย์สะสมอยู่มาก เพราะมีโอกาสสัมผัสกับดินและฝุ่นละอองสูงสำหรับการศึกษาผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการชักนำให้เกิดต้น พบว่า การเติมBA เพียงอย่างเดียวสามารถกระตุ้นให้เกิดต้นได้สูงกว่าการเติมBA ร่วมกับออกซินIAA ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kahaneet al. (1992) ที่พบว่า การเติมไซโตไคนิน(BA และ kinetin) ร่วมกับออกซิน(NAA) สามารถกระตุ้นให้เกิดต้นหอมหัวใหญ่ได้มากกว่าการเติมBA เพียงอย่างเดียว

ในระยะเพิ่มปริมาณต้นจากการศึกษาผลของไซโตไคนิน พบว่า BA เพิ่มปริมาณต้นได้น้อย และยังกระตุ้นให้เกิดการฉ่ำน้ำอีกด้วย ซึ่งมีหลายงานวิจัยที่กล่าวถึงบทบาทของ BA ในการกระตุ้นให้เกิดการฉ่ำน้ำ (Leshem et al.,1988; Rasco and Patena, 1997) เป็นต้น ในขณะที่TDZ สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้สูงซึ่ง TDZจัดได้ว่าเป็นไซโตไคนินที่มีฤทธิ์แรงและสามารถเพิ่มปริมาณต้นเป็นจำนวนมากในพืชหลายชนิด เช่น Pterocarpusmarsupium(Husain et al., 2007) และBauhinia tomentosa (Naz et al., 2012)เป็นต้นนอกจากนี้จากการศึกษาผลของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIBต่อการเพิ่มอัตราการขยายพันธุ์ในหอมหัวใหญ่โดยก่อนหน้านี้มีการศึกษาพบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยระบบTIB สามารถเพิ่มอัตราการขยายพันธุ์ได้สูงกว่าระบบอาหารแข็งหลายเท่า เช่น 4 เท่าในสับปะรด (Escalonaet al.,1999)และ 27 เท่าในปทุมมา (นพมณี และคณะ,2547) ส่วนในหอมหัวใหญ่ยังไม่มีรายงานมาก่อนในงานวิจัยนี้ พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB สามารถเพิ่มอัตราการขยายพันธุ์ของหอมหัวใหญ่ได้เช่นเดียวกันกัน โดยเพิ่มปริมาณต้นได้สูงกว่าระบบอาหารแข็ง 2.2 เท่า (ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที) และยังมีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง โดยเฉพาะน้ำหนักสดของต้นในระบบ TIB สูงกว่าต้นในระบบอาหารแข็งถึง

4.2-6.5 เท่า อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยที่น่าสนใจทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้อัตราการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่เพิ่มสูงขึ้นในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB เช่น ปริมาตรอาหารเหลว ขนาดภาชนะ จำนวนชิ้นส่วนตั้งต้น เป็นต้น

ในระยะชักนำให้เกิดราก จากการศึกษาผลของออกซินและขนาดลำต้น พบว่า ต้นหอมหัวใหญ่สามารถออกรากได้เองในอาหารที่ไม่เติม NAA สันนิษฐานว่ามีออกซินภายในต้นเพียงพอในการกระตุ้นให้เกิดราก การเติมNAAระดับความเข้มข้นต่ำ (0.1-0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีและรากพัฒนายืดยาวได้เช่นเดียวกัน ส่วน NAA ระดับความเข้มข้นสูง (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) แม้ว่าจะสามารถชักนำให้เกิดรากได้และมีรากเกิดขึ้นจำนวนมาก แต่ยับยั้งการพัฒนายืดยาวของราก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lincoln et al. (1990) ที่พบว่า ออกซินระดับความเข้มข้นสูงยับยั้งการพัฒนาของรากใน Arabidopsisนอกจากนี้ในการชักนำให้ต้นหอมหัวใหญ่เกิดรากนั้น ควรพิจารณาถึงขนาดของต้นที่เหมาะสมด้วย โดยพบว่า ต้นที่มีขนาดเล็ก (ความกว้างส่วนฐาน 1-3 มิลลิเมตร) สามารถเกิดรากได้ดีแม้ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต แต่การเกิดรากลดลงอย่างชัดเจนหากได้รับNAA ทั้งระดับความเข้มข้นต่ำ (0.1-0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร) และสูง (1 มิลลิกรัมต่อลิตร)ซึ่งเป็นไปได้ว่าต้นที่มีขนาดเล็กยังไม่แข็งแรงเพียงพอ อาจมีความอ่อนแอต่อออกซินแม้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ ส่วนต้นที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (ความกว้างส่วนฐาน 1-3 มิลลิเมตร) มีความสามารถในการเกิดรากได้ดีกว่า แต่ถ้าระดับความเข้มข้นของออกซินสูงเกินไปการเกิดรากจะถูกยับยั้งเช่นกัน

จากการศึกษาการกระตุ้นการสร้างหัวขนาดเล็กของหอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ปัจจัยทั้งหมดที่ทำการศึกษาสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างหัวได้แตกต่างกัน โดยในการกระตุ้นด้วยสารชะลอการเจริญเติบโต PBZมีรายงานในพืชหัวชนิดอื่นอย่างทิวลิปที่พบว่าPBZ ระดับความเข้มข้นสูง คือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร กระตุ้นการสร้างหัวได้สูงถึง 125% (Podwyszynska, 2006) แต่การศึกษาในหอมหัวใหญ่ครั้งนี้ พบว่าPBZ ระดับความเข้มข้นที่ทดสอบคือ 0.15-0.6 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถกระตุ้นการสร้างหัวได้เพียงระดับปานกลาง (ไม่เกิน 50%) อีกทั้งใบด้านบนยังมีการเจริญเติบโตและพัฒนาได้ดีซึ่งเป็นไปได้ว่าระดับความเข้มข้นของPBZ ที่ทดสอบยังต่ำเกินไปสำหรับการกระตุ้นการสร้างหัว

ในการกระตุ้นการสร้างหัวของหอมหัวใหญ่ด้วยABA พบว่า สามารถกระตุ้นการสร้างหัวได้ค่อนข้างสูง (ประมาณ 70-80%) แต่หัวที่พัฒนาขึ้นมามีขนาดค่อนข้างเล็ก (เส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร) และมีน้ำหนักหัวน้อยมาก (ไม่เกิน 160 มิลลิกรัม) นอกจากนี้ยังทำให้มีการเจริญเติบโตและพัฒนาของใบลดลงอีกด้วย โดยเฉพาะระดับความเข้มข้นที่สูงมาก ๆ (4 มิลลิกรัมต่อลิตร)ดังนั้นABA จึงมีบทบาทในการกระตุ้นการสร้างหัวของหอมหัวใหญ่

แต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของหัวและใบ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kim et al. (1994) ในทิวลิปที่พบว่า ชิ้นส่วนลำต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีส่วนผสมของABA มีการสร้างเฉพาะส่วนหัว แต่ไม่พบการพัฒนาของใบ

จากการศึกษาข้างต้นเกี่ยวกับ ABA ที่สามารถกระตุ้นการสร้างหัวที่ค่อนข้างสูงในความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อมาจึงได้ศึกษาผลของ ABA ระดับความเข้มข้นดังกล่าวร่วมกับน้ำตาลซูโครส ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนหรือแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตของพืชในการเติมซูโครสเพียงอย่างเดียวในระดับความเข้มข้นที่ใช้ตามปกติของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั่วไป คือ 3% พบว่า ไม่สามารถกระตุ้นการสร้างหัวได้แต่มีการสร้างหัวเฉพาะการใช้ซูโครสระดับความเข้มข้นสูง(6-12%) ซึ่งสามารถกระตุ้นการสร้างหัวได้ค่อนข้างดี (60-80%)หัวที่พัฒนาขึ้นมามีขนาดใหญ่ (เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 9 มิลลิเมตร)และมีน้ำหนักค่อนข้างมาก (ประมาณ 500-600 มิลลิกรัม)อย่างไรก็ตามแม้ว่าในการทดลองนี้พบว่า ซูโครสความเข้มข้น 12% กระตุ้นการสร้างหัวได้มากที่สุด แต่ก็ไม่แตกต่างกับซูโครสความเข้มข้น 9% ซึ่งให้ผลต่อการเจริญเติบโตของหัวดีกว่าระดับความเข้มข้นอื่น นอกจากนี้ซูโครสความเข้มข้นสูงยังทำให้การเจริญเติบโตและพัฒนาของใบลดลงอีกด้วยซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของKahaneet al.(1994)ที่พบว่าหอมหัวใหญ่จะมีการสร้างหัวเมื่อระดับความเข้มข้นของซูโครสสูงกว่า 8%แต่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 6-12% จะยับยั้งการพัฒนาของใบใหม่ส่วนการเติม ABA ร่วมกับซูโครส พบว่า ABA ไม่ได้ส่งเสริมการสร้างหัวให้มากขึ้น แต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของหัวและการพัฒนาของใบ

ในการกระตุ้นการสร้างหัวของหอมหัวใหญ่ด้วยสภาวะเครียดระดับปานกลางที่เกิดจากการให้ความร้อนนั้นยังไม่มีรายงานการศึกษามาก่อนในการศึกษาครั้งนี้ได้ให้ความร้อนระดับปานกลาง (อุณหภูมิไม่เกิน 45 องศาเซลเซียส) แก่ชิ้นส่วนพืชก่อนการนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ พบว่า ความร้อนระดับปานกลางไม่ได้ทำลายการรอดชีวิตของหอมหัวใหญ่และยังสามารถกระตุ้นการสร้างหัวได้สูงมาก (ประมาณ 90%)หัวที่พัฒนาขึ้นมามีการเจริญเติบโตดีพอสมควร (เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 7 มิลลิเมตร และน้ำหนักสดหัวประมาณ 300-500 มิลลิกรัม) ทั้งนี้มีรายงานในอัลสโตรมีเรียซึ่งเป็นพืชที่สร้างหัวประเภทเหง้าพบว่า การให้สภาวะเครียดแบบต่าง ๆ ในระดับปานกลางแก่ชิ้นส่วนพืช เช่น ความร้อน ความเย็น ความเค็ม ความแห้งแล้ง และสภาวะขาดอากาศชั่วคราวก่อนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณของเหง้าได้ โดยมีการสันนิษฐานว่าพืชตอบสนองต่อความเครียดโดยการปรับตัวให้เหง้าซึ่งเป็นอวัยวะสะสมอาหารเพิ่มความสามารถในการสะสมชีวมวล (Pumisutaponet al., 2012)ซึ่งเกิดขึ้นเช่นเดียวกันในสภาพธรรมชาติ พืชหลายชนิดที่เจริญเติบโตภายใต้สภาวะเครียดมีการสะสมชีวมวล

เพิ่มมากขึ้นตรงบริเวณอวัยวะสะสมอาหารที่เป็นรากและหัวต่าง ๆ ใต้ดิน (Chaplin III et al., 1990; Hutchings and John 2004)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1.การขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ

ในการศึกษาการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อในครั้งนี้ประสบผลสำเร็จ ซึ่งมีสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหอมหัวใหญ่ในระยะต่างๆดังนี้

1.1 ในระยะการชักนำให้เกิดต้นการใช้เมอคิวริกคลอไรด์ 0.1 % นาน 10 นาที และการลอกกาบใบออก 3 ชั้นลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้มากที่สุด และการเติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดต้นได้สูงที่สุด

1.2 ในระยะเพิ่มปริมาณต้น การเติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพิ่มปริมาณต้นได้มากที่สุด และการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้สูงกว่าระบบอาหารแข็ง โดยการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที เพิ่มปริมาณต้นหอมหัวใหญ่ได้มากที่สุด

1.3ในระยะยืดยาวและชักนำให้ออกราก การที่ไม่เติมออกซินชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด ต้นที่มีขนาดเหมาะสมแก่การออกราก คือ มีขนาดความกว้างส่วนฐาน 3-5 มิลลิเมตร ซึ่งมีคุณภาพและมีรากพร้อมที่จะอนุบาลในโรงเรือนต่อไป

2. การกระตุ้นให้เกิดการสร้างหัว

จากการศึกษาการกระตุ้นให้เกิดการสร้างหัวของหอมหัวใหญ่ด้วยปัจจัยต่างๆแต่ละปัจจัยมีสภาวะที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสร้างหัว ดังนี้

2.1 PBZ ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร กระตุ้นการสร้างหัวมากได้มากที่สุด 50%

2.2 ABA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กระตุ้นการสร้างหัวได้มากที่สุด 80%

2.3 น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 9% กระตุ้นการสร้างหัวได้มากที่สุด 73% และมีการเจริญเติบโตของหัวดีกว่าปัจจัยอื่น ๆ

2.4 สภาวะเครียดระดับปานกลางจากความร้อนอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส กระตุ้นการสร้างหัวมากที่สุด 93%

บรรณานุกรม

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2555.**ครม.ไฟเขียวเปิดตลาดหอมหัวใหญ่มันฝรั่ง 3 ปีตามข้อผูกพัน WTO เกษตรฯศึกษาผลกระทบยันไม่กระทบเกษตรกรผู้ผลิตในประเทศกลับส่งผลดีต่ออุตสาหกรรมอาหารของประเทศ.**[ระบบออนไลน์].แหล่งที่มา http://www.moac.go.th/ewt_news.php?nid=8302&filename=olarn (12 สิงหาคม2555).

กาญจนรี พงษ์ฉวี,รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์,วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัยและวารุณีย์ คันทรง. 2554. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ *Cryptocoryneaffinis* Hook. f. 1893.**กรุงเทพฯ: กรมประมง.31 น.

ข้อมูลและสถิติการผลิตพืชเศรษฐกิจภาคเหนือ. 2553. **สถานการณ์ปัจจุบันของหอมหัวใหญ่**. [ระบบออนไลน์].แหล่งที่มาwww.tisccm.moc.go.th/.../PDFบทวิเคราะห์หอมหัวใหญ่_2010_12_17_01_02_03.pdf(12 สิงหาคม2555).

ดารณีศุภธีรารักษ์.2544. สมุนไพรไทย: หอมหัวใหญ่. **วารสารเทคโนโลยี**22: 22-23.

นพมณี โทปุญญานนท์. 2545.**การขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. เชียงใหม่: iBeam Press studio. 163 น.

นพมณี โทปุญญานนท์, ปวีณา นวมเจริญ, วิภาดา ทองทักษิณ, สุปัน ไม้ดัดจันทร์, รังสิมา อัมพวัน, ทิพย์สุดา ปุกมณี และพรศักดิ์ บุญมณี. 2547. **รายงานการวิจัย การพัฒนาระบบการผลิตต้นปทุมมาต้นทุนต่ำ ด้วยการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว.** กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 88 น.

นพมณี โทปุญญานนท์, พูนพัฒน์ พูนน้อย, จาตุพงศ์ วาฤทธิ์, ปิยะนุช เนียมทรัพย์, นลิน วงศ์ขัตติยะ, ศรีกาญจนา คล้ายเรือง, เอกชัย บูรณะไทย, อัปสร เปลี่ยนสินไชย และสัจจพร จันทะวงษ์. 2553. **รายงานการวิจัยระบบการผลิตท่อนพันธุ์อ้อยปลอดโรคด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม.** กรุงเทพฯ:สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.201 น.

นพมณี โทปุญญานนท์, รังสิมา อัมพวันและพรศักดิ์ บุญมณี. 2550. **การสร้างเครื่องไบโอรีแอค-เตอร์แบบพร้อมใช้.** น. 23-28.ในรายงานสัมมนา วช: สนับสนุนผลงานวิจัยไม้ดอกเพื่อการส่งออก. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

นิตยา กันหลง, พัน อินทร์จันทร์ และลักษณา วรรณภีร์. 2533. **การใช้พลาสติกกันฝนและน้ำค้างในแปลงปลูกเพื่อลดการเกิดโรคที่สำคัญของหอมหัวใหญ่.** น. 70-82. ในรายงานผลงานวิจัยกลุ่มงานโรคพืชผักไม้ดอกไม้ประดับ ประจำปี พ.ศ. 2533.กรุงเทพฯ: กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

มัทยา อุ่นใจ. 2553. **การจัดการระบบการผลิตต้นปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดในระดับอุตสาหกรรมโดยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว.**วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 86 น.

รังสิมา อัมพวัน, นพมณี โทปุญญานนท์, ทิพย์สุดา ปุกมณี, สมจิตต์ กิจรุ่งเรือง, ภูสิต ปุกมณี และสุภักตร์ ปัญญา. 2554. **รายงานการวิจัย การพัฒนาการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วเชิงพาณิชย์เพื่อใช้เป็นท่อนพันธุ์ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว.** รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ประจำปีงบประมาณ 2554. 83 น.

วิโรศณา ไหมคำ.ผู้จัดการกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2555. สัมภาษณ์.27สิงหาคม.

แววดาว หมื่นสำราญ. 2555. **การขยายพันธุ์อเมซอน (*Echinodorus* sp.) ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว.**วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 76 น.

ศูนย์บริการข้อมูลการค้าการลงทุน จังหวัดเชียงใหม่. 2554. **ความเคลื่อนไหวกำลังการผลิตความต้องการใช้ การนำเข้าและส่งออกของประเทศต่างๆที่สำคัญของโลก.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มาhttp://tisccm.moc.go.th/tisc/content.aspx?file_upload_id=1992&page_num=1(12 สิงหาคม 2555).

อรอุมา สองศรี,เยาวพา จิระเกียรติกุล, ภาณุมาศ ฤทธิไชย และ อรุณพร อิฐรัตน์. 2556ก. การฟอกกำจัดเชื้อชิ้นส่วนข้อของ *Dioscoreabirmanica*เพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.**วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 43(2)(พิเศษ): 637-640.

._____. 2556ข. ผลของออกซินต่อการเพิ่มจำนวนยอดและชักนำให้เกิดรากของหัวข้าวเย็น (*Dioscoreabirmanica*Prain&Burkill) ในสภาพปลอดเชื้อ.**วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 44(2) (พิเศษ): 49-52.

Albarran, J., B. Bertrand, M. Lartaud and H. Etienne. 2005. Cycle characteristics in a temporary immersion bioreactor affect regeneration, morphology, water and mineral status of coffee (*Coffeaarabica* L.) somatic embryos. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 81: 27-36.

Bach, A.and A. Ptak. 2005. Induction and growth of tulip 'Apeldoorn' bulblets from embryo cultures in liquid media.pp. 359-364.In Hvoslef – Eide, A.K. and W. Preil. (eds.) **Liquid Culture Systems for *in vitro* Plant Propagation**.Dordrecht: Springer.

Chapin III, F. S., E.-D.Schulze, H. A. Mooney. 1990. The ecology and economics of storage in plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 21: 423-447.

Clarkson, T. W. 1997. The toxicologyof mercury.**Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**34:369-403.

Debergh, P. C. and L. J. Maene. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by Tissue Culture. **ScientiaHorticulturae** 14: 335–345.

Escalona, M., J. C. Lorenzo and C. G. Borroto. 1999. Pineapple (*Ananascomosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. **Plant Cell Reports** 18: 743-748.

Husain, M. K., M. Anis and A. Shahzad. 2007. *In vitro* propagation of Indian kino (*Pterocarpusmarsupium*Roxb) using thidiazuron. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant** 43: 59-64.

Hutchings, M. J. and E. A. John. 2004. The effects of environmental heterogeneity on root growth and root/shoot partitioning. **Annals of Botany** 94: 1-8.

Jala, A. 2012. Effects of NAA, BA and sucrose on shoot induction and rapid micropropagation by trimming shoot of *Curcuma Longa* L.**International Transaction Journal of Engineering, Management,& Applied Sciences & Technologies** 3: 101-109.

Jimenez, E., N. Perez, R. Barbon, A. Capote, M. Chavez and E. Quiala. 1999. Improved production of potato microtubers in a temporary immersion system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 59: 19-23.

Kahane, P., B.Schweisguth and M. Rancillac.1997. Trophic versus environmental factors controlling *in vitro* bulb formation in onion and garlic micropropagated plants. **ActaHorticulturae** 433: 435-443.

Kahane, P., M. Rancillac and B. T. de la Serve. 1992. Long-term multiplication of onion (*Allium cepa* L.) by cyclic shoot regeneration *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 28: 281-288.

Kamstaityte, D. and V. Stanys. 2004. Micropropagation of onion (*Allium cepa* L.) **ActaUniversitatisLatviensis, Biology** 676: 173-176.

Khalid, A. A., G. D. Ping. and Z. Z. Jun. 2001.Effect of growth regulatore on plantlet regeneration and bulbing in onion (*Allium cepa* L.) *in vitro*.**Biological Sciences** 4: 374-377.

Kim, K. S., E. Davelaar and G. J. de Klerk.1994.Abscisic acid controls dormancy development and bulb formation in lily plantlets regenerated *in vitro*.**PhysiologiaPlantarum** 90: 59–64.

Lapitan, V. P. C. and L. F. Pateña. 1992. Bulblet formation *in vitro*, a new approach to garlic (*Allium sativum* L.) "basic seed" production.**Philippine Journal of Crop Science** 17:89-94.

Leshem, B., D. P. Shaley and S. Izhar. 1988. Cytokinin as an inducer of vitrification in melon. **Annals of Botany** 61: 255-260

Lincoln, C. J., H. Britton and M. Estell. 1990. Growth and development of the axr1 mutants of *Arabidopsis*. **Plant Cell** 2: 1071–1080

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **PhysiologiaPlantarum** 15: 473-497.

Naz, R., M. Anis and I. M. Aret. 2012. Assessment of the potentiality of TDZ on multiple shoot induction in *Bauhinia tomentosa* L., a woody legume. **ActaBiologicaHungarica** 63: 474-482.

Nongalleima,K., T. D. Singh,D. Amitabha,Lokesh Deband Sunitibala Devi. 2013.Optimization of surface sterilizationprotocol, induction of axillary shootsregeneration in *Zingiberzerumbet* (L.)Sm. as affected by season. **Biological Rhythm Research**, DOI: 10.1080/09291016.2013.818196

Rasco, S. and L. F. Patena. 1997. The cut-and-weigh method for cell size determination in shallot (*Allium cepa* var. g. aggregatum). **Crop Science Society of the Philippines** 22: 14-22.

Rout, G.R., C.Saxena, S. Samantaray and P. Das. 1999. Rapid clonal propagation of*Plumbagozeylanica*Linn.**Plant Growth Regulation**28: 1–4.

Pumisutapon, P., R. G. F. Visser and G. J. de Klerk.2012. Moderate abiotic stresses increase rhizome growth and outgrowth of axillary buds in *Alstroemeria* cultured *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 110: 395-400.

Podwyszynska, M. 2006. Improvement of bulb formation in micropropagated tulipsby treatment with NAA and paclobutrazol or ancymidol.**ActaHorticulturae** 725: 679-684.

Sharma,V., N. Srivastava1, B. Kamal, A.K. Dobriyal and V. S. Jadon. 2014. Efficient sterilization protocols for different explants of an endangered medicinal herb *Swertiachirayita.***DAMA International**3: 5-9.

Srivastava, N., B. Kamal, V. Sharma, Y. K. Negi, A.K. Dobriya, S. Guptaand V. S.Jadon. 2010. Standardization of sterilization protocol for micropropagation of *Aconitum heterophyllum* an endangered medicinal herb. **Academic Arena**2(6): 62-66

Xu, Z., Y. C. Um., C. H. Kim, G. Lu, D. P. Guo, H. L. Liu, A. A. Bah and A. Mao. 2008. Effect of plant growth regulators, temperature and sucrose on shoot proliferation from the stem disc of Chinese jiaotou (*Allium chinense*) and *in vitro*bulblet formation. **ActaPhysiologiaePlantarum** 30: 521-526.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์สถิติโดยใช้ Stategraphic Plus 5.1

การทดลองที่ 1 การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองที่ 1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อ

ผลการวิเคราะห์สถิติแสดงดังภาพผนวก 1

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน (ลอกกาบใบ 1 ชั้น)

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
2	3	12.5	X
1	3	12.5	X
4	3	25.0	X
3	3	33.3333	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน (ลอกกาบใบ 3 ชั้น)

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
2	3	75.0	X
1	3	79.1667	X
4	3	83.3333	X
3	3	87.5	X

ภาพผนวก 1 การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 1.1 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการชักนำให้เกิดต้น

ผลการวิเคราะห์สถิติแสดงดังภาพผนวก 2

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

เปอร์เซ็นต์การเกิดต้น

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
7	4	50.0	X
5	2	50.0	X
4	4	50.0	X
6	3	66.6667	X
1	4	75.0	X
3	3	100.0	X
2	4	100.0	X

ภาพผนวก 2 การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 1.2 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย One-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 1.3 การศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณต้น

ผลการวิเคราะห์สถิติแสดงดังภาพผนวก 3

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *จำนวนต้นต่อชิ้นส่วน (BA)*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	8	1.25	X
2	8	1.375	X
3	6	1.5	X
4	7	1.71429	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *จำนวนต้นต่อชิ้นส่วน (TDZ)*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	8	1.25	X
2	7	3.42857	XX
3	6	3.83333	XX
4	7	4.71429	X

ภาพผนวก 3 การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 1.3 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย One-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 1.4 การศึกษาผลของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ต่อการเพิ่มปริมาณต้น

ผลการวิเคราะห์สถิติแสดงดังภาพผนวก 4

จำนวนต้นต่อกอ

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	7	3.42857	X
5	5	4.0	X
2	15	4.53333	X
4	6	4.66667	X
3	12	7.33333	X

ความสูงต้นหลัก

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
5	3	206.667	X
3	13	225.462	X
4	5	242.8	X
1	6	244.667	X
2	18	257.472	X

ความสูงต้นย่อย

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	6	37.8333	X
2	30	57.0333	X
3	73	65.0	X
4	30	80.5	XX
5	16	96.9375	X

น้ำหนักสดต้นต่อกอ

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	7	1227.14	X
2	16	5375.63	X
3	14	6020.57	X
4	5	7416.0	X
5	3	7936.67	X

จำนวนใบต่อต้น

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
3	16	3.625	X
4	10	3.8	X
1	6	3.83333	X
2	26	4.65385	X
5	5	5.0	X

ภาพผนวก 4 การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 1.4เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย One-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 1.5 การศึกษาผลของออกซินและขนาดลำต้นต่อการชักนำให้ออกราก

ผลการวิเคราะห์สถิติแสดงดังภาพผนวก 5

เปอร์เซ็นต์การเกิดราก (ลำต้นกว้าง 1-3 มม.)

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
4	12	8.33333	X
3	12	41.6667	X
2	12	41.6667	X
1	12	100.0	X

เปอร์เซ็นต์การเกิดราก (ลำต้นกว้าง 3-5 มม.)

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
4	12	25.0	X
3	12	91.6667	X
2	12	91.6667	X
1	12	91.6667	X

จำนวนรากต่อต้น (ลำต้นกว้าง 1-3 มม.)

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
2	9	4.66667	X
3	10	5.0	X
1	12	5.0	X
4	9	6.66667	X

จำนวนรากต่อต้น (ลำต้นกว้าง 3-5 มม.)

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
2	9	4.88889	X
1	10	5.1	X
4	9	6.11111	X
3	11	7.27273	X

ความยาวราก (ลำต้นกว้าง 1-3 มม.)

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
4	9	3.0	X
2	9	55.6667	X
1	10	76.5	XX
3	11	90.0909	X

ความยาวราก (ลำต้นกว้าง 3-5 มม.)

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
4	8	3.0	X
2	9	68.6667	X
3	9	77.3333	XX
1	12	96.75	X

ภาพผนวก 5 การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 1.5 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย One-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 2 การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหัวขนาดเล็กของหอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองที่ 2.1 การศึกษาผลของสารชะลอการเจริญเติบโตต่อการสร้างหัว

ผลการวิเคราะห์สถิติแสดงดังภาพผนวก 6

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *เปอร์เซ็นต์การสร้างหัว*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	10	0.0	X
2	10	30.0	XX
3	10	50.0	X
4	10	50.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัว*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	10	0.0	X
2	3	6.66667	X
3	5	7.0	X
4	5	7.2	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *ความสูงรวมทั้งต้น*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	10	151.0	X
2	10	197.5	X
3	10	200.6	X
4	10	227.8	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *ความสูงหัว*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	10	0.0	X
4	10	9.3	X
2	10	9.7	X
3	10	10.0	X

ภาพผนวก 6 การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 2.1 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย One-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

จำนวนใบ

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
4	10	3.1	X
3	10	3.2	X
2	10	3.3	X
1	10	3.8	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

น้ำหนักสดรวมทั้งต้น

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	10	1301.0	X
2	10	1338.2	X
3	10	1347.0	X
4	10	1391.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

น้ำหนักสดหัว

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	10	0.0	X
2	3	340.0	X
3	5	370.0	X
4	5	388.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้น

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	10	0.0	X
4	5	0.356	X
2	3	0.376667	X
3	5	0.398	X

ภาพผนวก 6 (ต่อ)

การทดลองที่ 2.2 การศึกษาผลของ ABA ต่อการสร้างหัว

ผลการวิเคราะห์สถิติแสดงดังภาพผนวก 7

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *เปอร์เซ็นต์การสร้างหัว*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	10	0.0	X
5	10	70.0	X
2	10	70.0	X
3	10	80.0	X
4	10	90.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัว*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	10	0.0	X
5	7	4.28571	X
4	9	4.33333	X
3	8	4.375	X
2	7	5.42857	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *ความสูงรวมทั้งต้น*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
5	10	38.6	X
3	10	51.8	X
4	10	55.1	X
2	10	89.0	X
1	10	151.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *ความสูงหัว*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	10	0.0	X
5	7	5.0	X
4	9	6.66667	X
3	8	6.875	X
2	7	8.42857	X

ภาพผนวก 7 การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 2.2 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย One-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

จำนวนใบ

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
5	10	1.0	X
4	10	1.0	X
3	10	1.3	X
2	10	2.0	X
1	10	2.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

น้ำหนักสดรวมทั้งต้น

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
5	10	79.0	X
4	10	210.0	X
3	9	214.444	X
2	10	292.0	X
1	9	1093.33	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

น้ำหนักสดหัว

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	9	0.0	X
5	7	38.5714	X
4	9	114.444	X
3	8	117.5	X
2	7	160.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้น

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	10	0.0	X
2	7	0.467143	X
5	7	0.522857	XX
3	8	0.555	XX
4	9	0.591111	X

ภาพผนวก 7 (ต่อ)

การทดลองที่ 2.3 การศึกษาผลของ ABA ร่วมกับน้ำตาลต่อการสร้างหัว

ผลการวิเคราะห์สถิติแสดงดังภาพผนวก 8

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 *เปอร์เซ็นต์การสร้างหัว(ไม่เติม ABA)*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	15	0.0	X
2	15	60.0	X
3	15	73.3333	X
4	15	80.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 *เปอร์เซ็นต์การสร้างหัว(เติม ABA)*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
6	15	73.3333	X
8	15	73.3333	X
7	15	80.0	X
5	15	80.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 *ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัว(ไม่เติม ABA)*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	15	0.0	X
4	9	8.55556	X
3	11	9.18182	X
2	10	9.3	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 *ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัว(เติม ABA)*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
5	11	4.81818	X
8	10	8.3	X
7	11	9.18182	X
6	9	9.33333	X

ภาพผนวก 8 การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 2.3 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

ความสูงรวมทั้งต้น (ไม่เติม ABA)

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
4	10	97.7	X
3	11	108.091	X
2	11	196.364	X
1	13	200.769	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

ความสูงรวมทั้งต้น (เติม ABA)

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
8	15	52.0667	X
7	12	53.0833	X
6	15	54.2	X
5	15	55.6	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

ความสูงหัว (ไม่เติม ABA)

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	15	0.0	X
4	14	13.2857	X
2	9	16.2222	X
3	10	17.6	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

ความสูงหัว (เติม ABA)

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
5	12	6.58333	X
7	12	9.08333	X
8	11	9.27273	X
6	11	9.45455	X

ภาพผนวก 8 (ต่อ)

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *จำนวนใบ (ไม่เติม ABA)*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
4	15	2.33333	X
3	15	2.6	X
2	15	2.66667	X
1	15	3.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *จำนวนใบ (เติม ABA)*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
5	15	1.4	X
7	15	1.53333	X
8	15	1.6	X
6	15	1.6	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *น้ำหนักสดรวมทั้งต้น (ไม่เติม ABA)*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
4	14	1025.0	X
1	15	1060.67	X
3	11	1113.64	X
2	11	1286.36	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *น้ำหนักสดรวมทั้งต้น (เติม ABA)*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
5	15	408.667	X
6	15	416.667	X
8	15	425.333	X
7	13	476.0	X

ภาพผนวก 8 (ต่อ)

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

น้ำหนักสดหัว (ไม่เติม ABA)

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	15	0.0	X
4	14	457.143	X
2	9	626.667	X
3	10	630.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

น้ำหนักสดหัว (เติม ABA)

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
5	12	183.333	X
8	11	261.818	X
6	11	282.727	X
7	12	290.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้น

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	15	0.0	X
5	15	0.531738	X
4	14	0.55479	X
2	11	0.589635	X
7	13	0.592831	X
6	15	0.629325	X
3	11	0.633323	X
8	15	0.646449	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวหลังย้ายปลูก (ไม่เติม ABA)

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	11	6.34545	X
2	11	9.18182	X
4	9	9.33333	X
3	11	9.54545	X

ภาพผนวก 8 (ต่อ)

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

จำนวนใบใหม่ต่อต้นหลังย้ายปลูก (ไม่เติม ABA)

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	11	3.36364	X
3	11	5.36364	X
2	11	5.45455	X
4	9	5.88889	X

ภาพผนวก 8 (ต่อ)

การทดลองที่ 2.4 การศึกษาผลของสภาวะเครียดจากความร้อนต่อการสร้างหัว

ผลการวิเคราะห์สถิติแสดงดังภาพผนวก 9

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *เปอร์เซ็นต์การสร้างหัว*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	15	0.0	X
5	15	86.6667	X
4	15	86.6667	X
3	15	93.3333	X
2	15	93.3333	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัว*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	15	0.0	X
2	14	6.17857	X
4	13	6.46154	X
5	13	6.53846	X
3	14	7.05714	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *ความสูงรวมทั้งต้น*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
2	14	141.143	X
1	10	151.0	X
5	13	194.923	X
4	13	197.615	X
3	14	198.5	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1 — *ความสูงหัว*

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	15	0.0	X
5	13	3.15385	X
2	14	10.7857	X
4	13	12.4615	XX
3	14	14.0	X

ภาพผนวก 9 การวิเคราะห์สถิติในการทดลองที่ 2.4เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยOne-way ANOVA Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

จำนวนใบ

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
3	14	3.07143	X
5	13	3.15385	X
2	14	3.21429	X
4	13	3.23077	XX
1	10	3.8	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

น้ำหนักสดรวมทั้งต้น

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
4	13	1127.15	X
2	14	1162.79	X
5	13	1166.15	X
3	14	1223.57	X
1	10	1301.0	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

น้ำหนักสดหัว

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	15	0.0	X
2	14	310.0	X
5	13	395.385	XX
4	13	442.308	X
3	14	504.643	X

Multiple Range Tests for Col_2 by Col_1

สัดส่วนระหว่างน้ำหนักสดหัวและน้ำหนักสดรวมทั้งต้น

Method: 95.0 percent LSD

Col_1	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	15	0.0	X
2	14	0.321429	X
5	13	0.373846	XX
3	14	0.440714	XX
4	13	0.513846	X

ภาพผนวก 9 (ต่อ)

ภาคผนวก ข

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวพิมผกา ส่างกวาง	
เกิดเมื่อ	14 ธันวาคม 2531	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2549	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนวังชิ้นวิทยา จังหวัดแพร่
	พ.ศ. 2554	ปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2554–ปัจจุบัน	ผู้ช่วยนักวิจัย ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้