การขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อและอัตราการเพิ่มปริมาณต้นด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

Onion micropropagation and enhancement of shoot multiplication rate by temporary immersion-bioreactor system

พิมผกา ส่างกวาง[1] นพมณี โทปุญญานนท์[1] และ ปวีณา ภูมิสุทธาผล[1,*]

Pimphaka Sangkwang[1], Nopmanee Topoonyanont[1] and Paweena Pumisutapon[1,*]

Abstract

The factors affecting *in vitro* propagation of onion (*Allium cepa*) cv. 'Superrex' were studied. At the initiation stage, sterilizing agents and removal of scale leaves were tested to minimize microbial contamination. The results showed that the optimal condition for surface sterilization was the use of mercuric chloride together with removal of three scale leaves. Additionally, the effect of plant growth regulators, BA and IAA, on shoot induction was examined. It was found that 2 or 3 mg/l BA gave the best shoot induction at 100%. In multiplication stage, two types of cytokinins, BA and TDZ, were compared. The highest shoot number at 4.7 shoots per explants was obtained when explants were cultured on medium containing 0.5 mg/l TDZ. 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 compared to solid medium. For *in vitro* rooting, the effect of auxin, NAA, on root induction was observed. The highest root induction at 100% was obtained when growth regulator was not added into the medium, whereas, high NAA (1 mg/l) inhibited root development.

Keywords: *Alium cepa*, micropropagation, temporary immersion bioreactor (TIB), auxin, cytokinin

[1]สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290 ประเทศไทย

[1]Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, 50290 Thailand

รับเรื่อง : เมษายน 2557

*Corresponding author: paweena.pumisutapon@gmail.com

บทคัดย่อ

ศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่สายพันธุ์ 'Superrex' ในสภาพปลอดเชื้อ ในระยะชักนำให้เกิดต้นได้เปรียบเทียบชนิดสารฟอกฆ่าเชื้อและจำนวนชั้นของกาบใบที่ลอกออก พบว่า เมอร์คิวริกคลอไรด์และการลอกกาบใบที่หัวออก 3 ชั้น ลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้มากที่สุด และได้ศึกษาผลของ BA ร่วมกับ IAA พบว่า การใช้ BA เพียงอย่างเดียว 2 หรือ 3 มก/ล ชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุด 100% ในระยะเพิ่มปริมาณต้นมีการใช้ BA หรือ TDZ พบว่า TDZ 0.5 มก/ล เพิ่มปริมาณต้นได้มากที่สุด 4.7 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช และเมื่อเปรียบเทียบระบบเพาะเลี้ยง พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (temporary immersion bioreactor; TIB) ที่ให้อาหารเหลว 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที เพิ่มปริมาณต้นได้มากที่สุด 7.3 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช ซึ่งเพิ่มขึ้น 2.2 เท่า เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็ง ในระยะชักนำให้ออกรากมีการใช้ NAA พบว่า การไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (กลุ่มควบคุม) ชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุดในต้นขนาดต่าง ๆ แต่ NAA ความเข้มข้นสูง (1 มก/ล) ยับยั้งการพัฒนาของราก

คำนำ

หอมหัวใหญ่(*Alium cepa*) เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลก ประเทศไทยมีความต้องการผลผลิตหอมหัวใหญ่ในปริมาณมาก ในปี 2555 มีการปลูก 12,470 ไร่ มีผลผลิตรวม 50,880 ตัน (Office of Agricultural Economics, 2012) ผลผลิตที่ได้นำมาใช้ประกอบอาหารและการแปรรูป เช่น อบแห้ง ดองน้ำส้ม และหัวหอมทอด เป็นต้น อย่างไรก็ตามประเทศไทยมีข้อจำกัดในการผลิตหอมหัวใหญ่ เช่น ฤดูกาลปลูกมีเพียงปีละครั้งในช่วงฤดูหนาว (กันยายน-ธันวาคม) และยังต้องใช้เมล็ดพันธุ์นำเข้าราคาสูง จากต่างประเทศเท่านั้น เนื่องจากสภาพแวดล้อมของประเทศไทยไม่เหมาะสมกับการปรับปรุงพันธุ์และผลิตเมล็ดพันธุ์หอมหัวใหญ่ ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยความเย็น ในการกระตุ้นการออกดอก การพัฒนาของช่อดอกและเมล็ด

การผลิตต้นพันธุ์พืช ในระดับอุตสาหกรรมมีการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้อย่างแพร่หลาย ในการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่สามารถใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้เช่นกัน ทั้งนี้มีการศึกษาปัจจัยเกี่ยวกับสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น Khalid *et al.* (2001) พบว่า NAA 0.1 มก/ล กระตุ้นให้เกิดต้นได้สูงถึง 93% แต่มีเพียง 0.84 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช และ Kamstaityte and Stanys (2004) ที่พบว่า kinetin กระตุ้นให้เกิดยอดได้สูงกว่า BAP ถึง 68% โดย kinetin 10.6 ไมโครโมลาร์ เพิ่มจำนวนยอดได้ 1.9-2.1 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช จากรายงานข้างต้น จะเห็นได้ว่าอัตราการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ยังได้ปริมาณน้อยอยู่ ดังนั้นควรมีการศึกษาแนวทางการเพิ่มอัตราการขยายพันธุ์ในพืชชนิดนี้

ในปัจจุบันเทคโนโลยีการขยายพันธุ์พืช ด้วยระบบ TIB ได้รับความสนใจอย่างมาก ซึ่งสามารถเพิ่มอัตราการขยายพันธุ์ได้หลายเท่าในการผลิตต้นพันธุ์พืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น อ้อย (Bernal *et al.*, 2008; Topoonyanont *et al.*, 2012) มันฝรั่ง (Jimenez *et al.,* 1999) และปทุมมา (Topoonyanont *et al.*, 2005) ระบบนี้มีข้อได้เปรียบเหนือระบบดั้งเดิม (อาหารแข็ง) คือ ผลิตต้นได้เป็นจำนวนมาก และลดต้นทุนแรงงานซึ่งสูงกว่า 60-70% (Topoonyanont *et al.*, 2012)

งานวิจัยนี้ ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อในระยะ ต่าง ๆ ตั้งแต่ระยะชักนำให้เกิดต้น เพิ่มปริมาณต้น และชักนำให้เกิดราก รวมทั้งศึกษาผลของระบบ TIB ต่อการเพิ่มปริมาณต้นด้วย เพื่อเพิ่มอัตราการขยายพันธุ์ ผลการศึกษาสามารถใช้เป็นแนวทางในการผลิตต้นพันธุ์หอมหัวใหญ่ ทั้งนี้เพื่อทดแทนการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาในครั้งนี้ ใช้หอมหัวใหญ่สายพันธุ์การค้า 'Superrex' อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ดัดแปลงที่เติมซูโครส 3% และเจลแลนกัม (gellan gum) 3 กรัมต่อลิตร (ความเป็นกรด-ด่าง 5.8) และเพาะเลี้ยงโดยให้แสงความเข้ม 40 μmol $m^{-2}s^{-1}$ นาน 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่ 25±2 องศาเซลเซียส มีการทดลอง ดังนี้

ระยะชักนำให้เกิดต้น

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของชนิดสารและระยะเวลาการฟอกฆ่าเชื้อ และจำนวนชั้นของกาบใบที่ลอกออกต่อการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ นำหอมหัวใหญ่มาเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70% ผ่าครึ่งหัวในแนวขวาง ใช้เฉพาะส่วนครึ่งล่างที่มีฐานติดอยู่ ลอกกาบใบออก 1 หรือ 3 ชั้น ผ่าครึ่งในแนวตั้ง นำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70% นาน 1 นาที และเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) 0.1% หรือคลอร็อกซ์ (Clorox®) 25% นาน 10 หรือ 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง แล้วตัดแบ่งตามแนวรัศมีได้ 8 ชิ้นส่วนต่อหัว นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติม BA 2 มก/ล ทำการทดลองทั้งสิ้น 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 16 ซ้ำ สังเกตผลหลังเพาะเลี้ยง 2 สัปดาห์

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของ BA และ IAA ต่อการชักนำให้เกิดต้น โดยใช้สภาวะฟอกฆ่าเชื้อที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 นำชิ้นส่วนพืชมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติม BA 0, 1, 2 และ 3 มก/ล และ IAA 0 และ 0.5 มก/ล ทำการทดลองทั้งสิ้น 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 16 ซ้ำ สังเกตผลหลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

ระยะเพิ่มปริมาณต้น

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของ BA และ TDZ ต่อการเพิ่มปริมาณต้น นำต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 4 สัปดาห์ ที่มีฐานลำต้นกว้าง 3-5 มม. มาตัดใบออกให้เหลือความสูง 1 ซม. แบ่งครึ่งในแนวตั้ง นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติม BA 0, 1, 2 และ 4 มก/ล หรือ TDZ 0, 0.1, 0.2 และ 0.5 มก/ล ทำการทดลองทั้งสิ้น 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ สังเกตผลหลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลระบบเพาะเลี้ยงต่อการเพิ่มปริมาณต้น นำชิ้นส่วนพืชที่เตรียมตามวิธีการในการทดลองที่ 3 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติม TDZ 0.5 มก/ล ในระบบ TIB มีการให้อาหาร 6 และ 12 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 และ 10 นาที และมีระบบอาหารแข็งเป็นกลุ่มควบคุม ทั้งสองระบบใช้ชิ้นส่วนพืช 10 ชิ้นส่วนต่ออาหาร 200 มิลลิลิตร ทำการทดลองทั้งสิ้น 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ สังเกตผลหลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

ระยะชักนำให้ออกราก

ในการทดลองที่ 5 ศึกษาผลของ NAA ต่อการชักนำให้เกิดราก นำต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 4 สัปดาห์ ที่มีฐาน ลำต้นกว้าง 1-3 และ 3-5 มม. มาตัดใบออกให้เหลือความสูง 1 ซม. แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติม NAA 0, 0.1, 0.3 และ 1 มก/ล ทำการทดลองทั้งสิ้น 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 12 ซ้ำ สังเกตผลหลังเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้โปรแกรม Statgraphics Plus 5.1 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย one-way analysis ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลและวิจารณ์

สภาวะฟอกฆ่าเชื้อ

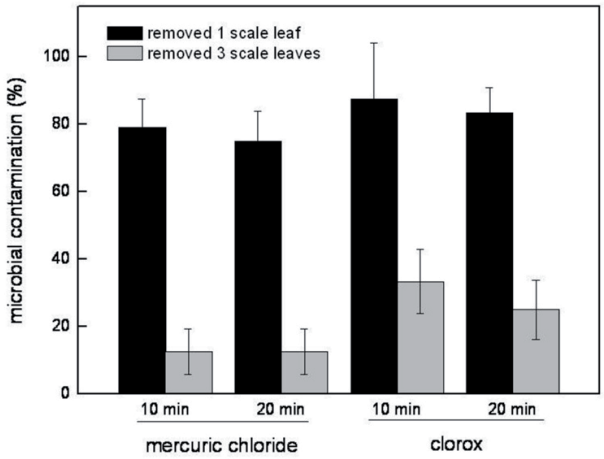
จากการนำหอมหัวใหญ่มาฟอกฆ่าเชื้อ เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ในภาพที่ 1 พบว่า การลอกกาบใบออก 1 ชั้น ชิ้นส่วนพืชที่ฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์และคลอร็อกซ์มีการปนเปื้อน 75-79% และ 83-86% ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ การลอกกาบใบออก 3 ชั้น ชิ้นส่วนพืชมีการเปื้อนลดลง 2.6-6.3 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับการลอกกาบใบออก 1 ชั้น การฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์มีการปนเปื้อนเพียง 13% ซึ่งต่ำกว่าการฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อกซ์ที่มีการปนเปื้อน 25-33% กว่า 2-2.7 เท่า ส่วนระยะเวลาการฟอกฆ่าเชื้อ 10 และ 20 นาที ชิ้นส่วนพืชมีการปนเปื้อนไม่แตกต่างกัน

การชักนำให้เกิดต้นด้วยไซโตไคนินและออกซิน

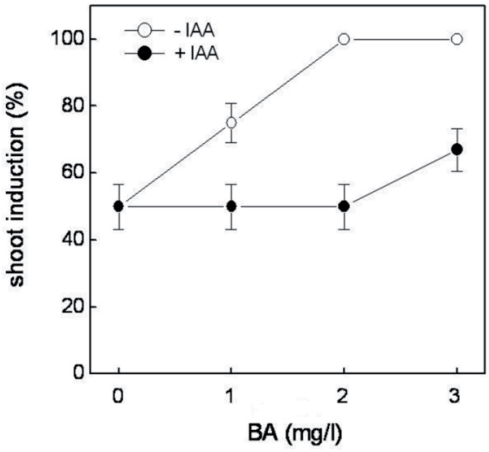
ในการนำชิ้นส่วนหอมหัวใหญ่มาชักนำให้เกิดต้นบนอาหารแข็งที่เติม BA และ IAA จากภาพที่ 2 พบว่าการใช้ BA เพียงอย่างเดียวมีการเกิดต้น 50-100% ซึ่งมากกว่าการใช้ BA ร่วมกับ IAA ที่เกิดต้น 50-67% โดย BA 2 และ 3 มก/ล ชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุดถึง 100%

การเพิ่มปริมาณต้นด้วยไซโตไคนิน

จากการเพิ่มปริมาณต้นบนอาหารแข็งที่เติม BA หรือ TDZ ในภาพที่ 3a พบว่า BA ความเข้มข้นสูงขึ้นเพิ่มปริมาณต้นได้มากขึ้น BA 4 มก/ล เพิ่มปริมาณต้นได้สูงที่สุด 1.9 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช และในภาพที่ 3b พบว่า TDZ ความเข้มข้นสูงขึ้นเพิ่มปริมาณต้นได้มากขึ้นเช่นกัน TDZ 0.5 มก/ล เพิ่มปริมาณต้นได้สูงที่สุด 4.7 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช แต่ต้นที่เพิ่มปริมาณด้วย BA มีการฉ่ำน้ำสูงถึง 40% แต่ไม่พบการฉ่ำน้ำในต้นที่เพิ่มปริมาณด้วย TDZ



ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในชิ้นส่วนหอมหัวใหญ่ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอคิวริกคลอไรด์และคลอร็อกซ์ หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติม BA 2 มก/ล เป็นเวลา 2 สัปดาห์



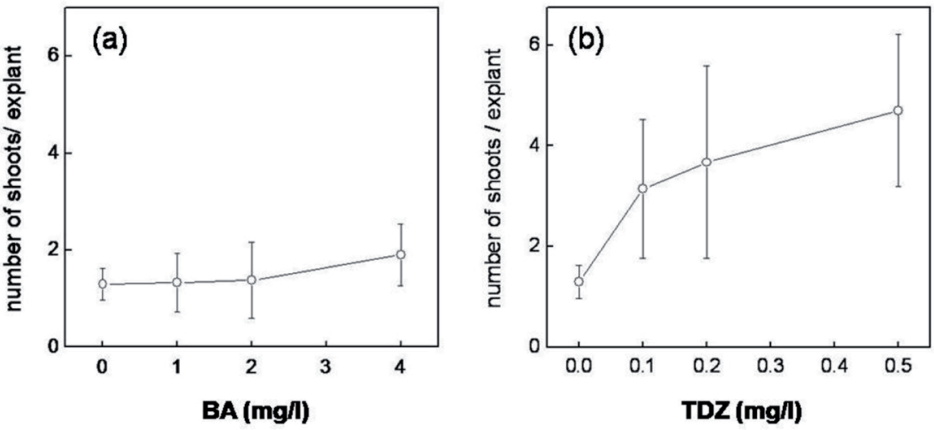
ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของชิ้นส่วนหอมหัวใหญ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติม BA และ IAA ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

การเพิ่มปริมาณต้นในระบบ TIB

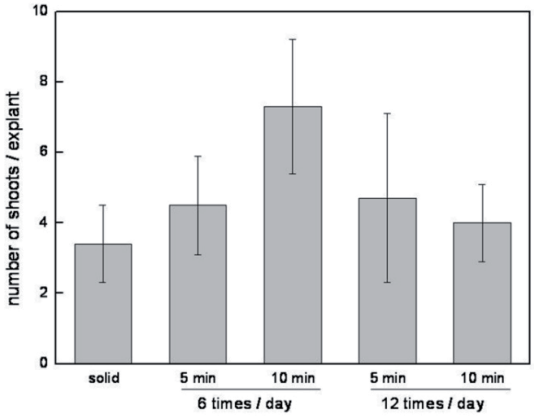
จากภาพที่ 4 พบว่า ระบบอาหารแข็งเพิ่มปริมาณต้นได้ 3.4 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช แต่ระบบ TIB เพิ่มปริมาณต้นได้มากขึ้น โดยการให้อาหารเหลว 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที เพิ่มปริมาณต้นได้สูงที่สุด 7.3 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช ในขณะที่การให้อาหารเหลว 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที และ 12 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 และ 10 นาที เพิ่มปริมาณต้นได้น้อยกว่า (4-4.7 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช) ซึ่งไม่แตกต่างกับระบบอาหารแข็ง ต้นที่เกิดขึ้นในทั้งสองระบบมีลักษณะใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 5)

การชักนำให้ออกรากด้วยออกซิน

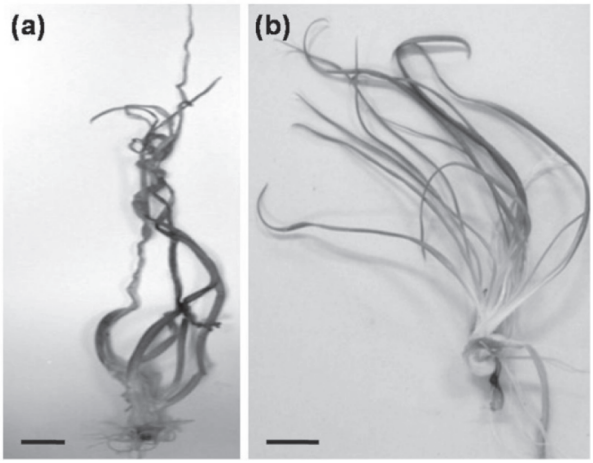
จากการนำต้นขนาดต่างกันมาชักนำให้เกิดรากในภาพที่ 6 พบว่า ต้นที่มีความกว้างฐาน 1-3 มม. เกิดรากได้มากที่สุด 100% เมื่อไม่เติม NAA และเกิดรากได้น้อยลงหากเติม NAA โดยเกิดรากได้น้อยที่สุดเพียง 8.3% ที่ 1 มก/ล ในขณะที่ต้นที่มีความกว้างฐาน 3-5 มม. เกิดรากได้มากที่สุด 92% เมื่อไม่เติม NAA หรือเติม NAA 0.1 และ 0.3 มก/ล ส่วน NAA 1 มก/ล ชักนำให้เกิดรากได้น้อยที่สุด 25% รากที่เกิดจากการไม่เติมหรือเติม NAA 0.1 และ 0.3 มก/ล มีความยาว 3-5 ซม. มี 2-3 รากต่อต้น ส่วนรากที่เกิดจากการเติม NAA 1 มก/ล มีลักษณะสั้น ความยาว 1-3 มม. เมื่อนำต้นออกรากมาย้ายปลูกในโรงเรือน พบว่า สามารถตั้งตัวได้ดี มีอัตราการรอดชีวิตรวมสูงกว่า 90%



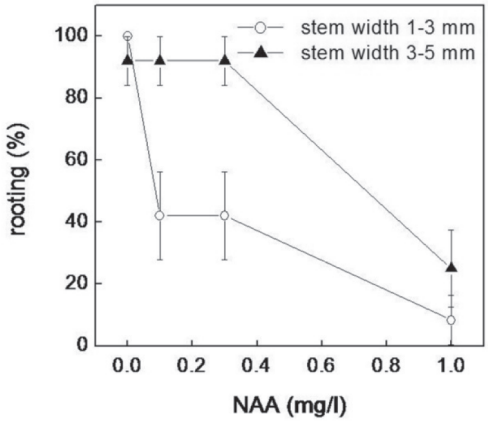
ภาพที่ 3 จำนวนต้นหอมหัวใหญ่ที่เพิ่มปริมาณได้บนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA (a) และ TDZ (b) ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์



ภาพที่ 4 จำนวนต้นหอมหัวใหญ่เพิ่มปริมาณได้ในระบบอาหารแข็งและระบบ TIB ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ 0.5 มก/ล หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์



ภาพที่ 5 ลักษณะต้นหอมหัวใหญ่ที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง (a) และระบบ TIB (b) ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ 0.5 มก/ล หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 1 ซม.)



ภาพที่ 6 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากของต้นหอมหัวใหญ่ขนาดต่าง ๆ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

จากการศึกษาการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ ในระยะต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อ ในการศึกษาสภาวะฟอกฆ่าเชื้อ พบว่า ชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อและจำนวนชั้นของกาบใบที่ลอกออกมีผลต่อการลดการปนเปื้อน ของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเมอร์คิวริกคลอไรด์มีประสิทธิภาพสูงกว่าคลอร็อกซ์ โดยมีงานวิจัยที่นำสารที่มีฤทธิ์แรงอย่างเมอร์คิวริกคลอไรด์ มาใช้ฆ่าเชื้อชิ้นส่วนที่ได้จากส่วนที่เจริญใต้ดิน เช่น ฐานของหัว *Allium chinensis* (Xu *et al*., 2008) และตาจากเหง้า *Zingiber zerumbe*t (Nongalleima *et al*., 2013) การลอกกาบใบของหัวออก 3 ชั้น สามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้มากกว่าการลอกกาบใบออกเพียงชั้นเดียวอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่า การลอกกาบใบออกเพียงชั้นเดียวยังไม่เพียงพอ กาบใบที่อยู่ชั้นนอกสุดนั้น อาจมีเชื้อจุลินทรีย์อาศัยมากเพราะมีโอกาสสัมผัสกับดินและฝุ่นละออง ส่วนการชักนำให้เกิดต้น พบว่า การใช้ไซโตไคนิน BA เพียงอย่างเดียวสามารถกระตุ้นให้เกิดต้นได้สูงกว่าการใช้ BA ร่วมกับออกซิน IAA ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kahane *et al.* (1992) ที่พบว่า การใช้ไซโตไคนิน (BA และ kinetin) ร่วมกับออกซิน(NAA) สามารถกระตุ้นให้เกิดต้นหอมหัวใหญ่ได้มากกว่าการใช้ BA เพียงอย่างเดียว

ในระยะเพิ่มปริมาณต้น พบว่า การใช้ TDZ สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้สูง โดย TDZ เป็นไซโตไคนินที่มีฤทธิ์แรงและเพิ่มปริมาณต้นได้เป็นจำนวนมากในพืชหลายชนิด เช่น *Pterocarpus marsupium* (Husain *et al*., 2007) และ *Bauhinia tomentosa* (Naz *et al*., 2012) ส่วนการใช้ BA เพิ่มปริมาณต้นได้น้อย และยังกระตุ้นให้เกิดการฉ่ำน้ำได้อีกด้วย มีรายงานวิจัยที่กล่าวถึงผลของ BA ในการกระตุ้นให้เกิดการฉ่ำน้ำ (Leshem *et al*., 1988; Rasco and Patena, 1997) ส่วนการเพิ่มปริมาณต้นในระบบ TIB มีการศึกษาพบว่าระบบนี้เพิ่มอัตราการเพิ่มปริมาณต้นได้สูงกว่าระบบอาหารแข็งหลายเท่า เช่น 3 เท่าในอ้อย Topoonyanont *et al*., 2010) และ 4 เท่าในสับปะรด (Escalona *et al*., 1999) ส่วนในหอมหัวใหญ่ยังไม่มีรายงานมาก่อน ในงานวิจัยนี้ระบบ TIB สามารถเพิ่มอัตราการเพิ่มปริมาณต้นหอมหัวใหญ่ได้เช่นกัน โดยเพิ่มปริมาณต้นได้สูงกว่าระบบอาหารแข็ง 2.2 เท่า (ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที)

ส่วนในระยะชักนำให้เกิดราก พบว่า ต้นหอมหัวใหญ่ สามารถออกรากได้เองในอาหารที่ไม่เติม NAA สันนิษฐานว่ามีออกซินภายในต้นเพียงพอที่จะกระตุ้นให้ออกราก การใช้ NAA ความเข้มข้นต่ำ (0.1-0.3 มก/ล) สามารถชักนำให้ ออกรากและทำให้รากยืดยาวได้ ส่วน NAA ความเข้มข้นสูง (1 มก/ล) แม้ว่าสามารถชักนำให้ออกรากได้ แต่ยับยั้งการยืดยาวของราก สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lincoln *et al*. (1990) ที่พบว่าออกซินความเข้มข้นสูงยับยั้งการพัฒนาของรากใน *Arabidopsis*

สรุป

การศึกษาการขยายพันธุ์หอมหัวใหญ่ ในสภาพปลอดเชื้อในครั้งนี้ประสบผลสำเร็จ ในระยะชักนำให้เกิดต้น การใช้เมอคิวริกคลอไรด์และการลอกกาบใบออก 3 ชั้นลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้มากที่สุด และ BA 2 และ 3 มก/ล ชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุด ในระยะเพิ่มปริมาณต้น TDZ 0.5 มก/ล เพิ่มปริมาณต้นได้มากที่สุด และระบบ TIB เพิ่มปริมาณต้นได้สูงกว่าระบบอาหารแข็ง โดยการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 10 นาที เพิ่มปริมาณต้นได้มากที่สุด ในระยะชักนำให้ออกรากการไม่เติมออกซินชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ บริษัท Sun Sweet จำกัด ที่อนุเคราะห์สายพันธุ์หอมหัวใหญ่ และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย แม่โจ้ ที่สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Bernal, A., P. Machado and A. D. Arencibia. 2008. Priming and biopriming integrated into the sugarcane micropropagation technology by temporary immersion bioreactors (TIBS). Sugar Tech 10: 42-47.

Escalona, M., J. C. Lorenzo, B. González, M. Daquinta, J. L. González, Y. Desjardins and C. G. Borroto. 1999. Pineapple (*Ananas comosus* 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 (*Pterocarpus marsupium* Roxb) using thidiazuron. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant 43: 59-64.

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., 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 59: 19-23.

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

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

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. Physiologia Plantarum 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. Acta Biologica Hungarica 63: 474-482.

Nongalleima, Kh., Th. D. Sinash, D. Amitabha, L. Deb and S. Devi. 2013. Optimization of surface sterilization protocol, induction of axillary shoots regeneration in *Zingiber Zerumbet* (L.) Sm. as affected by season. Biological Rhythm Research.DOI: 10.1080/09291016.2013.818196

Office of Agricultural Economics. 2012. Summary of agricultural product forecasting: onion. Journal of Agricultural Product Forecasting 2012/2013: 12-13.

Rasco, S. and L. F. Patena. 1997. The cut-and-weigh method for cell size determination in shallot (*Allium cepa* var. g. aggregatum). IPB-TCL Bulletin 93-01.

Topoonyanont, N., P. Poonnoy, J. Varith, P. Niamsup, N. Wongkattiya, S. Klayraung, R. Ampawan, E. Buranathai, U. Pliansinchai and S. Chantawong. 2010. Temporary immersion system development for disease-free sugarcane plantlet micropropagation. National Research Council of Thailand. 201 p. (in Thai)

Topoonyanont, N., P. Poonnoy, J. Varith, P. Niamsup, N. Wongkattiya, S. Klayraung, R. Ampawan, E. Buranathai and S. Chowpongpang. 2012. Temporary immersion system development for disease-free sugarcane plantlet micropropagation (2nd year). National Research Council of Thailand. 268 p. (in Thai)

Topoonyanont, N., S. Chongsang, S. Chujun, S. Somsueb and P. Nuamjaroen. 2005. Micropropagation scheme of *Curcuma alismatifolia* Gagnep. Acta Horticulturae 673: 705-712.

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* blublet formation. Acta Physiologiae Plantarum 30: 521-526.