นายหลู จาจุ่ย : การพัฒนาเทคโนโลยีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยแบบระบบเปิดต้นทุนต่ำ (DEVELOPMENT OF LOW-COST OPEN TISSUE CULTURE TECHNOLOGY FOR SUGARCANE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารักษ์ ธีรอำพน, 123 หน้า.

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบระบบเปิดต้นทุนต่ำสำหรับการขยายพันธุ์อ้อยโดยผสมผสานการใช้สารควบคุมจุลินทรีย์ประเภทออกฤทธิ์กว้างร่วมกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปราศจากน้ำตาลและปุ๋ยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ การทดลองเริ่มจากการคัดกรองหาเชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ในระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย พบจุลินทรีย์จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Mucor* sp, *Rhizopus* sp, *Aspergillus flavus, Alternalia* sp, *Penicillium* sp และ *Bacillus* sp. จากนั้นทำการทดลองหาชนิดของสารสกัดอินทรีย์จากพืชและสารเคมีที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อควบคุมจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่คัดกรองได้ พบว่า นิโคติน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร สารสกัดจากกระเทียม 80 ไมโครกรัมต่อลิตร (57.1%) คาร์เบนดาซิม 48 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NaOCl 14.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (Yi Peilong) สามารถควบคุมการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร MS ได้ดีที่สุดแต่มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่ออ้อยน้อยที่สุดและตั้งชื่อ Qiaxing No.1 ให้กับส่วนผสมสูตรดังกล่าว การทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยในสูตรอาหาร MS ที่ไม่ได้นึ่งฆ่าเชื้อ โดยมีการเติม 6-BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Qiaxing No.1 ความเข้มข้น 0.5% (ปริมาตรต่อปริมาตร) จากสต็อกความเข้มข้น 200 เท่า พบว่า สามารถควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์ให้เหลือเพียง 6.67% โดยมีการรอดชีวิตของเนื้อเยื่ออ้อยถึง 80% เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยแบบปกติ ที่มีการปนเปื้อน 43.33% และการรอดชีวิตของเนื้อเยื่ออ้อย 56.67%. ในช่วงระยะการเพิ่ม จำนวนต้นกล้าของกระบวนการย้ายเนื้อเยื่ออ้อยแบบระบบเปิด ในสูตรอาหาร MS ปราศจากน้ำตาลที่เติม 6-BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไคเนติน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 200X Qiaxing No.1 0.5% (ปริมาตรต่อปริมาตร) พร้อมทั้งเพิ่มปุ๋ยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 0.1 กรัม (เทียบเท่าแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 2,144 ไมโครลิตรต่อลิตร ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 250 มิลลิลิตร) โดยออกแบบพิเศษไม่ให้เม็ดปุ๋ยสัมผัสกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการแตกหน่อได้ในระดับ 3.15 และลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เหลือเพียง 3.5% เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบปกติที่มีประสิทธิภาพ 3.12 และมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ 7% หลังการย้ายเนื้อเยื่ออ้อย 20 วัน ส่วนในช่วงระยะการชักนำให้เกิดรากที่ใช้สภาพการทดลองเดียวกันกับในช่วงระยะการเพิ่มจำนวนต้นกล้า แต่ปรับเปลี่ยนจากฮอร์โมน 6-BA และไคเนติน เป็น NAA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และปรับลดวุ้นเหลือ 4 กรัมต่อลิตร พบว่าเนื้อเยื่ออ้อยในสภาพการเพาะเลี้ยงดังกล่าว มีค่าอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิและน้ำหนักต้นสูงกว่าระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบปกติ อีกทั้งมีค่าอัตรา

การอยู่รอดของต้นกล้าอ้อยสูงถึง 96.7% เมื่อเทียบกับระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยปกติที่มีค่า 92.9% โดยมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เพียง 3.5% ขณะที่ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยแบบปกติมีการปนเปื้อน 7.1% จากการคำนวณต้นทุนการผลิตต้นกล้าอ้อยจำนวน 10,000 ต้น พบว่า ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบเปิดสามารถผลิตกล้าอ้อยได้ในราคาเพียง 0.6 หยวนต่อต้น เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบปกติที่มีต้นทุนถึง 1 หยวนต่อต้น ทำให้สามารถลดค่าใช้จ่ายได้ถึง 40%

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2557 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

LU JIAJU : DEVELOPMENT OF LOW-COST OPEN TISSUE CULTURE TECHNOLOGY FOR SUGARCANE. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. ARAK TIRA-UMPHON, Ph.D., 123 PP.

SUGARCANE/OPEN TISSUE CULTURE/PHOTO-AUTOTROPHY/ ANTIMICROBIAL COMPOUNDS/CO_2 GAS FERTILIZER/LOW-COST

The main objective of this research was to develop a low-cost open tissue culture technology for sugarcane micropropagation using a combination of broad-spectrum antimicrobial compounds, sugar-free medium and CO_2 gas fertilizer. After extensive screening of sugarcane "*Qiantang* No.5" on a basal MS medium, six common microbes were found causing contamination in the tissue culture media, i.e. *Mucor* sp, *Alternaria* sp, *Penicillium* sp, *Aspergillus flavus*, *Rhizopus* sp and *Bacillus* sp. Formulations of various antimicrobial compounds to inhibit these microbes were screened for open tissue culturing of sugarcane. Qianxing No.1 comprising of 40 mg/L nicotine, 80 µl/L garlic extract (57.1% w/v conc), 48 mg/L active carbendazim and 14.5 mg/L NaOCl (Yi Peilong) was selected because of its best inhibiting microbial contamination and less toxic to the explants. The non-autoclaved MS medium was mixed with 5 ml/L 200X Qianxing No.1 (0.5% v/v) and 2.5 mg/L 6-BA gave only 6.67% microbial contamination with 80% survival rate of the explants after 15 days of induction phase compared to 43.33% contamination and 56.67% survival rate obtained from the autoclaved MS medium. The tissue transplanting process using the medium supplemented with Qianxing No.1 was carried out under an open condition outside an aseptic chamber. The technique was subsequently developed by supplying CO_2 gas fertilizer into tissue

culture vessels to increase plantlet photosynthetic capacity and to allow the use of sugar-free medium to lower the chance of microbial contamination during open tissue culture. On day 20 of the multiplication phase, the non-autoclaved MS medium supplemented with 1 mg/L 6-BA, 0.5 mg/L Kinetin and 5ml/L 200X Qianxing No.1, enriched with 1 g CO_2 gas fertilizer (2,144 ul/L CO_2 gas) in 250 ml specially designed culture bottles could improve propagation efficiency from 3.12 to 3.15, and decrease the contamination from 7% to 3.5% comparing with the conventional operation. On day 25 of the rooting phase with similar setting using the non-autoclaved MS medium supplemented with 3 mg/L NAA and 4 g/L agar, the net photosynthetic capacity and plantlet (fresh) weight were much higher than those of the conventional method. This developed open tissue culture method also showed better plantlet survival rate of 96.7%, with 3.5% contamination compared with 92.9% and 7.1%, respectively, obtained from the conventional method. The cost of plantlet production using the developed open tissue culture technology was also decreased to RMB￥0.6 per plantlet compared with that of RMB￥1.0 per plantlet for the production of 10,000 sugarcane plantlets.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Crop Production Technology Student's Signature_____

Academic Year 2014 Advisor's Signature_____