

บทคัดย่อ

ในการศึกษาและพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตระกูลส้มได้ทำการศึกษาวิธีการในการชักนำให้ยอดของพืชตระกูลส้มเกิดราก จากผลการศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการชักนำให้ยอดพืชตระกูลส้มเกิดรากคือ การนำยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเพื่อการเพาะเลี้ยงยอด มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง (อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ LS ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตรและ gellan gum 3 กรัมต่อลิตร) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นย้ายยอดส้มมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (0, 0.5, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร) การชักนำให้ยอดของพืชตระกูลส้มเกิดรากด้วยวิธีการดังกล่าวนี้ ทำให้อุดทั้งหมดที่เพาะเลี้ยงได้มีการเจริญโดยไม่มีการเกิดแคลลัสและต้นอ่อนที่ได้มีความแข็งแรง ในการเพาะเลี้ยงยอดเลมอนบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ LS + Su30 ที่เติม IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสถานะที่ดีในการชักนำให้ยอดเกิดราก โดยมีจำนวนยอดที่เกิดรากร้อยละ 70 ในขณะที่การเพาะเลี้ยงยอดคัมควัทบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ LS + Su30 ที่เติม IBA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการชักนำให้ยอดเกิดรากได้ร้อยละ 40 ในกรณีของเกรพฟรุ๊ทพบว่า การเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารที่เติม IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ไม่ทำให้เกิดการชักนำให้ยอดเกรพฟรุ๊ทเกิดรากได้ อย่างไรก็ตามยอดที่เพาะเลี้ยงไม่มีการเกิดแคลลัส

ในการศึกษาประสิทธิภาพของการบำบัดโดยอุณหภูมิ (thermotherapy) เพียงอย่างเดียว และการบำบัดโดยอุณหภูมิร่วมกับการบำบัดโดยสารเคมี (chemotherapy) ต่อการกำจัดไวรัส CTV ในเนื้อเยื่อส้มคัมควัท ผลการศึกษา พบว่าการบำบัดโดยอุณหภูมิเพียงอย่างเดียว และการบำบัดโดยอุณหภูมิร่วมกับการบำบัดโดยสารเคมีด้วยสาร ribavirin มีผลต่อการเจริญและการอยู่รอดของพืชเพาะเลี้ยงหลังผ่านการบำบัด การบำบัดที่ใช้อุณหภูมิสูง (ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส) มีค่าร้อยละของจำนวนยอดที่มีชีวิตที่มีการเจริญเติบโตน้อยกว่าการบำบัดที่ใช้อุณหภูมิต่ำกว่า (อุณหภูมิสูง 25 และ 35 องศาเซลเซียส) ในการบำบัดร่วมกันโดยการบำบัดด้วยสารต้านไวรัส ชนิด ribavirin ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน จากนั้นทำการบำบัดด้วยอุณหภูมิที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน พบว่ามีค่าร้อยละของจำนวนยอดที่มีชีวิตที่มีการเจริญในปริมาณใกล้เคียงกัน ในการศึกษาครั้งนี้ยอดคัมควัทที่ได้จากทุกกรรมวิธีของการบำบัด ไม่พบการปนเปื้อนของไวรัส CTV ดังนั้น จึงยังไม่สามารถชี้บ่งได้อย่างชัดเจนว่าการบำบัดโดยอุณหภูมิเพียงอย่างเดียวและการบำบัดโดยอุณหภูมิร่วมกับการบำบัดโดยสารเคมีด้วยสาร ribavirin มีผลต่อการกำจัดไวรัส CTV สิ่งที่น่าจะเป็นไปได้คือในยอดของคัมควัทอาจมีปริมาณไวรัส CTV ปนเปื้อนอยู่น้อยมากในลักษณะไวรัสที่แฝงอยู่ในต้นพืช อีกทั้งสารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวของเนื้อเยื่อ เช่น แอลกอฮอล์ สารละลายคลอโรกซ์ และสารยับยั้งจุลินทรีย์ ชนิด PPMTM อาจมีผลต่อไวรัส ในการศึกษาวิธีการผลิตต้นแม่พันธุ์พืชตระกูลส้มปลอดโรค โดยวิธีการที่ 1 การต่อยอด (grafting) ทำโดยการต่อยอดของยอดพันธุ์ดี (scion) ซึ่งได้แก่ ยอดเลมอน คัมควัท เกรพฟรุ๊ท ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นำไปวางบนต้นส้มแมนดารินพันธุ์คลีโอพัตราที่ใช้เป็นต้นตอ (rootstock) ผลของการต่อยอดส้ม หลังการเสียบยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในกรณีของเลมอน คัมควัท และเกรพฟรุ๊ท มีค่าร้อยละของการต่อสำเร็จ เท่ากับ ร้อยละ 80 ร้อยละ 70 และร้อยละ 40

ตามลำดับ วิธีการที่ 2 ทำการศึกษาการต่อยอดที่ทำในสภาพปลอดเชื้อ (*in vitro* grafting) โดยในการต่อยอดที่ทำในสภาพปลอดเชื้อ (*in vitro* grafting) ในกรณีของเลมอน คัมควัท และเกรพฟรุ๊ต มีค่าร้อยละของการต่อสำเร็จ หลังการเสียบยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เท่ากับ ร้อยละ 70 ร้อยละ 76.92 และร้อยละ 42.86 ตามลำดับ เมื่อนำต้นกล้าส้มที่ได้รับการต่อยอดด้วยยอดพันธุ์ดีของเลมอน คัมควัท และเกรพฟรุ๊ตมาทำการอนุบาลต้นกล้าและย้ายไปปลูกเลี้ยงในโรงเรือน จากนั้นสุ่มตัวอย่างจากต้นกล้าส้มที่มีสุขภาพดีมาทำการตรวจโรค ผลการตรวจโรคบ่งชี้ว่าตัวอย่างของต้นกล้าส้มเป็นต้นที่ปลอดโรคกรีนนิ่งและโรคทริสเตซ่า จากผลการศึกษาพบว่าการต่อยอดโดยใช้ต้นส้มแมนดารินพันธุ์คลีโอพัตราที่สุขภาพดีเป็นต้นต่อและใช้ยอดปลอดโรคของเลมอน คัมควัท และเกรพฟรุ๊ตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นวิธีการที่มีประโยชน์ในการผลิตต้นแม่พันธุ์ส้มปลอดโรค



Abstract

In the research and development of disease-free *Citrus* spp. mother plant production using the tissue culture process, the method for induction of root were investigated. In our study, the suitable method were transfer the shoot explants from shoot culture medium to culture medium ($\frac{1}{2}$ LS medium containing 30 g/l sucrose and 3 g/l gellan gum) without adding plant growth regulator for 4 weeks and then transfer the shoot to the culture medium supplement with five different concentrations of IBA (0, 0.5, 1, 2 and 3 mg/l). From this method, all of the shoots have been grown without callus formation and the plantlets were obtained had healthy. The best result for lemon was obtained from the culture on the medium supplement with 1 mg/l IBA produced the highest root induction rate (70%). While the culture on the medium supplement with 2 mg/l IBA is a suitable condition for kumquat cultivation (40%). In the case of grapefruit, *in vitro* root were not induced under our five different concentrations of IBA adding. However, the shoots have been grown without callus formation. For the produce disease-free *Citrus* spp. mother plant, the efficiency of thermotherapy alone and combined with chemotherapy for elimination CTV virus was evaluated. The resulted showed that the treatment by thermotherapy alone and combined with chemotherapy by ribavirin have an effect on the growth and survival of plants. The thermotherapy with high temperature (40 °C) has a lower survival percentage of shoot than the low temperature (25 and 35 °C). In the case of chemotherapy with ribavirin at different concentrations and combined with the same temperature of thermotherapy showed a similar survival percentage of shoot. In our studies, shoots derived from all treatment were free of CTV virus. Thus we can not certainly indicate that thermotherapy alone and combined with chemotherapy affect these viruses eradication. The possibility is that the number of viruses that are contaminated in the plant might be very less. The disinfectant agents (such as ethanol, Clorox solution, PPMTM solution) might affect these viruses. In this research, two grafting process for production of virus-free citrus plants obtained by *in vitro* scion were studied. In the first method, free-virus of the scion (*in vitro* lemon, kumquat, and grapefruit shoots) were placed on Cleopatra mandarin rootstock. The

result from in 4th weeks after grafting shows that the success rate of grafting on lemon, kumquat, and grapefruit was obtained by 80%, 70%, and 40% respectively. The second method, *in vitro* grafting was investigated. In the *in vitro* grafting, the success rate of lemon, kumquat, and grapefruit was 70%, 76.92%, and 42.8% respectively. These grafts of lemon, kumquat, and grapefruit were carefully acclimated and transfer to the greenhouse condition. The testing result indicate that these samples of grafts are disease-free of citrus greening and citrus tristeza disease. Therefore, the grafting which healthy seedling Cleopatra mandarin as rootstock and disease-free shoots of lemon, kumquat, and grapefruit from *in vitro* culture as the scion are benefit method for production of disease-free citrus plants.

