ภาคผนวก

องค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

ตารางภาคผนวกที่ 1 องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Linsmaier and Skoog Medium (LS medium; Linsmaier and Skoog, 1965)

สารเคมี	ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
Macroelement	
Ammonium nitrate (NH_4NO_3)	1,650
Potassium nitrate (KNO_3)	1,900
Calcium chloride ($CaCl_2.2H_2O$)	332.2
Magnesium sulphate ($MgSO_4.7H_2O$)	180.7
Potassium phosphate (KH_2PO_4)	170
Microelement	
Boric acid (H_3BO_3)	6.2
Manganese sulphate ($MnSO_4.7H_2O$)	16.9
Zinc sulphate ($ZnSO_4.H_2O$)	8.6
Potassium Iodide (KI)	0.83
Sodium molybdic acid ($Na_2MoO_4.2H_2O$)	0.25
Copper sulphate ($CuSO_4.5H_2O$)	0.025
Cobalt chloride ($CoCl_2.6H_2O$)	0.025
EDTA disodium salt dihydrate (Na_2.EDTA)	37.3
Ferrous sulphate ($FeSO_4.7H_2O$)	27.8
Organic Compounds	
Myo-inositol	100
Thiamine-HCl	0.4
pH	5.7

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

ตารางสรุปเปรียบเทียบผลงานวิจัยกับแผนงานวิจัย

วัตถุประสงค์	กิจกรรมตามแผนวิจัย	ผลการดำเนินงานวิจัย
1.เพื่อศึกษาและพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของคัมควัท เกรพฟรุ้ท และเลมอน	1. การเตรียมตัวอย่างพืชและการตรวจสอบโรคกรีนนิ่ง (Greening disease) และโรค ทริสเตซ่า (Tristeza disease) ในตัวอย่างพืชตระกูลส้ม	1. ดำเนินการเตรียมตัวอย่างพืชและการตรวจสอบโรคกรีนนิ่ง (Greening disease) และโรค ทริสเตซ่า (Tristeza disease) ในตัวอย่างพืชตระกูลส้ม
	2. การศึกษาและพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตระกูลส้ม 2.1 การศึกษาผลของอาหารเพาะเลี้ยงที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของต้นอ่อนพืชตระกูลส้ม	2.1.1 ดำเนินการศึกษาการชักนำให้ยอดอ่อนของส้มเกิดราก โดยการชักนำให้เกิดราก ด้วยวิธีการที่ 2 โดยการนำยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเพื่อการเพาะเลี้ยงยอด มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (อาหารสูตร ½ LS + Su30) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นย้ายยอดส้มมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ LS + Su30 ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยในกรณีของเลมอน พบว่าอาหารสูตร ½ LS + Su30 ที่เติม IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการชักนำให้ยอดเกิดราก ในขณะที่การเพาะเลี้ยงยอดคัมควัท พบว่าอาหารสูตร ½ LS + Su30 ที่เติม IBA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นอาหารสูตรที่สามารถชักนำให้ยอดเกิดรากได้สูงสุด ในกรณีของเกรพฟรุ้ทไม่สามารถชักนำให้ยอดเกรพฟรุ้ทเกิดรากได้เมื่อเติม IBA ที่ความเข้มข้นต่างๆทั้ง 5 ระดับ อย่างไรก็ตามยอดที่เพาะเลี้ยงมีการเจริญเติบโตได้และไม่มีการเกิดแคลลัส

ตารางสรุปเปรียบเทียบผลงานวิจัยกับแผนงานวิจัย (ต่อ)

วัตถุประสงค์	กิจกรรมตามแผนวิจัย	ผลการดำเนินงานวิจัย
1.เพื่อศึกษาและพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของคัมควัท เกรพฟรุ้ท และเลมอน	2.2 การศึกษาผลของการบำบัดด้วยอุณหภูมิและการบำบัดด้วยสารเคมี ต่อการทำให้เนื้อเยื่อส้มปลอดไวรัสในส้มคัมควัท	2.2.2 ดำเนินการศึกษาผลของการบำบัดด้วยอุณหภูมิและการบำบัดด้วยสารเคมี ต่อการทำให้เนื้อเยื่อส้มปลอดไวรัสในส้มคัมควัท พบว่าการบำบัดที่ใช้อุณหภูมิสูง (ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส) มีค่าร้อยละของจำนวนยอดที่มีชีวิตที่มีการเจริญเติบโตน้อยกว่าการบำบัดที่ใช้อุณหภูมิต่ำกว่า (อุณหภูมิสูง 25 และ 35 องศาเซลเซียส) ในการบำบัดร่วมกันโดยการบำบัดด้วยสารต้านไวรัสชนิด ribavirin ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน จากนั้นทำการบำบัดด้วยอุณหภูมิที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน พบว่า มีค่าร้อยละของจำนวนยอดที่มีชีวิตที่มีการเจริญในปริมาณใกล้เคียงกัน ใน การศึกษาครั้งนี้ยอดคัมควัทที่ได้จากทุกกรรมวิธีของการบำบัด ไม่พบการปนเปื้อนของไวรัส CTV ดังนั้นจึงยังไม่สามารถชี้บ่งได้อย่างชัดเจนว่าการบำบัดโดยอุณหภูมิเพียงอย่างเดียวและการบำบัดโดยอุณหภูมิร่วมกับการบำบัดโดยสารเคมีด้วยสาร ribavirin ในระดับที่ทำการศึกษานี้ มีผลต่อการกำจัดไวรัส CTV ได้ สิ่งที่น่าจะเป็นไปได้คือ ในยอดของคัมควัทอาจมีปริมาณไวรัส CTV ปนเปื้อนอยู่น้อยมากในลักษณะไวรัสที่แฝงอยู่ในต้นพืช อีกทั้งสารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวของเนื้อเยื่อ เช่น แอลกอฮอล์ สารละลายคลอรอกซ์ และสารยับยั้งจุลินทรีย์ ชนิด PPM™ อาจมีผลต่อไวรัส
2. เพื่อศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการผลิตต้นแม่พันธุ์ปลอดโรคของคัมควัท เกรพฟรุ้ท และเลมอน และตรวจสอบเชื้อสาเหตุของโรคทริสเตซ่าและโรคกรีนนิ่ง	1. การศึกษาและพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อผลิตต้นแม่พันธุ์พืชตระกูลส้มปลอดโรค 1.1 การเตรียมต้นตอส้มโดยการเพาะเมล็ดส้มพันธุ์คลีโอพัตรา	1.1.1 ดำเนินการเตรียมต้นตอส้มโดยการเพาะเมล็ดส้มแมนดารินพันธุ์คลีโอพัตราในวัสดุปลูก เพื่อใช้เป็นต้นตอสำหรับการต่อยอด (grafting) 1.1.2 ดำเนินการเตรียมต้นตอส้มโดยการเพาะเมล็ดส้มแมนดารินพันธุ์คลีโอพัตราในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร DKW (Driver and Kuniyuki, 1984) ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ไซโตไคนิน ชนิด BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (Tallón *et al.*, 2012) และ KELCOGEL® 3 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้เป็นต้นตอสำหรับการต่อยอดที่ทำในสภาพปลอดเชื้อ (*in vitro* grafting)

ตารางสรุปเปรียบเทียบผลงานวิจัยกับแผนงานวิจัย (ต่อ)

วัตถุประสงค์	กิจกรรมตามแผนวิจัย	ผลการดำเนินงานวิจัย
2. เพื่อศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการผลิตต้นแม่พันธุ์ปลอดโรคของคัมควัท เกรพฟรุ้ท และเลมอน และตรวจ สอบเชื้อสาเหตุของโรค ทริสเตซ่าและโรคกรีนนิ่ง	1.2. การเตรียมยอดส้มปลอดโรค (คัมควัท เกรพฟรุ้ท และเลมอน)	1.2 ดำเนินการเตรียมยอดส้มปลอดโรค ได้แก่ ส้มคัมควัท เกรพฟรุ้ท และเลมอน โดยการเพาะยอดส้มในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ LS ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ไซโตไคนินชนิด BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ KELCOGEL® 3 กรัมต่อลิตร
	1.3 การผลิตต้นแม่พันธุ์ปลอดโรคของพืชตระกูลส้ม จำนวน 3 พันธุ์ คือ คัมควัท เกรพฟรุ้ท และเลมอน โดยการต่อยอด (grafting) และการต่อยอดที่ทำในสภาพปลอดเชื้อ (*in vitro* grafting)	1.3.1 ดำเนินการศึกษาวิธีการผลิตต้นแม่พันธุ์ปลอดโรคของพืชตระกูลส้ม จำนวน 3 พันธุ์ โดยการต่อยอด (grafting) โดยทำการต่อยอดของยอดพันธุ์ดี (scion) ได้แก่ ยอดเลมอน คัมควัท และเกรพฟรุ้ทที่ปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนต้นส้มแมนดารินพันธุ์คลีโอพัตราที่ปลอดโรคที่ใช้เป็นต้นตอ (rootstock) ในกรณีของเลมอน คัมควัท และเกรพฟรุ้ท มีค่าร้อยละของการต่อสำเร็จ หลังการเสียบยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เท่ากับ ร้อยละ 80 ร้อยละ 70 และร้อยละ 40 ตามลำดับ 1.3.2 ดำเนินการศึกษาวิธีการผลิตต้นแม่พันธุ์ปลอดโรคของพืชตระกูลส้ม จำนวน 3 พันธุ์ โดยการต่อยอดที่ทำในสภาพปลอดเชื้อ (*in vitro* grafting) โดยใช้ยอดเลมอน คัมควัท เกรพฟรุ้ทที่ปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นยอดพันธุ์ดี (scion) และใช้ต้นส้มแมนดารินพันธุ์คลีโอพัตราที่ได้จากการเพาะเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นต้นตอ (rootstock) หลังการเสียบยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในกรณีของเลมอน คัมควัท และเกรพฟรุ้ท มีค่าร้อยละของการต่อสำเร็จ เท่ากับร้อยละ 70 ร้อยละ 76.92 และร้อยละ 42.86 ตามลำดับ

ตารางสรุปเปรียบเทียบผลงานวิจัยกับแผนงานวิจัย (ต่อ)

วัตถุประสงค์	กิจกรรมตามแผนวิจัย	ผลการดำเนินงานวิจัย
2. เพื่อศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการผลิตต้นแม่พันธุ์ปลอดโรคของคัมควัท เกรพฟรุ้ท และเลมอน และตรวจสอบเชื้อสาเหตุของโรคทริสเตซ่าและโรคกรีนนิ่ง	1.4 การผลิตต้นแม่พันธุ์ส้มปลอดโรค	1.4.1 ดำเนินการผลิตต้นแม่พันธุ์ปลอดโรคของพืชตระกูลส้ม จำนวน 3 พันธุ์ โดยในกรณีต้นกล้าแม่พันธุ์ส้มปลอดโรคที่ได้จากการต่อยอดทำการปลูกเลี้ยงในวัสดุปลูกและอนุบาลในโรงเรือนจนกระทั่งมีความแข็งแรงดีจและในกรณีต้นอ่อนที่ได้จากการต่อยอดที่ทำในสภาพปลอดเชื้อทำการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนจนกระทั่งมีการเจริญและมีความสมบูรณ์ของต้นอ่อนที่เหมาะสม โดยใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 8-12 สัปดาห์ จากนั้นนำต้นอ่อนที่ได้มาล้างอาหารวุ้นออก นำต้นอ่อนที่ได้ลงปลูกในวัสดุปลูกและอนุบาลในโรงเรือนจนกระทั่งมีความแข็งแรงดีจากนั้นจึงนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ 1.4.2 ทำการตรวจโรคต้นกล้าแม่พันธุ์ของเลมอน คัมควัท และเกรพฟรุ้ทที่ผลิตได้โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากต้นกล้าที่มีการเจริญดีและทำการอนุบาลในโรงเรือนพบว่า ตัวอย่างต้นแม่พันธุ์เลมอน คัมควัท และเกรพฟรุ้ทที่ผลิตได้มีความปลอดโรค โดยไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย CLA ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคกรีนนิ่งในส้มและไวรัส CTV ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคทริสเตซ่า 1.4.3 ส่งมอบต้นกล้าแม่พันธุ์ของเลมอน คัมควัท และเกรพฟรุ้ทที่ปลอดโรคและมีการเจริญเติบโตที่ดี จำนวนชนิดละ 15 ต้น ให้แก่ สวพส. เพื่อใช้เป็นต้นแม่พันธุ์สำหรับงานส่งเสริมต่อไป

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง Highland Research and Development Institute