

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การคัดเลือกเสาวรสหวานเบอร์ 2 ที่ปลอดไวรัสจากแปลงเกษตรกร

4.1.1 ผลการลงพื้นที่เพื่อเก็บข้อมูลเบื้องต้นและกำหนดพื้นที่เก็บยอดเสาวรส

ในการลงพื้นที่สำรวจในแปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกรเพื่อเก็บข้อมูลในแปลงปลูกจำนวน 8 แห่ง ได้แก่

- (1) สถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่
- (2) ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แพะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่
- (3) ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงทุ่งหลวง อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่
- (4) สถานีวิจัยโครงการหลวงแม่หลอด อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่
- (5) ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่โถ อำเภอฮอด จังหวัดเชียงใหม่
- (6) ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงหมอกจ๋าม อำเภอแม่ฮ่าย จังหวัดเชียงใหม่
- (7) ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงสะโง๊ะ อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย
- (8) ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่สะเรียง อำเภอแม่สะเรียง จังหวัดแม่ฮ่องสอน

มีรายละเอียดดังนี้



(1) แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร สถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่

ข้อมูลพื้นฐานของแปลงปลูกเสาวรส คือ แปลงปลูกมีจำนวน 2 ไร่ มีเสาวรสที่ปลูกจำนวน 200 ต้น สภาพพื้นที่ปลูกเป็นพื้นราบและทำการปลูกในระบบปลูกค้ำแบบผืน โดยทำการปลูกเสาวรสเป็นเวลา 6 เดือน

จากการสำรวจต้นเสาวรส พบว่า สภาพต้นและยอดเสาวรสโดยรวมค่อนข้างสมบูรณ์ มีการตัดแต่งกิ่งและจัดเถาของแต่ละต้นเพื่อง่าย และสะดวกในการจัดการของแต่ละต้น ในส่วนของการแสดงอาการของโรคไวรัสมีแสดงอาการให้เห็นชัดในบางต้น ยอดที่แตกใหม่ยังไม่แสดงอาการของโรคไวรัสให้เห็น แต่มียอดบางต้นเท่านั้นที่แสดงอาการ



ภาพที่ 2 แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร สถานีเกษตรหลวงปางดะ

(ก) และ (ข) แสดงพื้นที่และแปลงปลูกเสาวรสค้ำแบบผืนที่ระบบเถาโปร่งทำให้ไม่มีโรคและแมลงสะสม

(ค) ผลของเสาวรสในแปลงปลูกซึ่งผิวของเปลือกไม่มีรอยด่างหรืออาการของโรคไวรัส

(ง) ลักษณะยอดเสาวรสที่ไม่มีอาการของโรคไวรัส

(2) แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แพะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่

ข้อมูลพื้นฐานของแปลงปลูกเสาวรส คือ แปลงปลูกมีจำนวน 1.5 ไร่ มีเสาวรสที่ปลูกจำนวน 150 ต้น สภาพพื้นที่ปลูกเป็นพื้นราบและทำการปลูกในระบบปลูกค้ำแบบฝืนโดยทำการปลูกเสาวรสเป็นเวลา 1 ปี 8 เดือน

จากการสำรวจต้นเสาวรส พบว่า สภาพต้นและยอดเสาวรสตอนนี้อยู่ในช่วงตัดแต่งกิ่งเพื่อรอให้แตกยอดใหม่และเก็บผลผลิตในช่วงถัดไป โดยจากการสังเกตยอดที่แตกออกมาใหม่แสดงอาการของโรคไวรัสค่อนข้างชัดเจน



ภาพที่ 3 แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แพะ

(ก) และ (ข) แสดงพื้นที่และแปลงปลูกเสาวรสค้ำแบบฝืน

(ค) ยอดเสาวรสที่แตกขึ้นมาใหม่หลังการตัดแต่งกิ่ง

(ง) ลักษณะยอดและใบที่มีอาการต่างและบิดเบี้ยวผิดปกติรูปร่าง

(3) แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงทุ่งหลวง อำเภอแม่ว่าง จังหวัดเชียงใหม่

ข้อมูลพื้นฐานของแปลงปลูกเสาวรสบ้างแปลงปลูกมีจำนวน 1.5 ไร่ มีเสาวรสบที่ปลูกจำนวน 150 ต้น สภาพพื้นที่ปลูกเป็นไหล่เขาไม่ชันมาก และทำการปลูกในระบบปลูกค้างแบบพินโดยการปลูกเสาวรสบเป็นเวลา 1 ปี 6 เดือน

จากการสำรวจต้นเสาวรสบพบว่า สภาพโดยรวมทั้งต้นและยอดค่อนข้างสมบูรณ์ ผลเสาวรสบสมบูรณ์ ในส่วนของการแสดงอาการของโรคไวรัส มีแสดงอาการให้เห็นชัดในบางต้น ยอดที่แตกใหม่ยังไม่แสดงอาการของโรคไวรัสให้เห็นยอดค่อนข้างสวย แต่มียอดบางต้นเท่านั้นที่แสดงอาการ



ภาพที่ 4 แปลงปลูกเสาวรสบของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงทุ่งหลวง

(ก) แสดงพื้นที่และแปลงปลูกเสาวรสบ้างแปลงปลูกค้างแบบพินค่อนข้างโปร่ง อากาศถ่ายเทได้สะดวก

(ข) และ (ค) ผิวของผลเสาวรสบมีความเนียน และมันวาว ส่วนของดอกไม้มีการบิดเบี้ยวหรือผิดปกติ

(ง) ลักษณะยอดเสาวรสบ มีความยาวของข้อปล้องที่สม่ำเสมอ

- (4) แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร สถานีวิจัยโครงการหลวงแม่หลอด อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

ข้อมูลพื้นฐานของแปลงปลูกเสาวรส คือ แปลงปลูกมีจำนวน 1 ไร่ มีเสาวรสที่ปลูกจำนวน 100 ต้น สภาพพื้นที่ปลูกเป็นไหล่เขาไม่ชันมาก และทำการปลูกในระบบปลูกค้ำแบบฝืนโดยทำการปลูกเสาวรสเป็นเวลา 2 ปี

จากการสำรวจต้นเสาวรส พบว่า สภาพโดยรวมทั้งต้นและยอดพอใช้ การแสดงอาการของโรคไวรัสมีแสดงอาการให้เห็นชัดในบางต้น ยอดที่แตกใหม่มียังไม่แสดงอาการของโรคไวรัสให้เห็น



ภาพที่ 5 แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่หลอด

- (ก) แสดงพื้นที่และแปลงปลูกเสาวรสค้ำแบบฝืน หลังจากตัดแต่งประมาณ 2 เดือน พบต้นที่ไม่มีอาการของโรคไวรัส ประมาณร้อยละ 50 ของต้นเสาวรสทั้งหมด
- (ข) ดอกเสาวรสที่มีความปกติ สมบูรณ์ทั้งเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย
- (ค) ผลเสาวรส ที่มีลักษณะผิวเรียบเนียนไม่มีร่องรอยของโรค
- (ง) ลักษณะยอดเสาวรสค่อนข้างอวบ ใบสมบูรณ์โดยเฉพาะส่วนจากปลายยอดไปประมาณ 7 เซนติเมตร

- (5) แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่โถ อำเภอสอด
จังหวัดเชียงใหม่

ข้อมูลพื้นฐานของแปลงปลูกเสาวรส คือ แปลงปลูกมีจำนวน 1 ไร่ มีเสาวรสที่
ปลูกจำนวน 100 ต้น สภาพพื้นที่ปลูกเป็นไหล่เขา และทำการปลูกเป็นแบบรั้วเรียงตาม
ไหล่เขา ระยะห่างระหว่างต้นไม่มากจึงทำให้เถาसानตัวกันแน่น ทำการปลูกเสาวรสเป็น
เวลา 1 ปี

จากการสำรวจต้นเสาวรสในแปลงปลูก พบว่า สภาพโดยรวมทั้งต้นและยอด
แสดงอาการของโรคไวรัสชัดเจน



ภาพที่ 6 แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่โถ

(ก) และ (ข) แสดงพื้นที่และแปลงปลูกเสาวรสแบบรั้ว

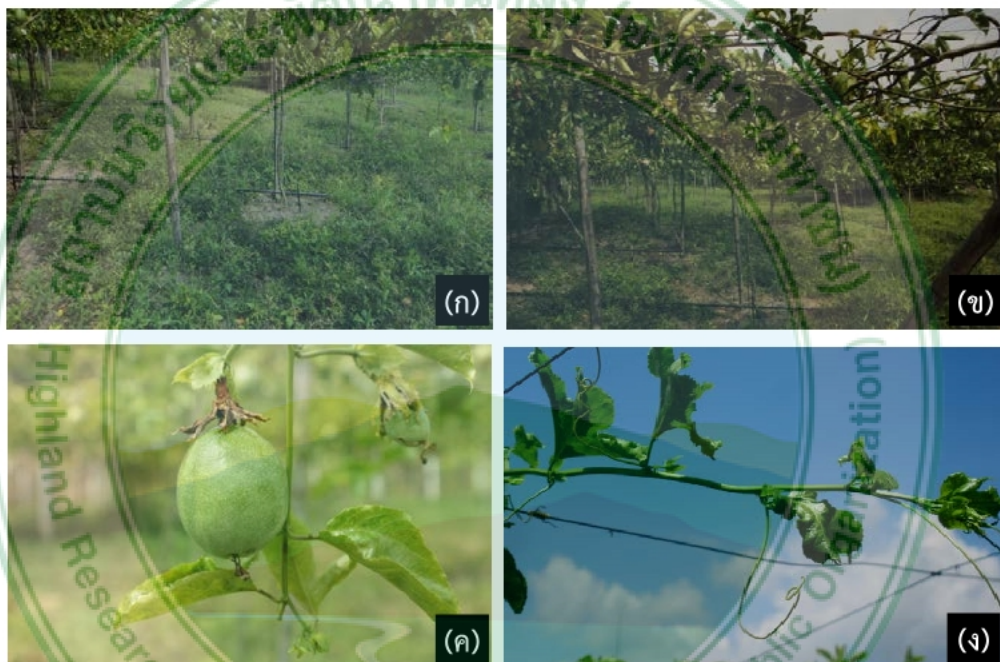
(ค) ลักษณะยอดเสาวรสที่มีอาการใบต่าง

(ง) ใบของเสาวรสที่แสดงอาการใบต่าง

- (6) แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงหมอกจ๋าม อำเภอแม่ฮ่าย จังหวัดเชียงใหม่

ข้อมูลพื้นฐานของแปลงปลูกเสาวรส คือ แปลงปลูกมีจำนวน 1 ไร่ มีเสาวรสที่ปลูกจำนวน 100 ต้น สภาพพื้นที่ปลูกเป็นพื้นราบและทำการปลูกในระบบปลูกค้ำแบบฝืน ทำการปลูกเสาวรสเป็นเวลา 2 ปี

จากการสำรวจต้นเสาวรส พบว่า สภาพโดยรวมทั้งต้นและผลผลิตพอใช้ โดยมี การแสดงอาการของโรคไวรัสที่ยอดให้เห็นชัดเจน



ภาพที่ 7 แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงหมอกจ๋าม

(ก) และ (ข) แสดงพื้นที่และแปลงปลูกเสาวรส ค้ำแบบฝืน มีผลผลิตจำนวนมาก แต่ไม่สมบูรณ์นัก

(ค) และ (ง) ลักษณะยอดเสาวรสที่แสดงอาการใบต่าง และบิดเบี้ยวผิดปกติ

(7) แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงสะโง๊ะ อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย

ข้อมูลพื้นฐานของแปลงปลูกเสาวรส คือ แปลงปลูกมีจำนวน 1.5 ไร่ มีเสาวรสที่ปลูกจำนวน 150 ต้น สภาพพื้นที่ปลูกเป็นแนวเอียงมีความชันไม่มาก และทำการปลูกในระบบปลูกค้ำแบบฝืน ทำการปลูกเสาวรสเป็นเวลา 8 เดือน

จากการสำรวจต้นเสาวรส พบว่า สภาพโดยรวมทั้งต้นและยอดสมบูรณ์พอใช้ โดยการแสดงอาการของโรคไวรัสมีแสดงอาการชัดเจนทั้งต้นยอดและผล แต่ยอดที่แตกใหม่บางต้นไม่แสดงอาการของโรคไวรัส



ภาพที่ 8 แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงสะโง๊ะ

(ก) แสดงพื้นที่และแปลงปลูกเสาวรสค้ำแบบฝืน

(ข) ลักษณะผลเสาวรสที่แสดงอาการของโรคไวรัส

(ค) และ (ง) ยอดเสาวรสที่แตกขึ้นมาใหม่ มีความสมบูรณ์และไม่มีอาการ

- (8) แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่สะเรียง อำเภอแม่สะเรียง จังหวัดแม่ฮ่องสอน

ข้อมูลพื้นฐานของแปลงปลูกเสาวรส คือ แปลงปลูกมีจำนวน 1 ไร่ มีเสาวรสที่ปลูกจำนวน 100 ต้น สภาพพื้นที่ปลูกเป็นไหล่เขา และทำการปลูกเป็นแบบรั้วเรียงตามไหล่เขา ระยะห่างระหว่างต้นไม่มากจึงทำให้เถาसानตัวกันแน่น ทำการปลูกเสาวรสเป็นเวลา 9 เดือน

จากการสำรวจต้นเสาวรสในแปลงปลูก พบว่า สภาพโดยรวมทั้งต้นและยอดแสดงอาการของโรคไวรัสชัดเจน



ภาพที่ 9 แปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่สะเรียง

(ก) และ (ข) แสดงพื้นที่และแปลงปลูกเสาวรสค้ำแบบรั้ว

(ค) และ (ง) แสดงเถาและใบเสาวรสที่แสดงอาการบิดเบี้ยวผิดปกติ

จากการรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลในการลงพื้นที่สำรวจในแปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร พบว่า เสาวรสในแปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ส่วนใหญ่ปรากฏอาการของโรคจากไวรัสอย่างชัดเจน คือ มีอาการใบและผลต่าง มีสีเขียวสลับขาว ใบหงิกงอ ผิดรูป เมื่อวิเคราะห์จากระดับการแสดงอาการของโรคไวรัสที่พบในแปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร (ตารางที่ 1) คณะผู้วิจัยจึงกำหนดพื้นที่แปลงปลูกเสาวรสที่มีแนวโน้มจะมีโอกาสพบยอดเสาวรสปลอดไวรัส จำนวน 4 แห่ง ใน 4 พื้นที่ เป็นพื้นที่เป้าหมายในการเก็บและคัดเลือกยอด ได้แก่

- | | | |
|-----------------------------------|---------------|------------------|
| (1) ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงสะโง๊ะ | อำเภอเชียงแสน | จังหวัดเชียงราย |
| (2) สถานีเกษตรหลวงปางดะ | อำเภอสะเมิง | จังหวัดเชียงใหม่ |
| (3) สถานีวิจัยโครงการหลวงแม่หลด | อำเภอแม่แตง | จังหวัดเชียงใหม่ |
| (4) ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงทุ่งหลวง | อำเภอแม่วาง | จังหวัดเชียงใหม่ |



ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไปและระดับการแสดงอาการของโรคไวรัสที่พบในเสาวรสจากแปลงปลูกของเกษตรกร 8 แห่ง

พื้นที่ที่เก็บข้อมูล (แปลงปลูกเสาวรสของ เกษตรกรในพื้นที่ศูนย์พัฒนา โครงการหลวง)	ข้อมูลทั่วไป			ระดับการแสดงอาการของโรค ไวรัสที่พบภายในแปลงปลูก ⁽¹⁾		
	พื้นที่ปลูก; จำนวน เสาวรสที่ ปลูก	ระยะเวลาที่ ทำการปลูก เสาวรส	ลักษณะพื้นที่; ระบบค้ำ	ยอด	ใบ	ผล
▪ สถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่	2 ไร่; 200 ต้น	6 เดือน	พื้นที่ราบ; ปลูกค้ำแบบ ผืน	1	2	1
▪ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง แม่แพะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่	1.5 ไร่; 150 ต้น	1 ปี 8 เดือน	พื้นที่ราบ; ปลูกค้ำแบบ ผืน	3	3	- ⁽²⁾
▪ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง ทุ่งหลวง อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่	1.5 ไร่; 150 ต้น	1 ปี 6 เดือน	พื้นที่ไหล่เขา; ปลูกค้ำแบบ ผืน	1	1	1
▪ สถานีวิจัยโครงการหลวง แม่ตลอด อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่	1 ไร่; 100 ต้น	2 ปี	พื้นที่ไหล่เขา; ปลูกค้ำแบบ ผืน	1	1	1
▪ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง แม่โถ อำเภอฮอด จังหวัดเชียงใหม่	1 ไร่; 100 ต้น	1 ปี	พื้นที่ไหล่เขา; ปลูกแบบรั้ว	3	3	3
▪ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง หมอกจำ่ม อำเภอแม่เมาะ จังหวัดเชียงใหม่	1 ไร่; 100 ต้น	2 ปี	พื้นที่ราบ; ปลูกค้ำแบบ ผืน	3	3	3
▪ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง สะโจ๊ะ อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย	1.5 ไร่; 150 ต้น	8 เดือน	พื้นที่แนวเอียง; ปลูกค้ำแบบ ผืน	2	3	3
▪ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง แม่สะเรียง อำเภอแม่สะเรียง จังหวัดแม่ฮ่องสอน	1 ไร่; 100 ต้น	9 เดือน	พื้นที่ไหล่เขา; ปลูกแบบรั้ว	3	3	3

หมายเหตุ⁽¹⁾ ระดับการแสดงอาการของโรคไวรัสที่พบภายในแปลงปลูก ได้แก่ 0 คือไม่แสดงอาการ, 1 คือแสดงอาการระดับต่ำ
2 คือแสดงอาการระดับปานกลาง และ 3 คือแสดงอาการระดับรุนแรง

⁽²⁾ - คือไม่มีผลผลิตดังกล่าวเนื่องจากอยู่ในช่วงของการตัดแต่งพืช จึงไม่สามารถจัดระดับการแสดงอาการของโรค

4.1.2 ผลการคัดเลือกและเก็บยอดเสาวรสวนเบอร์ 2 จากแปลงเกษตรกร

จากการลงพื้นที่เพื่อคัดเลือกและเก็บยอดเสาวรสวนในพื้นที่เป้าหมาย 4 พื้นที่ ได้แก่ (1) สถานีเกษตรหลวงปางดะ (2) สถานีวิจัยโครงการหลวงแม่หลอด (3) ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงสะโงะ และ (4) ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงทุ่งหลวง โดยในการเก็บยอดเสาวรสวนทำการคัดเลือกเฉพาะยอดที่มีความสมบูรณ์และไม่มีอาการของโรคจากไวรัส โดยยอดเสาวรสวนที่เก็บได้จะถูกห่อด้วยกระดาษและทำการชุบน้ำเพื่อป้องกันการเหี่ยว จากนั้นเก็บยอดในถุงพลาสติกหนึ่งยอดต่อหนึ่งถุงเพื่อป้องกันการติดโรคจากยอดอื่น เก็บยอดเสาวรสวนไว้ในกระเป๋ากับความเย็นเพื่อป้องกันยอดเหี่ยวก่อนถึงห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 2 และ 3)

ผลการลงพื้นที่เพื่อคัดเลือกและเก็บยอดเสาวรสวนแสดงในตารางที่ 2 โดยสามารถเก็บยอดที่มีความสมบูรณ์และไม่มีอาการของโรคจากไวรัสได้ 720 ยอด จากนั้นนำยอดเสาวรสวนที่ผ่านการคัดเลือกมาทำการต่อยอด (grafting) ดังแสดงในภาพที่ 4 ในการต่อยอด (grafting) นำยอดเสาวรสวนที่ผ่านการคัดเลือกมาทำความสะอาด โดยตัดแต่งให้เหลือแต่ส่วนยอด จากนั้นนำไปในถุงซิปล็อคหนึ่งยอดต่อหนึ่งถุง ทำการเติมน้ำสะอาดในถุงซิปล็อคให้ระดับน้ำท่วมยอดให้ครบทุกถุง แช่ถุงซิปล็อคที่บรรจุยอดเสาวรสวนลงในเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง (sonicator) เป็นเวลา 10 นาที ควบคุมอุณหภูมิของเครื่องในระหว่างใช้งานให้เท่ากับ 45 ± 2 องศาเซลเซียส เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำ ความสะอาด มีรายงานการวิจัยเสนอว่าการใช้อุณหภูมิสูง ในช่วง 30–46 องศาเซลเซียส สามารถช่วยลดการปนเปื้อนของไวรัสบางชนิดได้ (Cieslinska, 2007; Ahmed *et al.*, 2012; Milosevic *et al.*, 2012) จากนั้น นำยอดเสาวรสวนออกมาแช่ในน้ำเพื่อลดอุณหภูมิในถุงเพื่อไม่ให้ยอดในถุงเกิดการเหี่ยวเฉา ใช้ยอดเสาวรสวนที่ผ่านการคัดเลือกทำหน้าที่เป็นกิ่งพันธุ์ดี (scion) และต้นเสาวรสวนปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเมล็ดทำหน้าที่เป็นต้นตอ (stock or rootstock) ในระหว่างรองยอดติดให้คลุมต้นเสาวรสวนด้วยถุงพลาสติก ใช้เวลาประมาณ 7–10 วัน จากนั้น จึงแกะถุงพลาสติกออก แล้วนำยอดตาข่ายครอบที่ต้นเสาวรสวนเพื่อป้องกันแมลง และทำการเลี้ยงต้นเสาวรสวนเกิดใบใหม่

จากการเลี้ยงต้นเสาวรสวนที่ทำการต่อยอดเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ต้นเสาวรสวนที่ผ่านการเสียบยอดมากกว่าร้อยละ 90 แสดงอาการของโรคไวรัส คือ ใบมีอาการใบด่าง มีสีเขียวยสลับขาว และใบหงิกงอ โดยเหลือต้นเสาวรสวนที่ไม่แสดงอาการของโรคจากไวรัสจำนวน 115 ต้น เมื่อสุ่มตัวอย่างยอดจากต้นเสาวรสวนที่ผ่านการเสียบยอดและไม่แสดงอาการของโรคจากไวรัส จำนวน 25 ตัวอย่าง ไปตรวจเชื้อไวรัสโดยวิธี ELISA เพื่อยืนยันผลปลอดไวรัสของยอดเสาวรสวน พบว่า มี 10 ตัวอย่าง ให้ผลการตรวจยืนยันการปลอดไวรัส

จากนั้นทำการเลี้ยงต้นเสาวรสวนที่ผ่านการต่อยอดเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่า ต้นเสาวรสวนส่วนใหญ่มีการแสดงอาการของโรคจากไวรัส โดยมีต้นเสาวรสวนที่ไม่แสดงอาการของโรคจากไวรัสจำนวน 32 ต้น (ภาพที่ 5) เมื่อนำตัวอย่างยอดจากต้นเสาวรสวนที่ไม่แสดงอาการของโรคจากไวรัสไปตรวจเชื้อไวรัสโดยวิธี ELISA พบว่า มี 9 ตัวอย่าง ที่ให้ผลการตรวจยืนยันการปลอดไวรัส ต่อมา ได้ทำการใช้ยอดจากต้นเสาวรสวนที่ปลอดไวรัสดังกล่าวเป็นยอดเริ่มต้นและทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ 6-benzylaminopurine (BAP) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 10 การคัดเลือกและเก็บยอดเสาวรส

(ก) สภาพพื้นที่แปลงเสาวรส

(ข) ต้นและยอดของเสาวรส,

(ค) การคัดเลือกยอดเสาวรส โดยพิจารณาจากลักษณะปรากฏของยอดและใบของเสาวรส

(ง) การเก็บยอดที่ผ่านการคัดเลือก โดยใช้กรรไกรตัดเก็บเฉพาะยอดที่ต้องการ



ภาพที่ 11 การเก็บยอดเสาวรสที่ผ่านการคัดเลือก

(ก) ยอดเสาวรสที่ผ่านการคัดเลือก

(ข) และ (ค) ยอดเสาวรสที่เก็บได้จะถูกห่อยอดด้วยกระดาษและทำการชุบน้ำเพื่อป้องกันการเหี่ยว

(ง) เก็บยอดในถุงพลาสติกหนึ่งยอดต่อหนึ่งถุง



ภาพที่ 12 การต่อยอดเสาวรส (grafting)

- (ก) นำยอดเสาวรสที่ผ่านการตัดแต่งให้เหลือแต่ส่วนยอด บรรจุยอดในถุงซิปล็อคโดยหนึ่งยอดต่อหนึ่งถุง
- (ข) ทำความสะอาดยอดเสาวรสในเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง
- (ค) ในการต่อยอด ใช้ต้นเสาวรสปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเมล็ดทำหน้าที่เป็นต้นตอ
- (ง) ทำการต่อยอดและในระหว่างรอนยอดติดให้คลุมต้นเสาวรสด้วยถุงพลาสติก ใช้เวลาประมาณ 7 – 10 วัน
- (จ) หลังจากแกะถุงพลาสติกออก นำถุงตาข่ายครอบที่ต้นเสาวรสเพื่อป้องกันแมลง และทำการเลี้ยงต้นเสาวรสจนเกิดใบใหม่ และ
- (ฉ) เมื่อต้นกล้าเสาวรสมีการเจริญมากขึ้นทำการเปลี่ยนลงในถุงดำขนาด 4x8 นิ้ว เลี้ยงต้นเสาวรสจนเกิดใบใหม่

ตารางที่ 2 ผลการลงพื้นที่เพื่อคัดเลือกและเก็บยอดเสาวรสบานเบอร์ 2 จากแปลงเกษตรกร

ลำดับ ที่	พื้นที่ศึกษา	จำนวนยอด ที่ผ่านการ คัดเลือก (ยอด)	จำนวนต้นเสาวรสบานเบอร์ 2 ที่ไม่แสดงอาการ ของโรคจากไวรัส (ต้น)	
			หลังจากการต่อยอด 1 เดือน	หลังจากการต่อยอด 2 เดือน
1	ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงสะโงะ	240	61	19
2	สถานีเกษตรหลวงปางดะ	380	50	13
3	สถานีวิจัยโครงการหลวงแม่หลอด	70	4	0
4	ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงทุ่งหลวง	30	0	0



ภาพที่ 13 ต้นเสาวรสบานเบอร์ 2 ที่ได้รับการต่อยอดซึ่งไม่แสดงอาการของโรคจากไวรัส โดยทำการเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน (ก) ลักษณะต้น และ (ข) ยอดเสาวรสบานเบอร์ 2



ภาพที่ 14 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสบานเบอร์ 2 ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมชูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ยอดจากต้นเสาวรสบานเบอร์ 2 ที่ปลอดไวรัส

4.2 การศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการผลิตต้นแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส

โดยศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมเนื้อเยื่อเสาวรสหวานเพื่อการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์เสาวรสหวานในสภาพปลอดเชื้อ จำนวน 7 วิธีการ ได้แก่

- วิธีการที่ 1 สารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10% + เครื่องเขย่า
- วิธีการที่ 2 สารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 5% + สารลดแรงตึงผิว Tween 20 + เครื่องเขย่า
- วิธีการที่ 3 สารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10% + สารลดแรงตึงผิว Tween 20 + เครื่องเขย่า
- วิธีการที่ 4 สารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 15% + สารลดแรงตึงผิว Tween 20 + เครื่องเขย่า
- วิธีการที่ 5 สารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 5% + เครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง
- วิธีการที่ 6 สารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 5% + สารลดแรงตึงผิว Tween 20 + เครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง
- วิธีการที่ 7 สารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10% + สารลดแรงตึงผิว Tween 20 + เครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง

ผลการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อส่วนยอดของเสาวรส แสดงดังตารางที่ 3 โดยพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 5 % โดยปริมาตรร่วมกับสารลดแรงตึงผิว Tween 20 ความเข้มข้น 0.1 % โดยปริมาตร และทำการเขย่าเพื่อผสมสารด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง หรือใช้เครื่องเขย่า มีค่าร้อยละของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย รา และยีสต์) ต่ำ และมีค่าร้อยละของชิ้นส่วนที่สามารถเจริญเป็นยอดอ่อนได้สูง

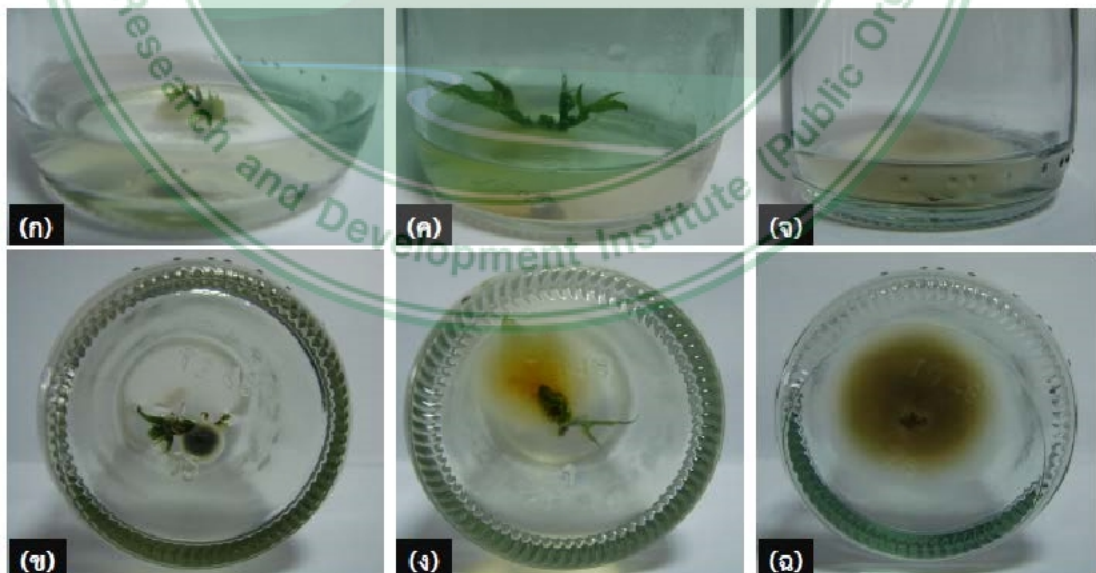
ในส่วนของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่พบมากในเนื้อเยื่อส่วนยอดของเสาวรสที่ผ่านการฟอกจะเป็นการปนเปื้อนของรา ดังแสดงตัวอย่างลักษณะการปนเปื้อนในภาพที่ 15

ตารางที่ 3 ผลของวิธีการพอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อชิ้นส่วนยอดของเสาวรสที่มีต่อความสามารถในการเจริญเป็นต้นอ่อน โดยทำซ้ำวิธีการละ 30 ยอด

วิธีการ	ร้อยละของการปนเปื้อน จุลินทรีย์ *	ร้อยละของชิ้นส่วนที่ สามารถเจริญเป็นต้นอ่อน **
วิธีการที่ 1	33.33	53.33
วิธีการที่ 2	20.00	80.00
วิธีการที่ 3	16.67	76.67
วิธีการที่ 4	10.00	56.67
วิธีการที่ 5	36.67	63.33
วิธีการที่ 6	13.33	80.00
วิธีการที่ 7	13.33	66.67

หมายเหตุ * ผลจากการสังเกตการปนเปื้อนจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย รา และยีสต์) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนยอดเป็นเวลา 2 สัปดาห์

** ผลจากการสังเกตการเจริญเป็นยอดอ่อน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนยอดเป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยชิ้นส่วนพืชที่สามารถเจริญเป็นยอดอ่อนนั้นจะต้องมีการเกิดใบอย่างน้อย 1 คู่ และมีความสูงของยอดมากกว่า 1 เซนติเมตร



ภาพที่ 15 ลักษณะการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่พบในชิ้นส่วนยอดของเสาวรสที่ผ่านการพอก

(ก), (ค), (จ) เป็นภาพด้านข้างของขวดเพาะเลี้ยง

(ข), (ง), (ฉ) เป็นภาพด้านล่างของขวดเพาะเลี้ยง

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการวิจัย

5.1 การคัดเลือกเสาวรสหวานเบอร์ 2 ที่ปลอดไวรัสจากแปลงเกษตรกร

จากผลการลงพื้นที่ในแปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร 8 แห่ง ใน 8 พื้นที่ของศูนย์พัฒนาโครงการหลวง พบว่า เสาวรสในแปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ส่วนใหญ่ปรากฏอาการของโรคจากไวรัสอย่างชัดเจน คือ มีอาการใบและผลด่าง ใบหงิกงอและใบผิดรูป ซึ่งแสดงให้เห็นถึงปัญหาในการระบาดของโรคที่เกิดจากเชื้อ Passion fruit woodiness virus (PWV) ในเสาวรส โดยโรคดังกล่าวนี้เกิดความเสียหายโดยตรงต่อผลของเสาวรส จึงทำให้ผลผลิตและคุณภาพของเสาวรสลดต่ำลง

ในการคัดเลือกและเก็บยอดเสาวรสในพื้นที่เป้าหมายในแปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร 4 แห่ง ใน 4 พื้นที่ของศูนย์พัฒนาโครงการหลวง ที่มีแนวโน้มจะมีโอกาสพบยอดเสาวรสปลอดไวรัส สามารถเก็บยอดเสาวรสที่มีความสมบูรณ์และไม่มีการปรากฏอาการของโรคจากไวรัสได้จำนวน 720 ยอด แต่เมื่อนำยอดที่ได้มาทำการปลูกเลี้ยงโดยวิธีต่อยอด ต้นเสาวรสที่ได้การเสียบยอดมากกว่าร้อยละ 90 แสดงอาการของโรคไวรัส ภายในระยะเวลา 2 เดือน แสดงให้เห็นว่ามีการแฝงอยู่ของไวรัสที่ก่อโรค โดยในช่วงต้นของการปลูกเลี้ยงเสาวรส ไวรัสเหล่านั้นอาจแฝงอยู่กับต้นพืช และไม่สามารถสังเกตเห็นอาการของโรคได้จากลักษณะปรากฏภายนอก จนกระทั่งช่วงระยะเวลาหนึ่งหรือต้นพืชมีความอ่อนแอ อาการของโรคไวรัสจึงมีปรากฏ ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อการเพาะปลูก

โดยในช่วงที่มีปัญหาการระบาดของโรคจากไวรัส การคัดเลือกและเก็บยอดเสาวรสที่ปลอดโรคทำได้ยากและได้จำนวนยอดของเสาวรสน้อย จึงอาจมีการลดและกำจัดไวรัสที่แฝงมากับต้นพืช เช่น การใช้ความร้อนหรือสารเคมีซึ่งจะช่วยเพิ่มโอกาสในการได้ยอดเสาวรสที่ปลอดโรค

ในการทดลองนี้ได้ทดลองเพิ่มขึ้นขั้นตอนการทำความสะอาดยอดเสาวรสด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงก่อนที่จะนำยอดเสาวรสมาทำการต่อยอด เพื่อให้การทำความสะอาดยอดเสาวรสมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นและ เนื่องจากการใช้เครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงให้ผลข้างเคียงในส่วนของอุณหภูมิในระหว่างการทดลองที่สูง (ประมาณ 45 องศาเซลเซียส) ซึ่งการบำบัดหรือการเพาะเลี้ยงพืชที่อุณหภูมิสูงมีรายงานว่าส่งผลให้มีการลดลงของปริมาณการปนเปื้อนไวรัสได้ (Cieslinska, 2007; Ahmed *et al.*, 2012; Milosevic *et al.*, 2012) โดยจากการทดลองเบื้องต้นสังเกตเห็นว่ายอดเสาวรสที่ผ่านการทำความสะอาดยอดเสาวรสด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงก่อนนำมาทำการต่อยอดส่วนใหญ่มีสภาพสะอาดและมีระยะเวลาในการเลี้ยงจนกระทั่งปรากฏอาการของโรคนานกว่ายอดเสาวรสที่ไม่ผ่านการทำความสะอาดยอดเสาวรสด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง อย่างไรก็ตามต้นเสาวรสที่ได้การเสียบยอดส่วนใหญ่แสดงอาการของโรคไวรัส ภายในระยะเวลา 2 เดือน

5.2 การศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการผลิตต้นแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 พลดโรคไวรัส

ในการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นขั้นตอนเริ่มต้นและที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยจากผลการทดลองฟอกฆ่าเชื้อยอดเสาวรสด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 5 % โดยปริมาตร และ สารละลายที่มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิว Tween 20 ความเข้มข้น 0.1 % โดยปริมาตร บนเครื่องเขย่าสาร (shaker) หรือเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง (sonicator) เป็นเวลา 10 นาที มีค่าร้อยละของการปนเปื้อนต่ำและมีค่าร้อยละของเนื้อเยื่อเริ่มต้นที่สามารถเจริญไปเป็นต้นอ่อนสูงที่สุด จึงถือว่าเป็นวิธีการฟอกฆ่าเชื้อยอดเสาวรสที่มีประสิทธิภาพ โดยในการใช้สารละลายที่มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิว Tween 20 และเครื่องเขย่าสาร หรือเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงในการฟอกฆ่าเชื้อส่งเสริมให้สารละลายทางเคมีที่ใช้ในการฟอกสามารถสัมผัสกับเนื้อเยื่อพืชเพิ่มมากขึ้น จึงช่วยเสริมประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อได้ดียิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม การใช้เครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงมีข้อควรพิจารณาและระมัดระวังเนื่องจากในระหว่างการใช้งานจะมีความร้อนเกิดขึ้น ซึ่งอาจส่งผลทำลายเนื้อเยื่อพืชได้ จึงควรมีการควบคุมให้ความร้อนที่เกิดขึ้นของเครื่อง ไม่เกิน 45 องศาเซลเซียส



บทที่ 6

สรุปผลการวิจัย

6.1 การคัดเลือกเสาวรสหวานเบอร์ 2 ที่ปลอดไวรัสจากแปลงเกษตรกร

จากการลงพื้นที่เพื่อเก็บข้อมูลเบื้องต้นและกำหนดพื้นที่เก็บยอดเสาวรสในแปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร 8 แห่ง ใน 8 พื้นที่ของศูนย์พัฒนาโครงการหลวง พบว่า เสาวรสในแปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร ส่วนใหญ่ปรากฏอาการของโรคจากไวรัสอย่างชัดเจน คือ มีอาการใบและผลต่าง ใบหงิกงอและใบผิดรูป โดยมีแปลงปลูกเสาวรส 4 แห่ง ใน 4 พื้นที่ของศูนย์พัฒนาโครงการหลวง ที่มีแนวโน้มจะมีโอกาสพบยอดเสาวรสปลอดไวรัส จากการคัดเลือกและเก็บรวบรวมสามารถเก็บยอดเสาวรสที่มีความสมบูรณ์และไม่มีการปรากฏอาการของโรคจากไวรัสได้จำนวน 720 ยอด และเมื่อนำยอดที่ได้มาทำการปลูกเลี้ยงโดยวิธีต่อยอด พบว่า ต้นเสาวรสที่ได้รับการต่อยอดมากกว่าร้อยละ 90 แสดงอาการของโรคไวรัส ภายในระยะเวลา 2 เดือน โดยเมื่อนำยอดอ่อนของต้นเสาวรสที่ได้รับการเลี้ยงยอดที่ไม่มีการปรากฏอาการของโรคจากไวรัสมาทำการตรวจเช็คด้วยเทคนิค ELISA เพื่อยืนยันว่าการปลอดจากไวรัส PWV พบว่า มีจำนวนตัวอย่าง 9 ตัวอย่าง ที่ได้รับการยืนยันว่าการปลอดจากไวรัส PWV ซึ่งในปัจจุบันดำเนินการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขึ้นส่วนยอดดังกล่าวบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ 6-benzylaminopurine (BAP) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้เป็นต้นแม่พันธุ์ที่ปลอดไวรัสสำหรับการผลิตต้นพันธุ์ปลอดโรคด้วยวิธีการขยายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

6.2 การศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการผลิตต้นแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส

ในการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อยอดเสาวรสด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 5 % โดยปริมาตร และ สารละลายที่มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิว Tween 20 ความเข้มข้น 0.1 % โดยปริมาตร บนเครื่องเขย่าสาร (shaker) หรือเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง (sonicator) เป็นเวลา 10 นาที เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ โดยมีค่าร้อยละของการปนเปื้อนต่ำและมีค่าร้อยละของเนื้อเยื่อเริ่มต้นที่สามารถเจริญไปเป็นต้นอ่อนสูงที่สุด

ข้อเสนอแนะ

ในช่วงที่มีปัญหาการระบาดของโรคจากไวรัส การคัดเลือกและเก็บยอดเสาวรสที่ปลอดโรค เพื่อใช้เป็นต้นแม่พันธุ์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อผลิตต้นกล้าเสาวรสปลอดโรคทำได้ยากและได้จำนวนยอดของเสาวรสน้อย คณะผู้วิจัยเห็นว่าควรมีการศึกษาหาวิธีการในการผลิตต้นพืชปลอดโรค ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดเพื่อเพิ่มจำนวนยอดใหม่และการชักนำยอดที่ได้ให้เกิดรากเพื่อให้ได้ต้นอ่อนของพืชที่สมบูรณ์ ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวจะทำให้ได้กระบวนการที่มีประสิทธิภาพในการผลิตต้นพืชปลอดโรคด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

