

## บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการผลิตต้นแม่พันธุ์ส้มปลอดโรคโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทำการเก็บกิ่งของพืชตระกูลส้ม ได้แก่ เลมอน เกรพฟรุ๊ต และคัมควัท ที่มียอดที่มีสุขภาพดีและไม่แสดงอาการของการเป็นโรค จากสถานีเกษตรหลวงปางดะ จังหวัดเชียงใหม่ จากนั้นนำตัวอย่างใบของพืชตระกูลส้มเหล่านี้มาทำการตรวจสอบโรคกรีนนิ่ง โดยใช้เทคนิค PCR และตรวจสอบโรคที่เกิดจาก *Citrus tristeza virus* โดยใช้เทคนิค RT-PCR พบว่า ตัวอย่างใบของเลมอนทั้งหมดที่ทำการตรวจสอบไม่มีการติดเชื้อของทั้งโรคกรีนนิ่งและโรคที่เกิดจาก *Citrus tristeza virus* อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างใบของเกรพฟรุ๊ต จำนวนร้อยละ 33.3 ของจำนวนใบที่นำมาตรวจสอบ ตรวจพบการติดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกรีนนิ่ง และตัวอย่างใบของคัมควัท จำนวนร้อยละ 66.7 ของจำนวนใบที่นำมาตรวจสอบ ตรวจพบการติดเชื้อ *Citrus tristeza virus* โดยจากการศึกษานี้สามารถคัดเลือกยอดเลมอนจำนวน 17 ยอดที่ไม่พบการติดเชื้อทั้งเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งและไวรัส *Citrus tristeza virus* ซึ่งยอดปลอดโรคเหล่านี้ได้ทำการเพาะเลี้ยงและเก็บรักษาบนอาหารเพาะเลี้ยงกิ่งแข็งสูตร MS ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร

ในการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิว ในกรณีของเลมอน พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวโดยการแช่ชิ้นส่วนยอดในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร และสารละลายที่มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิว Tween 20 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร เป็นเวลา 10 นาที เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพโดยมีร้อยละของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่ต่ำและมีร้อยละของชิ้นส่วนที่สามารถเจริญเป็นต้นอ่อนสูง กรณีของคัมควัทและเกรพฟรุ๊ต แม้ว่าการฟอกฆ่าเชื้อบนเขย้าสารความถี่สูงสามารถลดค่าร้อยละของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ได้แต่ยังคงมีค่าการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในระดับที่สูง ในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเนื้อเยื่อส่วนตายอดของเลมอนสามารถเจริญได้บนอาหารเพาะเลี้ยงพื้นฐานสูตร MS หรือ อาหารเพาะเลี้ยงพื้นฐานสูตร WPM ที่มีการเติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม อาหารเพาะเลี้ยงพื้นฐานทั้ง 2 สูตรไม่สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มปริมาณยอดและการชักนำให้เกิดรากได้

## Abstract

The purpose of this research was to investigate the production of virus-free *Citrus* spp. mother plant by using tissue culture technique. The healthy young branch of *Citrus* spp. consisting of lemon, kumquat and grapefruit were collected from the Royal Agricultural Station Pang Da, Chiang Mai province. From the results of citrus greening disease and *Citrus Tristeza Virus* testing showed that both citrus greening disease and *Citrus Tristeza Virus* were not detected in all of lemon leaves samples. However, citrus greening disease were detected in 33.3% of grapefruit leaves samples and *Citrus Tristeza Virus* were detected in 66.7% of kumquat leaves samples. Seventeen shoots of lemon which as citrus greening disease-free and *Citrus Tristeza Virus*-free shoots were carefully maintained on basal MS medium containing 30 g/L sucrose. At the present, the processes of selection and collection the disease-free citrus shoots are carried out.

For surface disinfection of lemon shoot, the surface sterilization with 5% (v/v) clorox solution and 0.1% (v/v) Tween-20 on a sonicator for 10 minutes were the effective procedures exhibits low percentage of contamination and the highest percentage of explant forming shoots. In case of kumquat and grapefruit, surface disinfection on a sonicator can reduce the percentage of contamination although these are still high value. In the study of *in vitro* culture, lemon shoot bud explants could be grow on basal MS medium or basal WPM medium containing 30 g/L sucrose. However, both basal medium could not induce shoot multiplication and root induction.