รายงานฉบับสมบูรณ์

(Final Report)

โครงการย่อยที่ 2: การวิจัยวิธีการผลิตต้นแม่พันธุ์เสาวรสหวานปลอดโรคไวรัส

Sub-Project 2 : Research of micropropagation method for the production of virus-free passion fruit

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ: การวิจัยและพัฒนาการผลิตเสาวรสหวานปลอดโรค

แผนงานวิจัย: แผนงานวิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของผลผลิตเกษตร

โดย

ปิยะมาศ ศรีรัตน์ และคณะ

สนับสนุนทุนวิจัยโดย สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

รายงานฉบับสมบูรณ์
(Final Report)

โครงการย่อยที่ 2: การวิจัยวิธีการผลิตต้นแม่พันธุ์เสาวรสหวานปลอดโรคไวรัส

Sub-Project 2 : Research of micropropagation method for the production of virus-free passion fruit

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ: การวิจัยและพัฒนาการผลิตเสาวรสหวานปลอดโรค

แผนงานวิจัย: แผนงานวิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของผลผลิตเกษตร

คณะผู้วิจัย	สังกัด	
1. นางสาวปิยะมาศ	ศรีรัตน์	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
2. นางสาวมาริษา	สุขปานแก้ว	มูลนิธิโครงการหลวง
3. นางสาวศิวาภรณ์	หยองเอ่น	มูลนิธิโครงการหลวง

มกราคม 2560

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาวิธีการผลิตต้นแม่พันธุ์เสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ปลอดโรคไวรัส โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 เพื่อใช้ในการดำเนินการตลอดโครงการวิจัยนี้ ขอขอบคุณมูลนิธิโครงการหลวง และสถานีเกษตรหลวงปางดะที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนในด้านบุคลากร และสถานที่ในการทำวิจัยเพื่อการปลูกและทดลองเลี้ยงเสาวรส ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ เครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัย ขอขอบคุณ ดร.อัจฉรา ภาวศุทธิ์ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ที่ให้คำแนะนำและช่วยประสานงานในระหว่างการดำเนินการวิจัย และขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือและทำให้โครงการวิจัยนี้ประสบสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

มกราคม 2560

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

คณะผู้วิจัย

1. ชื่อหัวหน้าโครงการ หน่วยงานสังกัด และที่อยู่

1.1 ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นางสาวปิยะมาศ ศรีรัตน์
หน่วยงาน ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
ที่อยู่ 1 หมู่ 6 ตำบลกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

2. ชื่อนักวิจัยโครงการ หน่วยงานสังกัด และที่อยู่

2.1 ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นางสาวมาริษา สุขปานแก้ว
หน่วยงาน สถานีเกษตรหลวงปางดะ มูลนิธิโครงการหลวง
ที่อยู่ 192 หมู่ 10 ตำบล สะเมิงใต้ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ 50250

2.2 ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นางสาวศิวาภรณ์ หยองเอ่น
หน่วยงาน มูลนิธิโครงการหลวง
ที่อยู่ 65 หมู่ 1 ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200

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

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

1. บทนำ

เสาวรส (Passion fruit) เป็นไม้ผลประเภทไม้เลื้อย จัดอยู่ในพืชตระกูล Passifloraceae โดยเสาวรสที่นิยมปลูกทางการค้า ได้แก่ เสาวรสชนิดผลสีม่วง (*Passiflora edulis*) และชนิดผลสีเหลือง (*P. flavicarpa*) ในประเทศไทยเสาวรสหวานเบอร์ 2 เป็นเสาวรสชนิดผลสีม่วงที่ได้รับการคัดเลือกและส่งเสริมจากมูลนิธิโครงการหลวงเพื่อให้เป็นเสาวรสสำหรับรับประทานสด ลักษณะเด่นของเสาวรสหวานเบอร์ 2 ได้แก่ ผลมีขนาดใหญ่และให้ผลผลิตสูง มีรสชาติหวานและมีกลิ่นหอม อย่างไรก็ตามการปลูกเสาวรสหวานเบอร์ 2 ประสบปัญหาอย่างมากเนื่องจากการระบาดของโรคที่เกิดจากเชื้อ Passion fruit woodiness virus (PWV) ในต้นกล้าเสาวรส ซึ่งโรคนี้เกิดความเสียหายโดยตรงต่อผลของเสาวรส จึงทำให้ผลผลิตและคุณภาพของเสาวรสลดต่ำลง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นเทคนิควิธีหนึ่งที่ได้รับการยอมรับว่ามีประสิทธิภาพในการใช้เพื่อการผลิตต้นพันธุ์พืชจำนวนมากที่มีคุณลักษณะตรงตามต้นแม่พันธุ์ และสามารถประยุกต์เพื่อใช้ผลิตต้นพันธุ์ที่มีความปลอดโรคได้ ในการผลิตต้นกล้าปลอดไวรัส ต้นแม่พันธุ์ในฐานะที่เป็นชิ้นเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องมีสุขภาพที่ดี มีความปลอดโรคและปลอดจากการติดเชื้อไวรัสอย่างแท้จริง ดังนั้นการคัดเลือกต้นแม่พันธุ์ที่ดีเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญของการผลิตต้นพันธุ์พืชปลอดไวรัส จากผลการศึกษาในปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 ได้สำรวจแปลงปลูกเสาวรสของเกษตรกร 8 แห่ง ใน 8 พื้นที่ของศูนย์พัฒนาโครงการหลวง พบว่า ต้นเสาวรสส่วนใหญ่มีอาการของโรคจากไวรัส คือ มีอาการใบและผลด่าง ใบหงิกงอและใบผิดรูป จากการคัดเลือกและเก็บรวบรวมสามารถเก็บยอดเสาวรสที่มีความสมบูรณ์และไม่มีการปรากฏอาการของโรคจากไวรัสได้จำนวน 720 ยอด และเมื่อนำยอดที่ได้มาทำการปลูกเลี้ยงโดยวิธีต่อยอด พบว่า ต้นเสาวรสที่ได้การเสียบยอดมากกว่าร้อยละ 90 แสดงอาการของโรคไวรัส ภายในระยะเวลา 2 เดือน โดยผลสุดท้ายของการทดลอง มีจำนวนตัวอย่าง 9 ตัวอย่าง ที่ได้รับการยืนยันว่าการปลอดจากไวรัส PWV โดยการตรวจเชื้อด้วยเทคนิค ELISA ในการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อยอดเสาวรสด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 5 % โดยปริมาตร และสารละลายที่มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิว Tween 20 ความเข้มข้น 0.1 % โดยปริมาตร บนเครื่องเขย่าสาร (shaker) หรือเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง (sonicator) เป็นเวลา 10 นาที เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ มีค่าร้อยละของการปนเปื้อนต่ำและมีค่าร้อยละของเนื้อเยื่อเริ่มต้นที่สามารถเจริญไปเป็นต้นอ่อนสูงที่สุด (ปิยะมาศ และคณะ, 2558)

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อาหารเพาะเลี้ยง และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมมีผลอย่างยิ่งต่อการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อในระหว่างการเพาะเลี้ยง การเพิ่มปริมาณของยอดและการชักนำให้ยอดเกิดรากในกรณีที่ยอดพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงไม่สามารถเกิดรากขึ้นได้เอง โดยในการศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาวิธีการผลิตต้นแม่พันธุ์เสาวรสหวาน พันธุ์เบอร์ 2 ที่ปลอดโรคไวรัส โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

2. วัตถุประสงค์

โครงการย่อยที่ 2: การวิจัยวิธีการผลิตต้นแม่พันธุ์เสาวรสหวานปลอดโรคไวรัส ภายใต้ชุดโครงการ การวิจัยและพัฒนาการผลิตเสาวรสหวานปลอดโรค เป็นโครงการวิจัยที่มีแผนงานการดำเนินงานเป็นเวลา 2 ปี โดยการดำเนินงานในปีที่ 2 นี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของซูโครส ชนิดของอาหารเพาะเลี้ยง และสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินและออกซินที่มีต่อการเพาะเลี้ยงและการเพิ่มปริมาณยอด และการชักนำให้เกิดราก โดยผลการศึกษานี้มีประโยชน์สำหรับการผลิตต้นแม่พันธุ์เสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอดของเสาวรสหวาน พันธุ์เบอร์ 2 บนอาหารเพาะเลี้ยงกึ่งแข็งสูตรมาตรฐาน MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (15 30 และ 60 กรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 15 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มปริมาณยอด 2.0 ยอด ซึ่งมากกว่าในการเพาะเลี้ยงที่ใช้ความเข้มข้นของซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่ใช้ซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร มีความแข็งแรงและมีความยาวยอดเฉลี่ยที่มากกว่า มีใบสีเขียวที่แข็งแรง และมีขนาดใหญ่ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นอื่นๆ

ชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงมีผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อที่ทำการเพาะเลี้ยง โดยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสหวาน พันธุ์เบอร์ 2 บนอาหารกึ่งแข็งที่มีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน จำนวน 5 สูตร ได้แก่ (1) อาหารเพาะเลี้ยงสูตรมาตรฐาน MS (อาหารสูตร MS [30]), (2) อาหารเพาะเลี้ยงสูตรดัดแปลงจากสูตรมาตรฐาน MS โดยมีการใช้สารในกลุ่มวิตามินตามที่ใช้ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร B5 (อาหารสูตร MSB [30]), (3) อาหารเพาะเลี้ยงสูตรดัดแปลงจากสูตรมาตรฐาน MS โดยมีการใช้ FeNa-EDDHA แทนการใช้ $FeSO_4.7H_2O$ และ $Na_2.EDTA.2H_2O$ (Van der Salm *et al*., 1994) (อาหารสูตร MSD [30]), (4) อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 (Gamborg *et al*., 1968) (อาหารสูตร B5 [30]) และ (5) อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Lloyd & McCown woody plant (Lloyd and McCown, 1981) (อาหารสูตร WPM [30]) โดยอาหารเพาะเลี้ยงทั้ง 5 สูตรมีการเติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร พบว่า การเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสบนอาหารสูตร MSD [30] เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสม โดยมีค่าเฉลี่ยของยอด 1.5 ยอด และค่าเฉลี่ยความยาวยอด 2.1 เซนติเมตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยยอดที่ได้มีความแข็งแรง อีกทั้งยังมีใบสีเขียวที่แข็งแรง และมีขนาดใหญ่กว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่นๆ

การศึกษาเพื่อประเมินผลของชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด 6-benzylaminopurine (BAP) และ thaidizuron (TDZ) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ต่อการเจริญและการเพิ่มปริมาณยอดของเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ จากผลการศึกษา พบว่า การเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร MSD [30] ที่เติม BAP มีแนวโน้มเล็กน้อยในการเพิ่มปริมาณยอด โดยการเติม BAP ที่ 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยของยอด เท่ากับ 1.7 – 2.0 ยอด ซึ่งสูงกว่าในชุดทดลองที่ไม่เติม BAP ที่มีค่าเฉลี่ยของยอด เท่ากับ 1.3 ยอด การเติม BAP ให้ผล

อย่างชัดเจนต่อการเจริญเติบโตของยอดเสาวรส โดยการเติม BAP ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความยาวยอดที่สูงที่สุดที่ 3.8 เซนติเมตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยยอดและใบพืชที่ได้มีความแข็งแรง แม้ว่าในการเพาะเลี้ยงที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด TDZ ให้ผลในการส่งเสริมการเพิ่มปริมาณยอด แต่ยอดที่ได้มีการเจริญที่ช้า มียอดขนาดเล็ก และไม่แข็งแรง

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอดเสาวรสในครั้งนี้ พบว่า ยอดที่ทำการเพาะเลี้ยงเกือบทั้งหมดไม่มีการเกิดรากขึ้นได้เอง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีขั้นตอนในการชักนำราก โดยจากผลการศึกษาพบว่า เมื่อนำยอดที่แข็งแรงที่มีความยาวยอด 2.5–3.0 เซนติเมตร ย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารพื้นฐานสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถชักนำให้ยอดเกิดรากได้โดยมีอัตราการเกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งยอดเกือบทั้งหมดได้รับการชักนำให้เกิดเฉพาะรากเท่านั้น โดยไม่มีการเกิดแคลลัส และต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมีความแข็งแรง

วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสเพื่อผลิตต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัสได้เสนอดังแสดงในภาพที่ 20 โดยมีขั้นตอนที่สำคัญ ได้แก่ (1) การคัดเลือกและรวบรวมยอดเสาวรสหวานเบอร์ 2 ที่มีความสมบูรณ์ และไม่มีอาการของโรคจากไวรัส (2) การเตรียมชิ้นส่วนพืชสำหรับการเพาะเลี้ยง โดยการฟอกฆ่าเชื้อ และทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเริ่มต้น (3) ทำการเพาะเลี้ยงเพื่อการเจริญและการเพิ่มปริมาณยอด และ (4) การชักนำให้เกิดรากและการย้ายต้นอ่อนออกปลูก และการประยุกต์ใช้การผลิตต้นกล้าเสาวรสโดยผ่านการต่อยอด (grafting) เพื่อการผลิตต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัสได้ แสดงขั้นตอนในภาพที่ 21 โดยสามารถใช้ยอดเสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ไม่จำเป็นต้องผ่านการเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้ยอดเกิดราก) ทำหน้าที่เป็นกิ่งพันธุ์ดี (scion) และใช้ต้นเสาวรสปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเมล็ดทำหน้าที่เป็น ต้นตอ (stock or rootstock)

4. สรุป

ความเข้มข้นของซูโครส ชนิดของอาหารเพาะเลี้ยง และสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินและออกซินที่มีต่อการชักนำและการเพิ่มปริมาณในการเกิดยอด การชักนำให้เกิดราก และการเจริญของต้นอ่อนเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยในการศึกษานี้ พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงสูตรดัดแปลงจากสูตรมาตรฐาน MS โดยมีการใช้ FeNa-EDDHA แทนการใช้ $FeSO_4.7H_2O$ และ $Na_2.EDTA.2H_2O$ ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงยอดของเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ในสภาพปลอดเชื้อ เนื่องจากยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมีค่าเฉลี่ยความยาวยอดที่สูงที่สุด โดยยอดและใบที่ได้มีความแข็งแรง อย่างไรก็ตามยอดเสาวรสที่ได้เกือบทั้งหมดจากการเพาะเลี้ยงไม่มีการเกิดรากขึ้นได้เอง จึงจำเป็นต้องมีขั้นตอนในการชักนำราก ซึ่งสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ยอดเสาวรสเกิดราก คืออาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการศึกษาครั้งนี้ได้เสนอวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสเพื่อจัดเตรียมต้นกล้าแม่

พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส และการผลิตต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัสโดยผ่านการต่อยอด (grafting) ดังแสดงวิธีการในภาพที่ 20 และ 21 ตามลำดับ

Executive Summary

1. Introduction

Passion fruit is a vine species of the Passifloraceae family. The popular commercial varieties of passion fruit are the purple-skinned *Passiflora edulis* and the yellow-skinned *P. flavicarpa*. In Thailand, the passion fruit species No.2, with purple-skinned, was selected and promoted by the Royal Project Foundation. The dominant characteristics of the passion fruit No.2 are of the large size, high productivity, sweet taste and rich of aroma. However, the passion fruit No.2 cultivation has major problems according to the "passion fruit woodiness virus (PWV)" disease caused by a species of potyvirus in seeding. The disease reduces the yield and the fruit quality.

Plant tissue culture is utilized as an effective technique for producing large numbers of identical copies of a plant from its mother plant and this techniques can be applied to virus-free plant production. In order to produce virus-free plantlets, the mother plants, as initiated explants, must be healthy and completely free of virus and other diseases. Thus, the selection of good mother plants is the first vital step for virus-free plant production. From recently our results in 2015, the survey data about passion fruit planting in 8 farms from different planting areas in Research Stations of the Royal Project Foundation (RPF) showed that most passion fruit trees had various symptoms of virus infection, including leaf and fruit mosaic, leaf curl and leaf abnormal formations. From the selection and collection of virus-free shoots of passion fruit, 720 healthy shoots were obtained and then cultivated by grafting method. We found that more than 90 percent of passion fruit trees were infected by viruses within 2 month after cultivation. However, 9 samples were identified as the virus-free plant by ELISA technique. Furthermore, surface sterilization with 5% (v/v) clorox solution and 0.1% (v/v) Tween-20 on a shaker or a sonicator for 10 minutes were the effective procedure resulting in the low percentage of contamination and the highest percentage of explant forming shoots (Srirat *et al.,* 2015).

In the *in vitro* cultivation, the suitable of media culture and plant growth regulators are of great importance factors for growth and development, shoot multiplication and root induction in case of spontaneous rooting did not occur.

The aim of this study was to investigate the micropropagation method for the production of virus-free passion fruit No.2.

2. Obiective

The sub-project 2:“Research of micropropagation method for the production of virus-free passion fruit” is under the project “Research and development of production of disease-free passion fruit plants”. This sub-project is a two-year long project. In the second year, the objectives were to investigate the effect of sucrose concentration, media fomulars and plant growth recgulators on shoot cultivation and multiplication and root induction which will be useful for producing of virus-free passion fruit No.2.

3. Results and discussion

In the micropropagation of passion fruit No.2, sterilize shoots were used as initial explants and were cultured on semi-solid basal MS medium (Murashige and Skoog, 1962) containing various concentrations of sucrose (15, 30 and 60 g/L) for 8 weeks. The results showed that MS medium containing 15 g/L of sucrose induced the numbers of new shoot (2.0 shoots/explant) which was higher than other concentrations. However, the obtained shoots from MS medium containing 30 g/L of sucrose had healthy and higher length of shoot and healthy green and larger size of leaves comparison to other concentrations.

The media component had effect on *in vitro* growth of plantlets. In this experiment, five formulas media including (1) basal Murashige and Skoog medium (MS [30] medium), (2) modified Murashige and Skoog medium supplement which B5 vitamin (MSB [30] medium), (3) modified Murashige and Skoog medium supplement with Fe as a chelate from FeNa-EDDHA instead of $FeSO_4.7H_2O$ and $Na_2.EDTA.2H_2O$ (Van der Salm *et al*., 1994) (MSD [30] medium), (4) Gamborg B5 medium (Gamborg *et al*., 1968) (B5 [30] medium) and (5) Lloyd & McCown woody plant (Lloyd and McCown, 1981) (WPM [30] medium) were evaluated. All formulars containing 30 g/L of sucrose. The suitable culture medium formula for shoot cultivation was obtained from the MSD [30] medium. From this formula, the average numbers of shoots per

explant was 1.5 and the average shoot length was 2.1 cm after 8 weeks of cultivation. Moreover, the obtained shoots from this condition were healthy shoot and the leaves were healthy green and larger size in comparison to other formulars.

In the experiment of evaluation of effect of the exogenous cytokinin types such as 6-benzyl aminopurine (BAP) and thidiazuron (TDZ) at different concentrations on *in vitro* growth and shoot multiplication of passion fruit No.2, the results showed that the cultivation on MSD [30] medium supplement with BAP showed a small tend to increasing number of multiple shoot. The addition of BAP at 1–3 mg/L into the medium resulted in the higher average number of shoots (1.7–2.0 shoots per explants) than the medium with no BAP addition (1.3 shoots per explants). The influence of BAP showed clearly effect on *in vitro* growth and development of explants. The supplemention of with suitable concentration of BAP at 1 mg/L resulted in the highest average of shoot length (3.8 cm) and the healthy shoots and leaves were obtained after 8 weeks of cultivation. Although the treatments with TDZ had possitive effect on shoot multiplication, the shoots had grew slowly and had small size with unhealthy appearance.

In these cultivations, spontaneous rooting was not occurred in all most of the obtained shoots. Thus, the root induction step is nessessery for micropropagation of passion fruit No.2. The results revealed that transferring of ~2.5–3 cm long of healthy shoot to basal MS medium supplement with 0.5 mg/L indole-3-butyric acid (IBA) for 4 weeks can induce root formation with 70% rooting rates. From this condition, all most of shoots has been only root induction without callus formation and the plantlets were obtained had healthy.

The micropropagation method for the production of virus-free passion fruit was shown in figure 20. The method involves major four stages: (1) selection and collection of virus-free passion fruit shoots as a source of explants (2) explant preparation, sterilization and initiation of cultures (3) shoot elongation and multiplication and (4) induction of root and transferation to soil. The application of grafting for the production of virus-free passion fruit was showed in figure 21. *In vitro* shoot derived from virus-free passion fruit explants were used as scion and seedling of virus-free passion fruit were used as root stock.

4. Conclusions

The several factors including sucrose concentration, medium fomulars and plant growth regulators influence on shoot growth and multiplication and root induction step of passion fruit No.2. micropropagation. From the results, the suitable condition for shoot cultivation was obtained from the modified Murashige and Skoog medium supplement with Fe as a chelate from FeNa-EDDHA instead of $FeSO_4.7H_2O$ and $Na_2.EDTA.2H_2O$ containing 30 g/L of sucrose (MSD [30] medium) and supplement with 1 mg/L BAP. In these conditions had the highest average of shoot length and obtained the plantlet has healthy shoots and leaves after 8 weeks of cultivation. However, spontaneous rooting was not occurred in all most of the obtained shoots. The root induction step is necessary for micropropagation of passion fruit No.2. From the results, the suitable of root induction medium was the semisolid basal MS medium supplement with 0.5 mg/L IBA. In this study, we propose the method of micropropagation and the application of grafting for the production of virus-free passion fruit as shown in figure 20 and 21 respectively.

Highland Research and Development Institute (Public Organization)

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
คณะผู้วิจัย	ข
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	ค
Executive Summary	ช
สารบัญ	-1-
สารบัญตาราง	-2-
สารบัญภาพ	-4-
บทคัดย่อ	-6-
Abstract	-7-
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	11
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล	15
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	46
เอกสารอ้างอิง	48
ภาคผนวก องค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง	51
ตารางสรุปเปรียบเทียบผลงานวิจัยกับแผนงานวิจัย	56

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

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	สูตรอาหารที่ใช้ในการศึกษา	18
ตารางที่ 2	การชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของยอดเสาวรสที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 15 30 และ 60 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์	22
ตารางที่ 3	การชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของยอดเสาวรสที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่แตกต่างกัน โดยอาหารทุกสูตรเติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์	24
ตารางที่ 4	สูตรอาหารที่ใช้ในการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอด การเพิ่มปริมาณยอด และการเจริญของต้นอ่อนเสาวรส	25
ตารางที่ 5	การชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของยอดเสาวรสที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์	26
ตารางที่ 6	การชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของยอดเสาวรสที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด TDZ ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์	29
ตารางที่ 7	สูตรอาหารที่ใช้ในการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีต่อการเกิดรากของต้นอ่อนเสาวรส	33
ตารางที่ 8	ผลของการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MSD^{+}) ร่วมกับออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 1)	34

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 9	ผลของการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS^{+}) ร่วมกับออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 1)	36
ตารางที่ 10	ผลของการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2)	37
ตารางที่ 11	ผลของการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2)	24

		หน้า
ตารางภาคผนวกที่ 1	องค์ประกอบของอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)	51
ตารางภาคผนวกที่ 2	อาหารเพาะเลี้ยงสูตรดัดแปลงจากสูตร MS โดยการเติม Gamborg vitamins (MSB) (Murashige and Skoog, 1962; Gamborg *et al*., 1968)	52
ตารางภาคผนวกที่ 3	องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงสูตรดัดแปลงจากสูตร MS (MSD) (Van der Salm *et al*., 1994)	53
ตารางภาคผนวกที่ 4	องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 (B5) (Gamborg *et al*., 1968)	54
ตารางภาคผนวกที่ 5	องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Lloyd & McCown woody plant basal medium (WPM) (Lloyd and McCown, 1981)	55

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	เสาวรส (ก) ดอกเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 และ (ข) ผลของเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ปลูกโดยใช้ระบบค้างแบบผืน	5
ภาพที่ 2	การปลูกเลี้ยงต้นเสาวรสที่ใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการทดลอง โดยทำการปลูกเลี้ยงในโรงเรือนเพื่อการอนุบาลพืช คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	15
ภาพที่ 3	การปลูกเลี้ยงต้นเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการทดลอง โดยทำการปลูกเลี้ยงในโรงเรือนของสถานีเกษตรหลวงปางดะ จังหวัดเชียงใหม่	16
ภาพที่ 4	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ใช้เป็นยอดเริ่มต้นบนเพาะเลี้ยงเพื่อการทดสอบสูตรอาหาร	18
ภาพที่ 5	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารทดสอบสูตรต่างๆ เป็นเวลา 2 สัปดาห์	19
ภาพที่ 6	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารทดสอบสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	20
ภาพที่ 7	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารทดสอบสูตรต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์	21
ภาพที่ 8	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารทดสอบสูตรต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์	22
ภาพที่ 9	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์	27
ภาพที่ 10	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์	28

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 11	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด TDZ ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์	30
ภาพที่ 12	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด TDZ ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์	31
ภาพที่ 13	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MSD^{+}) ร่วมกับออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 1)	34
ภาพที่ 14	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS^{+}) ร่วมกับออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 1)	36
ภาพที่ 15	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2)	37
ภาพที่ 16	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [0.5]) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2)	39

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 17	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [1]) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2) โดย (ก) และ (ข) เป็นตัวอย่างยอดที่มีการเกิดรากร่วมกับการเกิดแคลลัส	40
ภาพที่ 18	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [2]) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2) โดย (ก) เป็นตัวอย่างยอดที่มีการเกิดรากร่วมกับการเกิดแคลลัส และ (ข) เป็นตัวอย่างยอดที่มีการเกิดรากโดยไม่มีการเกิดแคลลัส	41
ภาพที่ 19	ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [3]) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2) โดย (ก) เป็นตัวอย่างยอดที่มีการเกิดรากร่วมกับการเกิดแคลลัส และ (ข) เป็นตัวอย่างยอดที่มีการเกิดรากโดยไม่มีการเกิดแคลลัส	42
ภาพที่ 20	วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสเพื่อจัดเตรียมต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส	45
ภาพที่ 21	วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสและการผลิตต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส โดยการต่อยอดเสาวรส (grafting)	46

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

บทคัดย่อ

เสาวรส (Passion fruit) เป็นไม้ผลประเภทไม้เลื้อย จัดอยู่ในพืชตระกูล Passifloraceae ในประเทศไทยเสาวรสหวานเบอร์ 2 เป็นเสาวรสชนิดผลสีม่วงที่ได้รับการคัดเลือกและส่งเสริมจากมูลนิธิโครงการหลวงเพื่อให้เป็นเสาวรสสำหรับรับประทานสด ลักษณะเด่นของเสาวรสหวานเบอร์ 2 ได้แก่ ผลมีขนาดใหญ่และให้ผลผลิตสูง มีรสชาติหวานและมีกลิ่นหอม อย่างไรก็ตามการปลูกเสาวรสหวานเบอร์ 2 ประสบปัญหาอย่างมากเนื่องจากการระบาดของโรคที่เกิดจากเชื้อ Passion fruit woodiness virus (PWV) ในต้นกล้าเสาวรส ซึ่งโรคนี้เกิดความเสียหายโดยตรงต่อผลของเสาวรส จึงทำให้ผลผลิตและคุณภาพของเสาวรสลดต่ำลง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นเทคนิควิธีหนึ่งที่ได้รับการยอมรับว่ามีประสิทธิภาพในการใช้เพื่อการผลิตต้นพันธุ์พืชจำนวนมากที่มีคุณลักษณะตรงตามต้นแม่พันธุ์ และสามารถประยุกต์เพื่อใช้ผลิตต้นพันธุ์ที่มีความปลอดโรคได้ การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับการผลิตต้นแม่พันธุ์เสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส ในการศึกษานี้ พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตรดัดแปลงจากสูตรมาตรฐาน MS โดยมีการใช้ FeNa-EDDHA แทนการใช้ $FeSO_4.7H_2O$ และ $Na_2.EDTA.2H_2O$ ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงยอดของเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ในสภาพปลอดเชื้อ เนื่องจากยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมีค่าเฉลี่ยความยาวยอดที่สูงที่สุด โดยยอดและใบที่ได้มีความแข็งแรง อย่างไรก็ตามยอดเสาวรสที่ได้เกือบทั้งหมดจากการเพาะเลี้ยงไม่มีการเกิดรากขึ้นได้เอง จึงจำเป็นต้องมีขั้นตอนในการชักนำราก ซึ่งสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ยอดเสาวรสเกิดราก คืออาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสเพื่อผลิตต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส มีขั้นตอนหลัก 4 ขั้นตอน ได้แก่ (1) การคัดเลือกและรวบรวมยอดเสาวรสหวานเบอร์ 2 ที่มีความสมบูรณ์ และไม่มีอาการของโรคจากไวรัส (2) การเตรียมชิ้นส่วนพืชสำหรับการเพาะเลี้ยง โดยการฟอกฆ่าเชื้อ และทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเนื้อเยื่อเริ่มต้น (3) ทำการเพาะเลี้ยงเพื่อการเจริญและการเพิ่มปริมาณยอด และ (4) การชักนำให้เกิดรากและการย้ายต้นอ่อนออกปลูก และในกรณีที่ทำการปลูกเลี้ยงเสาวรสโดยการต่อยอดเสาวรส (grafting) สามารถทำได้โดยใช้ยอดเสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคที่แข็งแรงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ไม่จำเป็นต้องผ่านการเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้ยอดเกิดราก) ทำหน้าที่เป็นกิ่งพันธุ์ดี (scion) ได้ และใช้ต้นเสาวรสปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเมล็ดทำหน้าที่เป็น ต้นตอ (stock or rootstock)

Abstract

Passion fruit is a vine species of the Passifloraceae family. In Thailand, the passion fruit species No.2, with purple-skinned, was selected and promoted by the Royal Project Foundation. The dominant characteristics of the passion fruit No.2 are of the large size, high productivity, sweet taste and rich of aroma. However, the passion fruit No.2 cultivation has major problems according to the “passion fruit woodiness virus (PWV)” disease caused by a species of potyvirus in seeding. The disease reduces the yield and the fruit quality. Plant tissue culture is utilized as an effective technique for producing large numbers of identical copies of a plant from its mother plant and this techniques can be applied to virus-free plant production. This research aimed to investigate the suitable micropropagation method for production of virus-free passion fruit. From the results, the suitable condition for shoot cultivation was obtained from the modified Murashige and Skoog medium supplement with Fe as a chelate from FeNa-EDDHA instead of $FeSO_4.7H_2O$ and $Na_2.EDTA.2H_2O$ containing 30 g/L of sucrose (MSD [30] medium) and supplement with 1 mg/L BAP. In these conditions had the highest average of shoot length and obtained the plantlet has healthy shoots and leaves after 8 weeks of cultivation. However, spontaneous rooting was not occurred in all most of the obtained shoots. The root induction step is nessessery for micropropagation of passion fruit No.2. From the results, the suitable of root induction medium was the semisolid basal MS medium supplement with 0.5 mg/L IBA. The micropropagation method for the production of virus-free passion fruit involves major four stages: (1) selection and collection of virus-free passion fruit shoots as a source of explants (2) explant preparation, sterilization and initiation of cultures (3) shoot elongation and multiplication and (4) induction of root and transferation to soil. In case of the grafting for the production of virus-free passion fruit, it can be use the in vitro healthy shoot derived from virus-free passion fruit explants were used as scion and seedling of virus-free passion fruit were used as root stock.