การคัดเลือกต้นยาสูบ (Nicotiana tabacum L.) ที่ต้านทานโรคดากบโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

นางสาวเพ็ญผกา โพธิ์เรือง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาพฤกษศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2534

ISBN 974-579-028-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

017905 1172997 56

SELECTION OF TOBACCO (*Nicotiana tabacum* L.) FOR FROGEYE DISEASE RESISTANCE THROUGH PLANT TISSUE CULTURE

Miss Phenpaga Poreang

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Department of Botany
Graduate School
Chulalongkorn University
1991

ISBN 974-579-028-1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การคัดเลือกต้นยาสูบ (Nicotiana tabacum L.) ที่ต้านทานโรคดากบ โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

โดย นางสาวเพ็ญผกา โพธิ์เรียง

สาขาวิชา พฤกษศาสตร์

ภาควิชา พฤกษศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ นาฏฉลวย หลายชูไทย

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.กาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ นาฏฉลวย หลายชูไทย)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อรุณี จันทรสนิท)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

เพ็ญผกา โพธิ์เรือง : การคัดเลือกต้นยาสูบ (Nicotiana tabacum L.) ที่ต้านทานโรคตากบโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (SELECTION OF TOBACCO NICOTIANA TABACUM L. FOR FROGEYE DISEASE RESISTANTCE THROUGH PLANT TISSUE CULTURE) อ.ที่ปรึกษา : รศ.นายฉลวย หลายชูไทย, 110 หน้า. ISBN 974-579-028-1

การคัดเลือกต้นยาสูบ (Nicotiana tabacum L.) พันธุ์เวอร์จิเนีย โคเกอร์ 347 เพื่อให้ได้ต้นที่ต้านทานโรคตากบ (frogeye) ทำโดยการนำส่วนของลำต้น, ก้านใบ และใบมาเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่ดัดแปลงจากสูตร ของ Murashige และ Skooge (1962) ต้นใหม่ที่เกิดจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อเมื่อนำไปทดสอบด้วย spore suspension ของเชื้อรา Cercospora nicotianae Ell & Ev. ที่มีจำนวนสปอร์ 40 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร ได้ต้นยาสูบที่สามารถต้านทานโรคสูง(ระดับ 2) ถึง 4 เปอร์เซ็นต์ แต่ต้นที่เพาะจากเมล็ดโดยตรงไม่ต้านทานโรค และเมื่อนำต้นที่ต้านทานโรคสูงมาเลี้ยงเนื้อเยื่ออีกครั้งหนึ่ง แล้วนำไปทดสอบซ้ำต้นที่ได้ยังคงรักษาความต้านทานนั้นไว้ได้มี 3.33 เปอร์เซ็นต์

สำหรับการคัดเลือกแคลลัสที่ต้านทานต่อ spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 30 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร ปรากฏว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดตายของแคลลัสถึง 16 เปอร์เซ็นต์ และเจริญเป็นต้นได้ 3.25 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนำออกปลูกเป็นต้นแล้วแล้วทดสอบซ้ำด้วย spore suspension พบว่าได้ต้นยาสูบที่มีความต้านทานโรคปานกลาง(ระดับ 3) ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์

ในทำนองเดียวกันได้ทดลองใช้สารพิษที่สกัดจากเชื้อรา C. nicotianae Ell &Ev. ในความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (2 กรัมในน้ำ 100 มิลลิลิตร) ผสมลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงแคลลัส พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดตายประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ และเจริญเป็นต้นได้ 5.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อใช้สารพิษเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีแคลลัสรอดตาย 12 เปอร์เซ็นต์ และเจริญเป็นต้นได้ 3.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำต้นที่รอดตายออกปลูก แล้วทดสอบซ้ำด้วย spore suspension ต้นพืชที่ได้จากแคลลัสซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีสารพิษ เข้มข้น 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความต้านทานโรคปานกลางประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ และต้านทานสูงประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำต้นที่ต้านทานโรคจากการทดลองนี้ไปนับจำนวนโครโมโซมพบว่าไม่มีความผิดปกติ คือยังมีจำนวนโครโมโซม 48 แท่ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา พฤกษศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต เพ็ญผกา โพธิ์เรือง

สาขาวิชา พฤกษศาสตร์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ฉลวย หลายชูไทย

ปีการศึกษา 2533 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

PHENPAGA POREANG : SELECTION OF TOBACCO NICOTIANA TABACUM L. FOR FROGEYE DISEASE RESISTANT THROUGH PLANT TISSUE CULTURE,THESIS ADVISOR: ASS.PROF.NATCHALUAY LAIXUTHAI 110 PP. ISBN 974-579-028-1.

Selection of frogeye disease resistance in tobacco (Nicotiana tabacum L.) was conducted by culturing tissue from stem, petiole and leave of variety Virginia Coker 347 on modified Murashige and Shooge medium. Regenerated plants were tested with $40 \times 2.5 \times 10^5$ spores/100 ml. spore suspension of Cercospora nicotianae Ell & Ev. Results showed that 4 % of the rgenerated plants were resistant to these disease as compared with normal seedings. When the resistant plants were cultured and reinnoculated, 3.33 % remained resistant.

In other experiment, spore suspension with $30 \times 2.5 \times 10^5$ spores / 100 ml. was applied in the callus stage for selection, the percentage of survival and regeneration were 16 % and 3.25 % respectively. After planting and testing again with spore suspension, there were about 20 % resistant plants

Similar test was also conducted by using 2 % (2 g / 100 ml.) of the prepared fungal toxin instead of spore suspension. About 16 % of the callus survied of with 5.5 % regenerated into plants. If the fungal toxin concentration was increased to 4 % the percentages of survival and regeneration were decreased to 12 % and 3.5 %, respectively. The survived plants was planted and reinoculate with 40 % spore suspension. Regenerated plants from callus culture treated with 2 % and 4 % toxin could withstand the disease about 30 % and bight resistant about 5 %, respectively. The somatic cell of these consisted of the normal 48 chromosomes and no abberation was observed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา พฤกษศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต เพ็ญตา เพ็งเจริญ

สาขาวิชา พฤกษศาสตร์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ณัฐชัย หล่อไทย

ปีการศึกษา 2533 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ด้วยความกรุณา แนะนำปรึกษา ให้ข้อคิดเห็น แก้ปัญหาอุปสรรคต่างๆตลอดจนตรวจสอบความถูกต้อง และแก้ไขวิทยานิพนธ์จากรองศาสตราจารย์ นาฏฉลวย หลายชูไทย อาจารย์ที่ปรึกษา ขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้ กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อรุณี จันทรสนิท ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิพัฒน์ พัดนผลไพบูลย์ ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไข และให้คำแนะนำต่างๆทำให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ขึ้น กราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ มนทกานติ วัชราภัย ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ ห้องปฏิบัติการเลี้ยงเนื้อเยื่อ พระยาอนุกูลสยามกิจฯ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ และให้คำแนะนำปรึกษาเกี่ยวกับเทคนิค การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบ กราบขอบพระคุณ อาจารย์มานพ แก้วกำเนิด รองผู้อำนวยการโรงงานยาสูบ ที่ได้กรุณาให้เมล็ดพันธุ์ยาสูบ จากสถานีทดลองยาสูบแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

ขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่ให้ทุนการศึกษาบางส่วน กราบขอบพระคุณบิดา-มารดา ที่ท่านได้ให้กำลังใจ และสนับสนุนด้านการเงิน ขอบคุณ ร.ต.อ.สรเสริญ ใช้สถิตย์ ที่เป็นกำลังใจและให้ทุนการศึกษา ตลอดจนขอบคุณเพื่อนๆ และน้องๆ ที่ให้ความช่วยเหลือด้วยดีเสมอมา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ช

สารบัญภาพ..... ฎ

สารบัญแผนภูมิ..... ฑ

สารบัญภาคผนวก..... ฒ

บทที่

1. บทนำและการสำรวจเอกสาร..... 1
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการทดลอง..... 19
3. ผลการทดลอง..... 29
4. อภิปรายผล..... 77
5. สรุปผลการทดลอง..... 84

เอกสารอ้างอิง..... 86

ภาคผนวก..... 96

ประวัติผู้เขียน..... 110

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงขนาดของแคลลัสและจำนวนต้นที่เกิดขึ้นขณะชักนำให้เกิดแคลลัสจากส่วนต่างๆของต้นกล้ายาสูบอายุ 6 สัปดาห์	37
2	เปรียบเทียบน้ำหนักของแคลลัสที่เจริญจากส่วนของก้านใบเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง MS สูตรชักนำต้น	40
3	แสดงจำนวนต้นใหม่ที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่เจริญจากส่วนของก้านใบ ในอาหารกึ่งแข็ง MS สูตรชักนำต้น....	42
4	ลักษณะของต้นยาสูบที่เกิดจากแคลลัสในอาหาร MS สูตรชักนำราก.....	43
5	ต้นยาสูบที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อนำออกปลูกภายนอก..	43
6	แสดงขนาดโคโลนีของเชื้อรา C. nicotianae Ell & Ev. ที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง VJA สูตรดัดแปลง.....	49
7	เปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคระดับต่างๆบนใบยาสูบที่ได้จากการเพาะเมล็ด อายุ 60 วัน เมื่อทดสอบด้วย spore suspension ปริมาณต่าง ๆ.....	49
8	เปรียบเทียบการเกิดโรค (จำนวนแผล) บนใบยาสูบที่ได้จากการเพาะเมล็ด อายุ 60 วัน ภายหลังทดสอบด้วย spore suspension ปริมาณต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน.....	50
9	เปรียบเทียบการเกิดโรค(จำนวนแผล)บนใบยาสูบที่ได้จากการเพาะเมล็ด อายุ 60 วัน ภายหลังทดสอบด้วย spore suspension ปริมาณต่างๆ เป็นเวลา 10 วัน.....	50
10	เปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคของต้นที่เกิดจากแคลลัส จำนวน 100 ต้น ภายหลังทดสอบด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 40 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร...	52
11	ต้นยาสูบที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อนำออกปลูกภายนอกเป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	52

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
12	เปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคระดับต่างๆ ของต้นที่เกิดจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นที่ต้านทานโรคระดับ 2 ภายหลังทดสอบด้วยspore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 40 x2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร.....	54
13	แสดงจำนวนแคลลัสที่เหลือรอด และที่สามารถเจริญเป็นต้นได้จาก LD_{50} ภายหลังจากใส่ spore suspensionของเชื้อรา C. nicotianae Ell & Ev. ปริมาณต่าง ๆ เป็นเวลา 7 วัน	59
14	แสดงน้ำหนักของเส้นใย และสารพิษที่สกัดได้จาก เชื้อรา C. nicotianae Ell & Ev. ที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง ปริมาณ 500 มิลลิลิตร นาน 3 สัปดาห์.....	59
15	เปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคระดับต่าง ๆ ภายหลังทดสอบสารพิษบนใบของต้นยาสูบที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุ 60 วัน เป็นเวลา 7 วัน.....	66
16	เปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคระดับต่างๆ ภายหลังทดสอบสารพิษบนใบยาสูบ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน..	66
17	แสดงจำนวนแคลลัสที่เหลือรอด และที่สามารถเจริญเป็นต้นได้จากLD$_{50}$ภายหลังจากใส่สารพิษของเชื้อรา C. nicotianae Ell & Ev. ความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 10 วัน.....	68
18	เปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคระดับต่างๆของต้นที่เกิดจากแคลลัสที่ต้านทาน spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 30 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร ภายหลังทดสอบความต้านทานซ้ำด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 40 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร.....	68

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
19	เปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคระดับต่างๆของต้นที่เกิดจากแคลลัสที่ต้านทานสารพิษ เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังทดสอบความต้านทานซ้ำด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ $40 \times 2.5 \times 10^5$ สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร.....	73
20	เปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคระดับต่างๆของต้นที่เกิดจากแคลลัสที่ต้านทานสารพิษ เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังทดสอบความต้านทานซ้ำด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ $40 \times 2.5 \times 10^5$ สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร.....	73

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ต้นกล้ายาสูบที่เพาะจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	35
2	แคลลัสและต้นใหม่ที่เกิดจากการเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้ายาสูบ ในอาหารกึ่งแข็ง MS สูตรชักนำแคลลัส เป็นเวลา 2 สัปดาห์.....	35
3	แคลลัสและต้นใหม่ที่เกิดจากการเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้ายาสูบ ในอาหารกึ่งแข็ง MS สูตรชักนำแคลลัส เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	36
4	แคลลัสและต้นใหม่ที่เกิดจากการเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้ายาสูบ ในอาหารกึ่งแข็ง MS สูตรชักนำแคลลัสส เป็นเวลา 6 สัปดาห์.....	36
5	ต้นใหม่ที่เกิดจาก การเลี้ยงแคลลัสเจริญจากส่วนของก้านใบที่สับเป็นชิ้นเล็ก ๆ ในอาหาร MS สูตรชักนำต้น	41
6	ต้นยาสูบที่เกิดจากแคลลัสที่เจริญจากส่วนของก้านใบ.....	44
7	ต้นยาสูบที่เกิดจากแคลลัสที่เจริญจากส่วนของลำต้น.....	45
8	ต้นยาสูบที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	45
9	แสดงอาการของโรคดากบบนใบยาสูบ.....	46
10	ลักษณะของเชื้อรา Cercospora nicotianae Ell & Ev. ที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง VJA สูตรดัดแปลง อายุ 7 วัน.....	47
11	ต้นยาสูบแสดงอาการ เป็นโรคดากบ ภายหลังทดสอบด้วย spore suspension ปริมาณต่างๆ.....	48
12	ต้นใหม่ที่เกิดจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นที่เกิดโรคระดับ 2 .	48
13	ต้นยาสูบ ที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นที่เกิดโรคระดับ 2 หรือมีความต้านทานโรคสูง.....	53
14	ลักษณะของแคลลัสที่ใช้คัดเลือกความต้านทานโรค.....	60
15	แคลลัสที่เหลือรอด จากการใส่ สารพิษ และ spore suspension เมื่อเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง MS สูตรชักนำต้น..	60

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	ต้นที่เกิดจากการเลี้ยงแคลลัสที่เหลือรอด จากการใช้ spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 30 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร.....	61
17	ลักษณะผิดปกติของต้นยาสูบ ที่เกิดจากการเลี้ยงแคลลัสที่เหลือรอดจากการใส่ spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 30 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร.....	62
18	ลักษณะของเชื้อรา C. nicotianae Ell & Ev. ที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง MA เพื่อการสกัดสารพิษ.....	63
19	การสกัดสารพิษจากเชื้อรา C. nicotianae Ell & Ev...	64
20	การระเหยสารที่สกัดได้จากเชื้อรา C. nicotianae Ell & Ev.....	64
21	ต้นยาสูบแสดงอาการจุด และเหี่ยว ภายหลังทดสอบด้วยสารพิษความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน.....	65
22	เปรียบเทียบลักษณะอาการเป็นโรคมาก ระดับ 5 ภายหลังทดสอบ ด้วยสปอร์ (ก) และสารพิษ (ข) เป็นเวลา 7 วัน..	65
23	ลักษณะของต้นยาสูบที่เกิดจาก การเลี้ยงแคลลัสที่เหลือรอดจากการใส่สารพิษเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เทียบกับ control...	69
24	ลักษณะของต้นยาสูบที่เกิดจา การเลี้ยงแคลลัสที่เหลือรอดจากการใส่สารพิษ เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ เทียบกับ control..	70
25	ต้นใหม่ที่สมบูรณ์จากการเลี้ยงแคลลัสที่เหลือรอด จากการใส่สารพิษ เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์.....	71
26	ลักษณะของต้นที่เกิดจากการเลี้ยงแคลลัสที่เหลือรอดจากการใส่สารพิษ.....	71
27	ต้นปกติที่เกิดจากแคลลัสที่ต้านทาน เมื่อนำออกปลูก ในสภาพธรรมชาติ.....	72
28	ต้นยาสูบแสดงอาการเป็นโรค ภายหลังทดสอบความต้านทานซ้ำเทียบกับ control.....	72

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
29	เปรียบเทียบอาการของโรคระดับ 2 หลังจากทดสอบความด้านทาน เป็นเวลา 10 วัน	75
30	โครโมโซมระยะ metaphase จากเซลล์ปลายรากของยาสูบ (N. tabacum L.).....	76

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่		หน้า
1	เปรียบเทียบปริมาณการเกิดแคลลัสขนาดต่างๆ จากส่วนของ ลำต้น ก้านใบและใบ เมื่อเลี้ยงในอาหาร MS.....	38
2	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิด และ การเจริญของแคลลัสที่ เกิดจากส่วนของ ลำต้น ก้านใบ และใบ เมื่อเลี้ยงในอาหาร MS เป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์.....	39
3	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคระดับต่างๆ ของต้น ยาสูบที่ได้จากการเพาะเมล็ด อายุ 60 วัน ภายหลังทดสอบ ด้วย spore suspension ปริมาณต่างๆ เป็นเวลา 10 วัน.	51
4	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคระดับต่างๆ ของต้น ที่เกิดจากแคลลัสจำนวน 100 ต้น และต้นที่เกิดจากการเลี้ยง เนื้อเยื่อครั้งที่ 2 ของต้นที่เกิดโรคระดับ 2 หรือมีความต้าน ทานโรคสูง จำนวน 30 ต้น ภายหลังทดสอบด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 40 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร เทียบกับ control ในเวลา 10 วัน.....	55
5	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคระดับต่างๆ ของต้น ยาสูบที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุ 60 วัน ภายหลังจากทดสอบ ด้วยสารพิษ ความเข้มข้นต่างๆ.....	67
6	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคระดับต่างๆ ของต้นที่ เกิดจากแคลลัสที่ต้านทาน spore suspension ที่มีจำนวน สปอร์ 30 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตรและต้นที่เกิด จากแคลลัสที่ต้านทานสารพิษ เข้มข้น 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังทดสอบด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 40 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตรเทียบกับcontrol ในเวลา 10 วัน.....	74

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาคผนวก

ภาคผนวก ก. หน้า

1 การเตรียมอาหาร

1.1 อาหารสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบ

ตาราง ก. สูตรอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส (MSC) สูตรชักนำให้เกิดต้น (MSS) และสูตรชักนำให้เกิดราก (MSR) 102

ตาราง ข. แสดงปริมาณ stock solution ที่ใช้ต่ออาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบ ปริมาณ 1 ลิตร และ อุณหภูมิที่ใช้เก็บ..... 103

1.2 อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อรา C. nicotiana Ell & Ev.

2 การเตรียมสารเคมีสำหรับการตรวจสอบโครโมโซม

3 ผลการทดสอบทางสถิติ

ตาราง ค. การวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการทดสอบหาปริมาณที่เหมาะสมในการทำให้เกิดโรค (จำนวนแผล) ด้วย spore suspension ปริมาณต่างๆ.. 104

ตาราง ง. แสดงค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ ค่าความคลาดเคลื่อน ของการทดสอบด้วย spore suspension ปริมาณต่างๆในการทำให้เกิดโรค.. 104

ตาราง จ. เปรียบเทียบการเกิดโรค (จำนวนแผล) ของต้นที่เจริญจากแคลลัส และจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นที่เกิดโรคระดับ 2 ภายหลังทดสอบความต้านทานซ้ำด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 40 x 2.5 x 10^{4} สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร..... 105

ตาราง ฉ. เปรียบเทียบการเกิดโรค (จำนวนแผล) ของต้นที่เกิดจากแคลลัส ที่ต้านทานสารพิษ 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังทดสอบความต้านทานซ้ำด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 40 x 2.5 x 10^{5} สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร..... 106

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาคผนวก(ต่อ)

ภาคผนวก ก. หน้า

ตาราง ช. เปรียบเทียบการเกิดโรค (จำนวนแผล) ของต้นที่เกิดจากแคลลัสที่ด้านทาน spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 30 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร และ ต้นที่เกิดจากแคลลัสที่ด้านทานสารพิษเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังทดสอบความด้านทานซ้ำด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 40 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร..... 107

ภาคผนวก ฆ

ตาราง ช. แสดงปริมาณ และ มูลค่าการส่งออกใบยาสูบทุกชนิด (รายประเทศ)..... 108

ตาราง ฌ. แสดงการจัดหา และ ซื้อใบยาทั้งภายใน และต่างประเทศของโรงงานยาสูบกระทรวงการคลัง..... 108

ตาราง ญ. เชื้อรา Cercospora sp. สาเหตุของโรคที่พบในประเทศไทย..... 109

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย