เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

กาหร่าย พลัง, วราภรณ์ อนันบุญทริก และวิลาวรรณ อุฐยาว, 2528. ศึกษาการถ่ายทอดความต้านทานต่อโรคดากบจากยาสูบป่า (Nicotiana repanda and N. debneyi). กระทรวงการคลัง : รายงานประจำปีฝ่ายวิจัย โรงงานยาสูบ.

คณิต กิตติโกวิท, 2527. โรคดากบของยาสูบ. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: 2527.

ค่า ผมพันธุ์ และวิลาวรรณ เลิศศรีวสุ, 2529 การใช้สารเคมีบางชนิดป้องกันและกำจัดโรคดากบในไร่ยาสูบ. เชียงใหม่ : กระทรวงการคลัง. รายงานประจำปีสถานีทดลองยาสูบแม่โจ้. ฝ่ายใบยา โรงงานยาสูบ.

ชไมพร กิตติธรรมกูล, 2531. การศึกษาเชื้อพาราสิตของเชื้อรา Cercospora cruenta Sacc. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทองพูน ศรีวรนารถ, 2502. การทดลอง fungicide บางชนิดกับ frogeye ของยาสูบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราภรณ์ อนันบุญทริก, กาหร่าย พลัง และวิลาวรรณ อุฐยาว, 2527. การศึกษาการเพาะเลี้ยงเรณูและเนื้อเยื่อยาสูบ, กระทรวงการคลัง : รายงานประจำปี ฝ่ายวิจัย โรงงานยาสูบ.

วิภาวรรณ กิติวัชระเจริญ, 2531. การตอนยอดและตอนหน่อยาสูบ, จดหมายข่าวพืชไร่นา, ฉบับที่ 1 ปีที่ 13.

เบญจา ค่าเมืองลือ และสมบูรณ์ ขยัน, 2531. เปรียบเทียบผลผลิตและคุณภาพของยาสูบเวอร์จิเนียบางพันธุ์เมื่อปลูกต้นฤดูฝนและปลายฤดูฝน, เชียงใหม่ : กระทรวงการคลัง, รายงานประจำปี สถานีทดลองยาสูบแม่โจ้ ฝ่ายใบยา โรงงานยาสูบ.

ฝ่ายใบอนุญาตและภาษี, 2532. ผลิตภัณฑ์ยาสูบ. กระทรวงการคลัง : เอกสารวิชาการ โรงงานยาสูบ.

พรทิพย์ ธนูทอง, อิวาโอะ ฟุระชาวา และมาชากิ ยามาโมโต, 2528. การผลิตพันธุ์ยายาสูบต้านทานโรคโดยการคัดเลือกแคลลัสเจริญจากโปรโตพลาสต์ซึ่งมีความทนทานต่อท็อกซินของเชื้อ Pseudomonas และ Alternaria . กรุงเทพฯ : รายงานการ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประชุมทางวิชาการครั้งที่ 23. ภาคโปสเตอร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เล่ม 1 หน้า 261-275.

พิบูลย์ มงคลสุข, 2523. โรคพืชวิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง, 302 หน้า.

ไพโรจน์ จำวงพานิช, 2522. หลักวิชาโรคพืช. กรุงเทพฯ : โรคพืชวิทยาฉบับที่ 1 ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มานพ แก้วกำเนิด และกาหร่าย พลัง, 2515. การหาความต้านทานของยาสูบพันธุ์ป่าบางชนิดต่อโรคตากบ, เชียงใหม่ : รายงานผลการทดลอง กองโรควิทยา สถานีทดลองยาสูบแม่โจ้.

_____. และอินทร์ทอง เมฆขยาย, 2525. โรคยาสูบเมืองไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 3. 60 หน้า.

สุนทรี วรผลิก และ วิมลมาศ พวงนาค, 2527. ยาสูบที่ใช้ผลิตบุหรี่ซิกาแรต. กระทรวงการคลัง : เอกสารวิชาการฉบับที่ 17. ฝ่ายวิจัย โรงงานยาสูบ. แก้ไขเพิ่มเติม ฉบับที่ 1.

อดิศักดิ์ บ้วนกียาพันธุ์, 2520. การสำรวจและศึกษาโรคพืชที่สำคัญในเขตลุ่มน้ำแม่กลอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 112 หน้า.

ภาษาอังกฤษ

Alexopoulos, J. and Mims, C.W. 1979. Subdivision Deuteromycotina Introductory. Mycology. Third edition. pp. 534-567.

Assante, G., Camarda, L., Merlini, L. and Nasini, G. 1977. Screening of the genus Cercospora for secondary metabolites. Phytochem. 16:243-247.

Balis, C. and Payne, M.G. 1971. Triglycerides and cercosporin from C. beticola. fungal growth and cercosporin production. Phytopathol. 61:1477-1484.

Behnke, M. 1980. General resistance to late blight of Solanum tuberosum plants regenerated from callus resistant to

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

culture filtrates of Phytophthora infestans. Thror. Appl. Genet 56 : 151-152.

Berlyn, M.b. 1980. Isolation and characterization of isonicotinic acid hydrazide-resistant mutants of Nicotiana tabacum. Theor Appl. Genet. 58:19-26.

Bilgrami, K.S. and Dube, H.C. 1976. Toxins and Plant diseases. A texbook of modern plant pathology. pp. 87-100.

Binding, H. 1972. Selection in Kalluskulturen mit haploiden Zellen. Zeitschrift fiir pflanzenziichtung. 67,33-38.

Brettel, R.I.S. and Ingram, D.S. 1979. Tissue culture in the production of novel disease resistant crop plants. Biol Rev. 54 : 329-345.

Buddenhagen, J. and Kelman, A. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial with caused by Pseudomonas solanacearum. Ann. Rev. Phytopathol. 2 : 203-230.

Carlson, P.S. 1970. Induction and Isolation of auxotrophic mutants in somatic cell culture of Nicotiana tabacum. Science 168 : 487-489.

_____. 1973. Methionine-sulfoximine-resistant mutants of tobacco. Science 180 : 1366-1368.

Chaleff, R.S. and Parsons. 1978. Direct selection in vitro for herbicide-resistant mutants of Nicotiana tabacum. Proc. Natl. Acad. Sci. Vol.10. 75 : 5104-5107.

Chupp, C. 1953. A monograph of the fungus genus Cercospora. Ithaca. pp.545-546. New York.

Darlington, C.D. and Wylies, A.P. 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. Georg Allen and Univer, London.

Daub, M.E. 1982. Cercosporin, a photosensitizing toxin from Cercospora sp. Phytopathol. 72 : 370-374.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

_____. 1986. Tissue Culture and the selection of resistance to pathogens. Ann. Rev. Phytopathol. 24 : 159-186.

Diachun, S. and Valleau, W.D. 1941. Conidial production in culture by C. nicotianae. Phytopathol. 41 : 97-98.

Digby, J. and Skoog, F. 1966. Cytokinin activation of Thiamine biosynthesis in Tabacco callus culture. Plant Physiol. 41 : 647-652.

Dhingra, O.D. and Sinclair, J.B. 1985. Basic plant pathology methods. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida pp. 355.

Dodds, J.H. and Roberts, L.W. 1982. Initiation and maintenance of callus. In experiments in plant tissue culture, st ed. 36-48. Cambridge university press.

Durand, J. 1987. Isolation of antibiotic resistant variants in a higher plant, Nicotianae sylvestris. Plant Science 51 : 113-118.

Ershoff, B.H., Wildman, S.G. and Kwanyuen, P. 1978. Biological evaluation of crystalline fraction-1-protein from tobacco. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 157 : 626-630.

Evans, D.A., Sharp, W.R. and Medina-Filho, H.P. 1984. Somaclonal and gametoclonal variation. An. J. Bot. 71 : 759-774.

Flashman, S.M., Meredith, C.P. and Howard, J.A. 1985. Selection for increased vernolate tolerance in tobacco (Nicotiana tabacam L. cell cultures. Plant Science 38 : 141-148

Flick, C.E., Evans, D.A. and Sharp, W.R. 1983. Organogenesis. In: Handbook of plant cell culture. Vol. 1 (Evans, D.A., Ammirato, P.V., Sharp, W.R. and Yamada, Y.) pp. 13-81. Macmillan: New York.

Gamborg., O.L. and Eveleigh, D.E. 1968. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. Can. J. Biochem. 46:417.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

_____. and Wetter, L.R. 1975. Plant tissue culture methods. Ottawa: National Research Council of Canada.

Gengenbach, B.G., Green, C.E. and Donovan, C.M. 1977. Inheritance of selected pathotoxin-resistance in maize plants regenerated from cell cultures. Proc. Natl. Acad. Sci. 74:5113-5117.

Griffin, M.J. and Coley-Smith, J.R. 1968. The establishment of hop tissue cultures and their infaction by downy mildew Pseudo peronospora humuli. Miy & Tak. under aseptic conditions. J. Can. Microbial. 53:231-236.

Harada, H. 1975. In vitro organ culture of Actinidia chinensis Pl. as a technique for vegetative multiplication. J.Hortic. Sci. 50:81.

Hartman, C.L., McCoy, T.J. and Knous, T.R. 1984. Selection of alfalfa (Medicago sativa) cell lines and regeneration of plants resistant to the toxin. produced by Fusarium oxysporum f. sp. medicaginis. Plant. Sci. Lett. 34:183-194.

Heinz, D.J. 1973. Sugarcane improvement through induced mutation using vegetative propagules and cell culture techniques. In Induced Mutations in vegetatively propagated plants. pp. 53-59. Int. Atomic Energy Agency: Vienna.

_____. Krishnamurthi, M., Nickell, L.G. and Maretzki, A. 1977. Cell, Tissue and organ culture in sugarcane inprovement. In Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Ed. Reinert, J. and Baiji, Y.P.S. pp. 3-17. Springerverlag Berlin.

Helgeson, J.P., Kemp, J.D., Haberlach, G.T. and Maxwell, D.P. 1972. A tissue culture system for studying disease resistance : The Black shank disease in tobacco callus cultures. Phytopathol. 62 : 1439-1443.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

_____. Haberlach, G.T., Budde, A.D. and Sequeira, L. 1978. Modification of disease resistance of tobacco callus tissues by cytokinins. Plant Physiol. 62 : 522-525.

Hussey, G. 1978. The application of tissue culture to the vegetative propagation of plants. Sci. Prog. Oxf. 65 : 185-208.

Hwang, S.C. and Ko, W.H. 1988. In vitro somaclonal variation in banana and its application for screening for resistance to fusarial wilt. Technical. bulletin. 8 : 107.

Ingram, D.S. and Robertson. N.F. 1965. Interaction between Phytophthora infestant and tissue cultures of Solanum tuberosum. J. Gen. Microbiol. 40 : 431-437.

_____. 1967. The expression of R-gene resistance to Phytophthora infestans. in tissue cultures of Solanum tuberosum. J. Gen. Microbiol. 49 : 99-108.

_____. 1969. The susceptibility of Brassica callus to infection by Peroncspora parasitica. J. Gen. Microbiol. 58 : 391-401.

_____. 1976. Growth of biotrophic parasites in tissue culture. In Physiol. Plant Pathol. ed. Heitfuss, R. and Williams, P. H. pp. 743-759.

_____. and Helgeson, J.P. 1980. Disease resistance studies with tissue culture. Tissue culture methods for plant pathologist. pp. 179-184.

Ishii, K. 1978. Studies on manifestation of the blast resistance genes in relation to rice breeding. Nihon university.

Kao, K.N., Miller, R.A., Gamborg, O.L. and Harvey, B.L. 1970. Variations in chromosome number and structure in plant cells grow in suspension. Can. J. Genet. Cytol. 12 : 297-301.

Kohlenbach, H.W. 1977. Basic aspects of differentiation and plant from cell and tissue cultures. Plant Tissue Culture and

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Its Bio Technological Application. (Barz, W., Reinhard, E. and Zenk, M.H. eds).

Kung, S.D., Saunders, J.A., Tso, T.C., Vaughn, D.A., Womack, M., Staples, R.C. and Beecher, G.R. 1980. Tobacco as a potential food source and smoke material : Nutritional evaluation of tobacco leaf protein. J. Food Sci. 45 : 320-322.

Kuyama, S. and Tamura, T. 1957. Cercosporin, a pigment of Cercospora kikuchii M & T. The nature of the aromatic ring of cercosporin. J. Am. Chem. Soc. 79 : 5725.

Linsmaier, E.M. and Skoog, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 18 : 100-127.

Lourberg, R.J.J., Weiss, U., Salemink, C.A., Arnone, A., Merlini, C. and Nasini, G. 1971. The structure of cercosporin, a naturally occurring quinone. Chem. Commun. 1463.

Lucas, G.B. 1975. Diseases of tobacco. Biological Consulting Associates. pp. 621. North Carolina.

Lumsden, R.D. and Bateman, D.F. 1968. Phosphatide degrading enzymes associated with pathogenesis in Pheseolous vulgaris infected with Thielovipsis basicola. Phytopathol. 58 : 219-227.

Maddock, S.E. 1985. Cell culture, somatic embryogenesis and plant regeneration in wheet barley, oats, rue and Triticale. Cereal tissue and cell culture. (Bright, S.W.J. and Jones, M.G.K. eds.). Martinus Nighoff / Dr. Jank, W. Publishers, Dordrechet. 131-174.

Maliga, P., Breznovit and Marton, L. 1973. Streptomycin-resistant plants from callus culture of haploid tobacco. Nature. 244 : 29-30.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

_____. Lazar,G., Svab, Z. and Nagy, F. 1976.Transient cycloheximide resistance in a tobacco cell line. Mol. Gen.Genet. 149 : 267-271.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays. with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15 : 473-497.

Nagel, C.M. 1934. Conidial production in species of Cercospora in pure culture. Phytopathol. 24 : 1101-1110.

Nickell, L.G. and Torry, J.G. 1969. Crop improvement through plant cell and tissue culture. Science 166 : 1068.

Park, M. and Fernando, M. 1938. Some studies on tobacco diseases in Ceylon-IV. The economics of field spraying for the control of frogeye (Cercospora nicotianae Ell & Ev.) 6 : 341-347.

Riker, A.J. and Riker, R.S. 1936. Introduction to research on plant disease. Plant pathogenic.

Ryker, T.C. 1942. Loss of sporulation in Cercospora. Phytopathol. 32 : 16.

Schenk, R.U. and Hildebrandt, A.C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. Can. J. Bot. 50 : 199-204.

Secor, G.A. and Shepard, J.F. 1981. Variability of protoplast-derived potato clones. Crop Sci. 21 : 102-105.

Sekiya, J., Yasuda, T. and Yamada, Y. 1977. Callus induction in tobacco, pea rice and barley plants by auxins and their analogues. Plants Cell Physiol. 18 : 1155-1157.

Shabde, N. and Murashige, T. 1977. Hormonal requirement of excised. Dianthus caryophyllus L. shoot apical meristem in vitro. Am. J. Bot. 64 : 443-448.

Shepard, J.F., Bidney, D. and Shahin, E. 1980. Potato protoplasts in crop improvement Science 208 : 17-24.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Sloof and Thung. 1947. The journal of plant protection. Chron. Nat. 103 : 94-98.

Smith, R.H. and Murashige, T. 1970. In vitro development of the isolated shoot apical meristem of Angiosperms. Am. J. Bot. 57 : 562-568.

Sobers, E.K. 1968. Morphology and Pathogenicity of C. apii. f. sp. nicotianae. Phytopathol. 58 : 1713-1714.

Stavely, J.R. and Nimmo, A.J. 1968. Relation of pH and nutrition to growth and sporulation of C. nicotianae. Phytopathol. 58 : 1372-1376.

_____. 1969. Effect of temperature upon growth and sporulation of C. nicotianae. Phytopathol. 59 : 496-497.

Stow, I. and Ihara, K. 1962. A note on the preliminary investigation of the artificial culture of hop downy mildew fungus, Pseudoperonospora humuli Miy & Tak. Bull. Brew. Sci. 7 : 3

Stuart, R. and Street, H.E. 1969. Studies on the growth in culture of plant cell IV. the initiation of division in suspension of stationary phase cells of Acer pseudoplatanus. J. Exp. Bot. 556-571.

Sunderland and Dunwell, J.M. 1977. Anther and Pollen culture. Plant tissue and cell culture. Blackwell Scientific Publication. pp. 233-266. Oxford, London.

Torry, J.G. and Reinert, J. 1961. Suspension culture of higher plant cell in synthetic media. Plant Physiol. 36 : 483-491.

Tso, T.C. and Kung, S.D. 1983. Soluble proteins in tobacco and their potential use. Leaf protein concentrates. L. Telek and H.D. Graham avi publishing company, Inc. Westport, connecticut 117-132.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Turner, M.T. and Martinson, C.A. 1972. Susceptibility of corn lines to Helminthosporium maydis toxin. Plant Disease Reporter. 56 : 29-32.

Vajrabhaya, T. 1977. Variations in clonal propagation orchid biology. Reviews and Perspectives, 1 (Arditti, J. ed.) Cornell Univ. Press, New York. 177-201.

Vajrabhaya, M. and Vajrabhaya, T. 1984. Progess report II callus growth and regeneration. Grant No. 936-5542-G-SS-3037-00, Department of botany, Chulalongkorn, University and US International development cooperation agency. Bangkok,Thailand

_____. 1988. In vitro mutation breeding. Second Plant Mutation Breeding Workhshop. 1-12. Chiang Mai. Thailand.

Walkey, D. G.A. and Woalfitt, J.M.G. 1968. Clonal multiplication of Nicotianae rustica L. from shoot meristems in culture. Nature. 220 : 28.

Wolf, F.A. 1957. Tobacco disease and decays. Duke Univ. press, 302-307. North Carolina.

Yamazaki, S. and Ogawa, T. 1972. The chemistry and stereochemistry of cercosporin Agr. Biol. Chem. Vol. 1. 36 : 1707-1718.

_____. Okubo, A., Akiyama, Y.and Fuwa, K. 1975. Cercosporin a novel photodynamic. Pigment isolated from Cercospora kikuchii. Agr. Biol. Chem. 39 : 227.

Yoder, O.C. 1980. Toxins in pathogenesis. Ann. Rev. Phytopathol. 18 : 103-129.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมอาหาร

1.1 อาหารสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบ

การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ เพื่อความสะดวก ถูกต้องและรวดเร็ว จึงเตรียมเป็น stock solution ของธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และฮอร์โมน แล้วจึงเตรียมอาหารจาก stock solution อีกครั้งหนึ่งตามสัดส่วนที่คำนวณไว้ ดังตารางที่ 2

1.1.1 การเตรียม stock solution ของ macronutrient elements แบ่งเป็น

1.1.1.1 MS macronutrient elements stock solution I.

Macronutrient elements	gm.
NH_4NO_3	82.5
KNO_3	95.0
$CaCl_2.2H_2O$	22.0
น้ำกลั่น	1000 ml.

1.1.1.2 MS macronutrient elements stock solution II.

Macronutrient elements	gm.
$MgSO_4.7H_2O$	18.5
KH_2PO_4	8.5
น้ำกลั่น	1000 ml.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.1.2 การเตรียม stock solution ของ micronutrient elements แบ่งเป็น

1.1.2.1 FeEDTA stock solution

Micronutrient elements	gm.
$FeSO_4.7H_2O$	2.79
Na_2EDTA	3.72
น้ำกลั่น	1000 ml.

1.1.2.2 MS micronutrient elements stock solution.

Micronutrient elements	gm.
H_3BO_3	6.2
$MnSO_4.4H_2O$	22.3
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
KI	0.83
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
น้ำกลั่น	1000 ml.

1.1.3 การเตรียม stock solution ของฮอร์โมน แบ่งเป็น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.1.3.1 IAA stock solution

ละลาย indole-3 acetic acid ปริมาณ 100 มิลลิกรัม ด้วย 1 N. NaOH ปริมาณเล็กน้อยจนสารละลายหมด เติมน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

1.1.3.2 Kinetin stock solution

ละลาย Kinetin ปริมาณ 100 ด้วย 1 N. HCl ปริมาณเล็กน้อยจนสารละลายหมด เติมน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

1.1.3.3 NAA stock solution

ละลาย naphthalene acetic acid ปริมาณ 100 มิลลิกรัม ด้วย 1 N. NaOH ปริมาณเล็กน้อยจนสารละลายหมด เติมน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

1.1.3.4 BAP stock solution

ละลาย 6-benzyl aminopurine ปริมาณ 100 ด้วย 1 N. HCl ปริมาณเล็กน้อยจนสารละลายหมด เติมน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

1.1.3.5 การเตรียม stock solution ของวิตามิน ให้ชื่อเป็น vitamin stock G.

glycine	2.0	mg.
Nicotinic acid	0.5	mg.
Pyrimidine-HCl	0.5	mg.
Thiamine-HCl	0.1	mg.

ละลายสารแต่ละชนิดด้วยน้ำอุ่นปริมาณเล็กน้อยจนสารละลายหมด เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาณเป็น 60 มิลลิลิตร ใช้ vitamin stock G. 4 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 1 ลิตร (แบ่งใส่ขวดๆละ 4 มิลลิลิตร)

1.2 อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อรา C. nicotianae Ell & Ev.

1.2.1 อาหาร V - 8 juice agar (VJA) ซึ่งใช้น้ำมะเขือเทศกระป๋องแทนส่วนประกอบของอาหาร มีดังนี้

น้ำมะเขือเทศ 1 กระป๋อง	ปริมาณ	200	มิลลิลิตร
แคลเซียมคาร์บอร์เนต ($CaCO_3$)		3	กรัม
ผงวุ้นอาหารสำหรับทำยา		12	กรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ละลายน้ำมะเขือเทศในน้ำกรองเดือด ใส่แคลเซียมคาร์บอเนตคนให้ทั่ว ค่อยๆใส่ผงวุ้น เติมน้ำกรองให้มีปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ใส่อาหารในขวดแก้วรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรขวดละ 170 มิลลิลิตร อุดด้วยสำลีปิดทับด้วยอลูมินัมฟรอยด์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อต้องการเลี้ยงเชื้อ จึงทำให้เหลวด้วยความร้อน และเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร

1.2.2 อาหาร malt extract agar

ส่วนประกอบของอาหาร มีดังนี้

malt extract ของ Difco	ปริมาณ	15	กรัม
glucose	ปริมาณ	30	กรัม
ผงวุ้นอาหารสำหรับทำยา	ปริมาณ	9	กรัม

ละลาย malt extract ในน้ำกรองเดือด ใส่ glucose ค่อยๆ ใส่ผงวุ้น เติมน้ำกรองให้มีปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ใส่อาหารในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรขวดละ 100 มิลลิลิตร อุดด้วยสำลีปิดทับด้วยอลูมินัมฟรอยด์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เพื่อเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการสกัดสารพิษ

2 การเตรียมสารเคมีสำหรับการตรวจโครโมโซม

2.1 Treatment solution

น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
Alphabromonaphalene	1	มิลลิลิตร

2.2 Fixing solution (90 % acetic acid)

น้ำกลั่น	10	มิลลิลิตร
acetic acid	90	มิลลิลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3 Schiff's reagent

basic fuchsin	1	กรัม
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร
N. HCl	30	มิลลิลิตร
potassium metabisulfite	3	กรัม

2.4 N. HCl

HCl	82.5	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

2.5 Propiono-carmine 2 %

carmine	2	กรัม
45 % propionic (boiling)	100	มิลลิลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

สารประกอบ	สูตรอาหาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
Macroelements	MSC	MSS	MSR
NH_4NO_3	1650.0	1650.0	1650.0
KNO_3	1900.0	1900.0	1900.0
$CaCl_2.2H_2O$	440.0	440.0	440.0
$MgSO_4.7H_2O$	370.0	370.0	370.0
KH_2PO_4	170.0	170.0	170.0
Microelements			
$Na_2.EDTA$	37.23	37.23	37.23
$FeSO_4.7H_2O$	27.95	27.95	27.95
$MnSO_4.4H_2O$	22.3	22.3	22.3
$ZnSo_4.7H_2O$	8.60	8.60	8.60
H_3BO_3	6.20	6.20	6.20
KI	0.83	0.83	0.83
$Na_2MO04.2H_2O$	0.25	0.25	0.25
$CoCl_2.6H_2O$	0.025	0.025	0.025
$CuSO_4.5H_2O$	0.025	0.025	0.025
Organic constituent			
Myo-Inositol	100.0	100.0	100.0
Thiamine-HCl	0.1	0.1	0.1
Nicotinic-acid	0.5	0.5	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5	0.5	0.5
IAA	1.9	–	–
Kinetin	0.5	–	–
NAA	–	0.1	0.1
BA	–	1.0	–
sucrose	3000.0	3000.0	3000.0
agar	8000.0	8000.0	8000.0

pH 5.7 (ปรับด้วย 1 N. NaOH หรือ 1 N. HCl)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ๒ แสดงปริมาณ stock solution ที่ใช้ต่ออาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบ ปริมาณ 1 ลิตร และ อุณหภูมิที่ใช้เก็บ

Stock solution	ปริมาณที่ใช้ต่ออาหาร 1 ลิตร (มิลลิลิตร)	อุณหภูมิที่เก็บ (องศาเซลเซียส)
MS Major Stock I	20	27
MS Major Stock II	20	27
MS Minor Stock	1	4
MS FeEDTA	10	4
IAA Stock	19	4
Kinetin Stock	5	4
NAA Stock	1, 10	4
BAP Stock	10	4

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ค การวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการทดสอบหาปริมาณที่เหมาะสมในการทำให้เกิดโรค (จำนวนแผล) ด้วย spore suspension ปริมาณต่างๆ

Source	D.F		Sum of Squares		Mean squares		F Ratio	
	7 วัน	10 วัน	7 วัน	10 วัน	7 วัน	10 วัน	7 วัน	10 วัน
treatment	3	3	1954.6550	2300.2106	651.5517	766.7369	18.9054**	19.7903**
error	196	185	6754.9000	7167.4508	34.4638	38.7430	–	–
total	199	188	8709.5550	9467.6614	–	–	–	–

ตาราง ง แสดงค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ ค่าความคลาดเคลื่อน ของการทดสอบด้วย spore suspension ปริมาณต่างๆในการทำให้เกิดโรค

Spore	N	MEAN		STAND. Deviation		STAND. Error		ช่วงความเชื่อมั่น 95 % สำหรับค่าเฉลี่ย	
		7 วัน	10 วัน	7 วัน	10 วัน	7 วัน	10 วัน	7 วัน	10 วัน
10 %	50	3.8000	5.4600	4.4584	5.1674	0.6305	0.7308	2.5329–5.0671	3.9914–6.9286
20 %	50	4.9200	6.5800	5.2754	5.6608	0.7461	0.8006	3.4207–6.4193	4.9712–8.1888
30 %	50	8.1000	107400	6.2376	6.9096	0.8821	0.9772	6.3273–9.8727	8.7762–127038
40 %	50	118400	146154	7.1582	7.1621	1.0123	1.1469	9.8057–138743	122937–169371

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง จ เปรียบเทียบการเกิดโรค (จำนวนแผล) ของต้นที่เจริญจากแคลลัส และจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นที่เกิดโรคระดับ 2 ภายหลังทดสอบความต้านทานซ้ำ ด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 40 x 2.5 x 10^5 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร

	10 วัน		ทดสอบซ้ำ	
	ต้นที่เกิดจากแคลลัส	ต้นที่เกิดจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นที่เกิดโรคระดับ 2	ต้นที่เกิดจากแคลลัส	ต้นที่เกิดจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นที่เกิดโรคระดับ 2
MEAN	7.11	9.30	11.03	8.25
VARIANCE	44.1978	26.7000	25.1195	5.3571
STAND.DEV.	6.6481	5.1672	5.0119	2.3145
CV	9.35	10.14	8.16	9.92
N	100	30	31	8
T VALUE	1.8976 with 117 D.F.		2.2851* with 38	
F MAX	1.6553* with 88,29 D.F.		4.6890** with 31,7	

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

	7 วัน		10 วัน		ทดสอบซ้ำ	
	ต้านทานสารพิษ		ต้านทานสารพิษ		ต้านทานสารพิษ	
	2 %	4 %	2 %	4 %	2 %	4 %
MEAN	4.15	3.75	9.05	7.90	9.00	8.00
VARIANCE	24.5553	15.9868	55.5237	51.6733	33.1429	22.6667
STAND.DEV.	4.9553	3.9984	7.4514	7.1884	5.7570	4.7610
CV	26.70	23.84	18.41	20.35	22.62	18.82
N	20	20	20	20	8	10
T VALUE	0.2809^{NS} with 38 D.F.		0.4967^{NS} with 40 D.F.		0.3950^{NS} with 16 D.F.	
F MAX	1.5360^{NS} with 19,19 D.F.		1.0745^{NS} with 21,19 D.F.		1.4622^{NS} with 7, 9 D.F.	

NS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ช เปรียบเทียบการเกิดโรค (จำนวนแผล) ของต้นที่เกิดจากแคลลัสที่ด้านทาน spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 30 x 2.5 x 10^5 สปอร์ ต่อ 100 มิลลิลิตร และต้นที่เกิดจากแคลลัสที่ด้านทานสารพิษเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังทดสอบความด้านทานซ้ำด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ 40 x 2.5 x 10^5 สปอร์ ต่อ 100 มิลลิลิตร

	7 วัน		10 วัน		ทดสอบซ้ำ	
	ด้านทาน		ด้านทาน		ด้านทาน	
	สปอร์ 30 %	สารพิษ 4 %	สปอร์ 30 %	สารพิษ 4 %	สปอร์ 30 %	สารพิษ 4 %
MEAN	5.80	3.75	10.78	7.90	9.67	8.00
VARIANCE	35.6816	15.9868	51.2056	51.6733	25.5639	22.6667
STAND.DEV	5.9638	3.9984	7.1556	7.1884	4.9655	4.7610
CV	13.27	23.84	8.95	20.35	11.78	18.82
N	60	20	55	20	19	10
T VALUE	1.7363^{NS} with 78 D.F.		0.8205^{NS} with 73 D.F.		0.4623^{NS} with 27 D.F.	
F MAX	2.2319^{NS} with 59,19 D.F.		0.9909^{NS} with 19,54 D.F.		1.1278^{NS} with 18, 9 D.F.	

NS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

ตาราง ช แสดงปริมาณ และ มูลค่าการส่งออกใบยาสูบทุกชนิด (รายประเทศ)

ประเทศ	ยาราคล-ยุคลาฟันส์ หน่วย : กิโลกรัม และบาท				ยุคลาฟันส์ หน่วย : กิโลกรัม และบาท			
	ปริมาณ		มูลค่า		ปริมาณ		มูลค่า	
	2531	2532	2531	2532	2531	2532	2531	2532
ประจำทวีปต่างๆ								
ยุโรป								
เบลเยียม	500,520	867,000	30,405,555	16,821,493	471,120	567,000	29,075,953	12,105,955
เดอร์นีและโนแลด	732,060	324,260	17,448,460	17,332,723	508,460	244,840	16,551,996	14,942,865
เนเธอร์แลนด์	20,196	134,990	705,729	4,888,181	-	-	-	-
เดนมาร์ก	-	18,240	-	368,405	-	-	-	-
ฟินแลนด์	-	17,820	-	1,566,110	-	-	-	-
โปรตุเกส	-	175,200	-	9,731,824	-	-	-	-
กรีซ	-	38,400	-	1,714,446	-	38,400	-	1,714,446
อิตาลี	-	102,000	-	695,660	-	102,000	-	695,660
รวม	1,252,776	1,680,910	48,559,744	52,916,642	979,580	952,240	45,627,951	29,458,826
ญี่ปุ่น	439,000	774,900	34,057,020	70,211,534	357,000	736,900	28,951,555	63,566,512
อินเดีย	500,000	-	30,224,364	-	500,000	-	30,224,364	-
มาเลเซีย	37,820	68,400	754,055	2,817,927	18,810	68,840	378,457	1,873,154
นอร์เวย์	34,200	-	2,468,573	-	34,200	-	2,468,573	-
ออสเตรเลีย	74,000	-	6,112,053	-	74,000	-	6,112,053	-
ฟิลิปปินส์	36,480	9,600	3,152,804	727,488	36,480	9,600	3,152,804	727,488
เซเนกัล	950	-	25,333	-	-	-	-	-
อินโดนีเซีย	-	119,760	-	1,006,010	-	115,760	-	804,126
ฮ่องกง	-	8,820	-	281,402	-	8,640	-	272,503
คาเมรูน	-	38,900	-	1,900,071	-	-	-	-
รวม	1,142,650	1,022,380	80,794,702	76,144,832	1,020,690	903,740	70,387,806	67,268,488
รวมทั้งสิ้น	2,395,426	2,703,290	129,354,446	129,061,474	2,000,270	1,855,780	116,015,757	96,727,314

ตาราง ฌ แสดงการจัดหาและซื้อใบยาทั้งภายใน และต่างประเทศ ของโรงงานยาสูบ กระทรวงการคลัง

พันธุ์	ภายในประเทศ			ต่างประเทศ		
	2531 / 2532			2531	2532	เพิ่ม / ลด
	ปริมาณ (กิโลกรัม)	มูลค่า (บาท)	เฉลี่ย (บาท/กิโลกรัม)	ปริมาณ (กิโลกรัม)	ปริมาณ (กิโลกรัม)	ร้อยละ
เวอร์จิเนีย	5,270,071	243,917,223.00	46.28	3,779,143.00	3,020,729.00	+ 25.11
เบอร์เล่ย์	1,617,302	46,342,764.00	28.65	3,805,452.00	3,919,722.00	- 2.92
เตอร์กิช	8,849	208,204.00	24.07	-	-	-
รวม	6,896,022	290,468,191.00	42.12	7,504,595.00	6,940,451.00	+ 9.28

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ฎ เชื้อรา Cercospora sp. สาเหตุของโรคที่พบในประเทศไทย

Genus - species	พืชอาศัย (Host plant)
Cercospora sp.	มะระ - Balsam pear(Momordica charantia,Lin.) ข้าวฟ่าง - Sorghum (Sorghm vulgare Pers.) ถั่วดำ - Cowpea (Vigna sinensis Sani) อ้อย - Sugar cane (Saccharum officinarum Lin. ผักชี - Coriander (Coriander sativum Lin.) พริก - Pepper (Capsicum spp.) ทับทิม - Pomegranate (Punica granatum Lin.) สาบเสือ (Eupatorium odoratum Lin.)
C. arachidicola Hori C. canescens Ellis & Martin C. cruenta Sacc. C. celosiae Sydow. C. fuligena C. momordical Mc. Rae C. musae Zimm. C. nicotianae Ell&Ev. C. personata Ell&Ev. C. zinniae	ถั่วลิสง - Peanut (Arachis hypogaea Lin.) ถั่วเขียว - Mungbean (Phascolus aureus Roxb.) ถั่วฝักยาว - Yard long bean (Vigna sesquipedalis Fruwirth.) หงอนไก่ - Cock comb (Celosia cristata Lin.) มะเขือเทศ - Tomato (Lycopersicum esculentum Mill.) มะระ - Balsam pear (Momordica charantia Lin.) กล้วย - Banana (Musa spp.) ยาสูบ - Tobacco (Nicotiana tabacum Lin.) ถั่วลิสง - Peanut (Arachis hypogaea Lin.) ดาวเรือง - Zinnia

(อดิศักดิ์ บ้านก้อยาพันธุ์, 2520)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาวเพ็ญผกา โพธิ์เรียง เกิดวันที่ 5 กันยายน 2505 จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง ในปี พ.ศ. 2527

ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิตทางวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2529 ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย