

สรุปผลการทดลอง

การทดลองคัดเลือกต้นยาสูบ (*N. tabacum* L.) ที่สามารถต้านทาน spore suspension และสารพิษของเชื้อ *C. nicotianae* Ell & Ev. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคคาบพบ ว่าถ้านำต้นยาสูบที่เจริญมาจากการเลี้ยงเนื้อเชื้อในอาหารสูตร MS ชักนำให้เกิดเป็นแคลลัส นำแคลลัสที่ได้มาชักนำให้เกิดต้น และราก อายุประมาณ 9 สัปดาห์ แล้วนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติอีก 8 สัปดาห์ สามารถทนต่อความเข้มข้นของ spore suspension ของเชื้อราได้สูงถึง  $40 \times 2.5 \times 10^5$  สปอร์ ต่อ 100 มิลลิลิตร ได้ต้นที่ต้านทานโรคสูง คือเกิดโรคในระดับ 2 จำนวน 2 ต้น จากจำนวนต้นที่ใช้ทดสอบ 100 ต้น เมื่อเทียบกับต้นที่เพาะจากเมล็ดโดยตรง จะเกิดโรคในระดับ 4 และ 5 ซึ่งถือว่ามีความต้านทานต่ำจนถึงไม่มีความต้านทานเลย และเมื่อนำต้นที่มีความต้านทานโรคสูง มาเลี้ยงเนื้อเชื้ออีกครั้งหนึ่งและชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่อีก ภายหลังการทดสอบความต้านทานซ้ำ ปรากฏว่ามีความต้านทานโรคเพิ่มขึ้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงเนื้อเชื้อยาสูบในอาหารสูตร MS นั้นอาจเกิดการแปร (variation) หรือ เกิดมิวเตชันขึ้นในเซลล์ของยาสูบก็เป็นได้ ต้นที่ได้ใหม่นี้จึงสามารถทนต่อการเกิดโรคของเชื้อราได้ ถึงแม้จะมีเปอร์เซ็นต์ในการทนน้อยก็ตาม ถ้าทดลองเลี้ยงเนื้อเชื้อจนได้เป็นต้นใหม่ และทดสอบ ด้วย spore suspension ของเชื้อราหลาย ๆ ครั้ง อาจจะได้ต้นที่ต้านทานโรค มีเปอร์เซ็นต์มากขึ้นก็ได้

ส่วนการใส่ spore suspension ที่มีจำนวนเปอร์เซ็นต์ 0 10 20 30 และ  $40 \times 2.5 \times 10^5$  สปอร์ ต่อ 100 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเนื้อเชื้อ ขณะที่เนื้อเชื้อยาสูบยังเป็นแคลลัสอายุ 4 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสมีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย และเจริญเป็นต้นใหม่ได้น้อยมาก เพราะมีเส้นใยของเชื้อราปกคลุมเต็มไปหมด มีบางแคลลัสที่เหลือรอด สามารถทนต่อความเข้มข้นของ spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์ได้สูงถึง  $30 \times 2.5 \times 10^5$  สปอร์ ต่อ 100 มิลลิลิตร เมื่อนำต้นที่รอดตายมากทดสอบความต้านทานซ้ำด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์  $40 \times 2.5 \times 10^5$  สปอร์ ต่อ 100 มิลลิลิตร ได้ต้นที่มีความต้านทานโรคปานกลาง คือเกิดโรคระดับ 3 ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์

ส่วนแคลลัสที่ใส่สารพิษที่สกัดได้จากเชื้อรา *C. nicotianae* Ell & Ev. ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 0.5 1 2 4 และ 8 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย และเจริญเป็นต้นใหม่่น้อยเช่นกัน แคลลัสสามารถทนต่อสารพิษ ได้สูงถึง 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากนำออกปลูกแล้วทดสอบต้นที่รอดตายซ้ำด้วย spore suspension ที่มีจำนวนสปอร์  $40 \times 2.5 \times 10^5$  สปอร์ ต่อ 100 มิลลิลิตร ต้นพืชที่ได้จากแคลลัสที่ต้านทานสารพิษเข้มข้น 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความต้านทานโรครานกลาง คือเกิดโรคระดับ 3 ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ และมีความต้านทานโรคสูง คือเกิดโรคระดับ 2 ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ไม่ได้ต้นที่มีความต้านทานโรคสูงมากเลย เมื่อเทียบกับต้นที่เจริญจากเมล็ดโดยตรง และเมื่อนำต้นที่ต้านทานโรคจากการทดลองนี้ไปจำนวนโรครวมโหม พบว่าไม่มีความผิดปกติ ความต้านทานโรคอาจเกิดในระดับอื่น ซึ่งไม่สามารถตรวจสอบด้วยการคู่โครโมโซมได้

ข้อเสนอแนะ

ในการคัดเลือกต้นสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคคาบ โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ควรนำเมล็ดที่ได้จากต้นที่มีความต้านทานโรค ออกปลูกและทดสอบความต้านทานซ้ำหลาย ๆ รุ่น เพื่อให้ได้ต้นที่มีความต้านทานโรคสูงมาก (very highly resistant)

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย