



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พืชสวน)

ปริญญา

พืชสวน

สาขา

พืชสวน

ภาควิชา

เรื่อง การประเมินระดับการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าต่อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* และกรดฟูซาริก ในสภาพปลอดเชื้อ

In Vitro Sensitivity Assessment of Kluai Nam Wa [*Musa* (ABB group)]
to *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* and Fusaric Acid

نامผู้วิจัย นายสุทธิศักดิ์ แสงธราทิพย์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์สุรวิษ วรรณไกรโรจน์, Ph.D.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ณรงค์ สิงห์บุระอุดม, วท.ม.

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณัฐ พิษกรรม, Ph.D.

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การประเมินระดับการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าต่อ

Fusarium oxysporum f.sp. *cubense* และกรดฟูซาริก ในสภาพปลอดเชื้อ

In Vitro Sensitivity Assessment of Kluai Nam Wa [*Musa* (ABB group)] to

Fusarium oxysporum f.sp. *cubense* and Fusaric Acid

โดย

นายศุทธิศักดิ์ แสงธราทิพย์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชสวน)

สิงสถิตี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. ๒๕๕๗

ศุทธิศักดิ์ แสงธาราพิทย์ 2557: การประเมินระดับการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าต่อ

Fusarium oxysporum f.sp. *cubense* และกรดฟูซาริก ในสภาพปลอดเชื้อ

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชสวน) สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สุรวิษ วรรณไกรโรจน์, Ph.D. 81 หน้า

กล้วยน้ำว้า [*Musa* (ABB group)] เป็นกล้วยที่นิยมบริโภคมากในประเทศไทย มีโรคที่สำคัญ คือ โรคตายพราย ที่เกิดจาก *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) เชื้อ Foc นี้สามารถผลิตกรดฟูซาริก (FA) ซึ่งเป็นสารพิษที่ไม่เจาะจงต่อพืชอาศัย (non-host-specific toxin) จึงได้ทำการศึกษาเพื่อประเมินระดับการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าต่อเชื้อรา และสารพิษชนิดนี้ การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาหาความหนาแน่นที่เหมาะสมของสารแขวนลอยสปอร์ และระยะเวลาที่เหมาะสมในการสังเกตอาการภายหลังการปลูกเชื้อต่อต้นกล้วยในสภาพปลอดเชื้อ ผลการทดลองพบว่า สารแขวนลอยสปอร์หนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ระยะเวลา 7 วัน สามารถทำให้กล้วยแสดงระดับความทนทานที่แตกต่างกัน โดยกล้วยน้ำว้าละอองน้ำมีระดับความทนทานสูงที่สุด ในขณะที่กล้วยน้ำว้าดำมีระดับความทนทานน้อยที่สุด การทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ FA ในอาหารสูตร MS และระยะเวลาที่เหมาะสมในการสังเกตอาการภายหลังการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยน้ำว้าในสภาพปลอดเชื้อ ผลการทดลองพบว่า กล้วยแสดงอาการตอบสนองต่อ FA ในระดับต่ำ โดยพบว่า FA ความเข้มข้น 130 ppm ไม่ทำให้กล้วยน้ำว้า น้ำไท กล้วยน้ำว้าพระประแดง และกล้วยน้ำว้าขาวกำแพงเพชร แสดงอาการ ในขณะที่กล้วยน้ำว้าพระราชทานแสดงการตอบสนองต่อ FA ความเข้มข้น 130 ppm มากที่สุด ส่วนการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี FA ความเข้มข้น 260 ppm ไม่ทำให้กล้วยน้ำว้าพระประแดง กล้วยน้ำว้าดำ และกล้วยน้ำว้าชุมพร แสดงอาการ ในขณะที่กล้วยน้ำว้าขาวกำแพงเพชรซึ่งไม่ตอบสนองต่อ FA ความเข้มข้น 130 ppm กลับแสดงการตอบสนองต่อ FA ความเข้มข้น 260 ppm มากที่สุด การทดลองที่ 3 เป็นการศึกษาหาความเข้มข้น ปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลาย FA และระยะเวลาที่เหมาะสมในการสังเกตอาการภายหลังการฉีดเข้าสู่ต้นกล้วยในสภาพปกติ ผลการทดลองพบว่า การฉีดสารละลาย FA ซึ่งใช้น้ำ RO เป็นตัวทำละลายความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร สามารถทำให้กล้วยแสดงการตอบสนองที่แตกต่างกันเมื่อเวลาผ่านไป 8 วัน โดยกล้วยน้ำว้าปากช่อง 50 แสดงการตอบสนองต่อสารละลาย FA น้อยที่สุด ขณะที่กล้วยน้ำว้านวล และกล้วยน้ำว้ากาบขาวแสดงการตอบสนองต่อสารละลาย FA มากที่สุด

Suthisak Saengtharatip 2014: *In Vitro* Sensitivity Assessment of Kluai Nam Wa

[*Musa* (ABB group)] to *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* and Fusaric Acid.

Master of Science (Horticulture), Major Field: Horticulture, Department of Horticulture.

Thesis Advisor: Associate Professor Surawit Wannakrairoj, Ph.D. 81 pages.

Kluai Nam Wa [*Musa* (ABB group)] is a popular banana in Thailand. It has a Panama disease from *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*) as a major pest. *Foc* could produce fusaric acid (FA) which is a non-host-specific toxin. This study was aimed to assess sensitivity level of Kluai Nam Wa to *Foc* and FA. For the first experiment, the optimum density of *Foc* spore suspension and observation period for an *in vitro* inoculation were determined. The result showed that dipping in *Foc* spore suspension at 1.5×10^8 spore/ml was the optimal concentration for sensitivity evaluation after 7 days. *Musa* (ABB group) 'Nam Wa La Ong Nam' was the most tolerant cultivar while *Musa* (ABB group) 'Nam Wa Dam' was the most susceptible cultivar. For the second experiment, the optimum FA concentration in MS medium and observation period for an *in vitro* evaluation were determined. It was shown that the bananas weakly response to FA. At 130 ppm FA, *Musa* (ABB group) 'Nam Wa'; namely, 'Nam Thai', 'Phrapradaeng', and 'Kow Khampaengphetch' showed no symptom while *Musa* (ABB group) 'Nam Wa Prarachathan' was the most sensitive to 130 ppm FA. When 260 ppm FA was used, *Musa* (ABB group) 'Nam Wa'; namely, 'Phrapradaeng', 'Dam', and 'Chumphorn' showed no symptom while *Musa* (ABB group) 'Nam Wa Kow Khampaengphetch', a non-sensitive one to 130 ppm FA, surprisingly turned to be the most sensitive. For the third experiment, the optimum FA concentration, volume and observation period and for an *ex vitro* inoculation were determined. The result showed that injecting 0.5 ml of 1,000 ppm FA was the optimum for sensitivity evaluation after 8 days. *Musa* (ABB group) 'Nam Wa Pak Chong 50' was the most tolerant cultivar while *Musa* (ABB group) 'Nam Wa Nual' was the most susceptible cultivar.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี โดยได้รับความกรุณาช่วยเหลือจาก รศ.ดร. สุรวิษ วรรณไกรโรจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ รศ.ณรงค์ สิงห์บุระอุดม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้คำปรึกษา ชี้แนะ และคำแนะนำต่างๆ ในการปฏิบัติงาน ตลอดจนตรวจแก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ กราบขอบพระคุณ ศ. เบญจมาศ ศิลา ย้อย ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก และผศ.ดร. เอมมาลย์ วงศ์ชาวจันทน์ ประธานการสอบปากเปล่าชั้นสุดท้าย สำหรับแนวทางการดำเนินชีวิต และคำแนะนำตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่ได้มอบโอกาสทางการศึกษา และสถานที่ทำการทดลอง โดยเฉพาะห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และห้องปฏิบัติการกลางที่เป็นทั้งที่พักพิง และเรียนรู้สิ่งต่างๆ นอกเหนือตำราเรียน และขอขอบคุณความอนุเคราะห์วัดดูแลทดลองจาก ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) จังหวัดพิษณุโลก และจังหวัดชลบุรี สถานีวิจัยปากช่อง และฝ่ายปฏิบัติการวิจัย และเรือนปลูกพืชทดลอง (Central laboratory and greenhouse complex) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ขอกราบขอบพระคุณอ.ดร.อรอุมา เพี้ยซ้าย อ.ดร. อัมมชัญญ์ มงคลชัยพลกฤษ์ อ.ดร.พิจิตรา แก้วสอน และอ.ดร.ทศไนย จารุวัฒนพันธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำทางวิชาการ ความช่วยเหลือ และหลักการการนำเสนอวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ เพื่อนนิสิตบัณฑิตวิทยาลัย และเหล่าพี่-น้อง แห่งภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน สำหรับคำแนะนำ กำลังใจ ความช่วยเหลือ มิตรไมตรี และความทรงจำอันมีค่าที่ยากจะลืมเลือน

ขอขอบพระคุณสมาชิกบ้านแสงธาราทิพย์ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และสนับสนุนในทุกๆ เรื่องอยู่เสมอมา ทั้งกำลังใจ กำลังกาย กำลังสติปัญญา และกำลังทรัพย์ เหลือสิ่งอื่นใดคือความรักและความเข้าใจ

และท้ายที่สุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ และคุณแม่ ผู้ประทานชีวิตแก่ลูกน้อย เพื่อแต่งแต้มสีสันให้แก่ดวงดาวสีน้ำเงินใบนี้

ศุทธิศักดิ์ แสงธาราทิพย์

กรกฎาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์ และวิธีการ	13
ผลการทดลอง	24
วิจารณ์	56
สรุป	63
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	64
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	81

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 คุณค่าทางโภชนาในผลสดของกล้วยหอม (AAA group), กล้วยน้ำว้า (ABB group), มั้ฝรั่ง และแอปเปิ้ล น้ำหนัก 100 กรัม	7
2 พืชอาศัยของ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> (Foc)	8
3 แหล่งที่มาของกล้วยพันธุ์ต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง	14
4 จำนวนสปอร์ในสารแขวนลอยสปอร์ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> ที่นับด้วย Haemocytometer จากสารแขวนลอยที่เจือจางระดับต่างๆ จากเชื้อที่เพาะเลี้ยงนาน 30 วัน	27
5 คะแนนการเกิดอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้าละอองน้ำ และกล้วยหอมทอง อายุประมาณ 1 เดือน ที่ผ่านการจุ่มในสารแขวนลอยสปอร์ของ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้ว 7, 14 และ 21 วัน	31
6 คะแนนการเกิดอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้าละอองน้ำ และกล้วยหอมทอง อายุประมาณ 1 เดือน ที่ผ่านการจุ่มในสารแขวนลอยสปอร์ของ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> ความหนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้ว 7, 14 และ 21 วัน	32
7 การพัฒนาอาการภายนอก และภายในของกล้วยน้ำว้าละอองน้ำที่เกิดหลังจาก จุ่มต้นกล้วยอายุประมาณ 1 เดือน ลงในสารแขวนลอยสปอร์ <i>Foc</i> ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร	35
8 คะแนนการเกิดอาการของกล้วยพันธุ์ต่างๆ อายุประมาณ 4 สัปดาห์ ที่จุ่มในสารแขวนลอยสปอร์ของ <i>Foc</i> ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ แล้ว 1 สัปดาห์	37
9 คะแนนการเป็นโรครของต้นกล้วยน้ำว้าละอองน้ำ อายุประมาณ 1 เดือน ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี Fusaric acid ความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพปลอดเชื้อ	40
10 คะแนนเฉลี่ยการเป็นโรครของลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว้า และกล้วยหอมทอง อายุประมาณ 4 สัปดาห์ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี Fusaric acid ความเข้มข้น 130 ppm เป็นเวลา 1 สัปดาห์	42

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
11 คะแนนเฉลี่ยการเปลี่ยนสีภายในลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว้า และกล้วยหอมทอง อายุประมาณ 4 สัปดาห์ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี Fusaric acid ความเข้มข้น 260 ppm เป็นเวลา 1 สัปดาห์	44
12 คะแนนอาการภายนอกของต้นกล้วยน้ำว้ากบขาว ภายหลังจากย้ายออกปลูก ประมาณ 3 สัปดาห์หลังจากถูกฉีดด้วยของเหลวชนิดต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อต้น เป็นเวลา 8 วัน	48
13 คะแนนอาการภายนอกของต้นกล้วยน้ำว้ากบขาว ภายหลังจากย้ายออกปลูก ประมาณ 3 สัปดาห์ เมื่อฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid ความเข้มข้นต่างๆ ที่เจือจางด้วยน้ำ Reverse Osmosis ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อต้น เป็นเวลา 8 วัน	50
14 คะแนนอาการภายนอกของต้นกล้วยน้ำว้ากบขาว ภายหลังจากย้ายออกปลูก ประมาณ 3 สัปดาห์ เมื่อฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid ความเข้มข้น 1,000 ppm เจือจางด้วยน้ำ Reverse Osmosis ที่ปริมาตรต่างกัน แล้ว 8 วัน	53
15 ความยาวแผลเฉลี่ยของกล้วยพันธุ์ต่างๆ ภายหลังจากย้ายออกปลูกประมาณ 2 เดือน ที่เกิดจากการฉีดสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรต่อต้น ในสภาพปกติ แล้ว 8 วัน	54

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ลำต้นตัดขวางของกล้วยน้ำว้า แสดงอาการภายในของโรคตายพราย	15
2 ต้นกล้วยน้ำว้าละอองน้ำที่ถูก <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> ขึ้นปกคลุมบริเวณโคนต้น และเส้นรอยประสีแดงแสดงบริเวณที่ทำการตัดแนวขวาง	18
3 ภาพตัดแนวขวาง และเกณฑ์การให้คะแนนอาการของโรคตามช่องทั้ง 12 ช่อง เฉพาะภายในวงกลมสีขาว	19
4 การนิตสารละลาย Fusaric acid ความเข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บริเวณหน่อกล้วย	22
5 <i>Fusarium oxysporum</i> ที่เจริญบนอาหาร potato dextrose agar เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์	25
6 <i>Fusarium oxysporum</i> ที่เจริญบนอาหาร carnation leaf agar เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์	25
7 ลักษณะสปอร์ชนิดต่างๆ ของ <i>Fusarium oxysporum</i>	26
8 เส้นใยของ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> เติบโตบนอาหาร Murashige and Skoog ระยะเวลา 2 วัน	28
9 อาการภายนอกกล้วยน้ำว้าละอองน้ำอายุประมาณ 1 เดือน ภายหลังจาก จุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> แล้ว 7 วัน	30
10 อาการภายนอกกล้วยน้ำว้าละอองน้ำอายุประมาณ 1 เดือน ภายหลังจาก จุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> แล้ว 21 วัน	30
11 หน้าตัดกล้วยน้ำว้าละอองน้ำ อายุประมาณ 1 เดือน หลังจาก จุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา	34
12 ตัวอย่างหน้าตัด และคะแนนการเกิดอาการของโรคในกล้วยน้ำว้าบางพันธุ์	38
13 อาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาว ภายหลังจากย้ายออกปลูกประมาณ 3 สัปดาห์ เมื่อนิตด้วยสารละลายชนิดต่างๆ	47

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

- | | |
|--|----|
| <p>14 อาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาว ภายหลังการย้ายออกปลูกประมาณ 3 สัปดาห์ เมื่อนิคมด้วยสารละลาย Fusaric acid โดยมีน้ำ Reverse Osmosis เป็นตัวทำละลาย แล้ว 4 วัน</p> | 51 |
| <p>15 ตัวอย่างแผลของต้นกล้วย ภายหลังการย้ายออกปลูกประมาณ 2 เดือน ที่เกิดจากการนิคมสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.5 มิลลิเมตรต่อต้น ในสภาพปกติ แล้ว 8 วัน ตามเกณฑ์ให้คะแนน</p> | 55 |

การประเมินระดับการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าต่อ
***Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* และกรดฟูซาริก ในสภาพปลอดเชื้อ**

***In Vitro* Sensitivity Assessment of Kluai Nam Wa [*Musa* (ABB group)]
 to *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* and Fusaric Acid**

คำนำ

กล้วยเป็นผลไม้ที่รู้จักกันแพร่หลาย และนิยมบริโภค สามารถพบได้ทั่วโลก อีกทั้งยังเป็นแหล่งวิตามินหลายชนิด ทั้งวิตามิน A, B1, B2, B3, C และ D (Newsmax, 2010) ในประเทศไทย กล้วยน้ำว้าเป็นกล้วยที่ได้รับความนิยมในการบริโภคมากกว่ากล้วยกลุ่มอื่น อีกทั้งมีความใกล้ชิดกับวิถีชีวิตความเป็นอยู่ และวัฒนธรรมของคนไทยมาก

กล้วยมีโรค และแมลงหลายชนิดเป็นศัตรู ทำให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตเช่นเดียวกับพืชที่ใช้ในการบริโภคชนิดอื่นๆ ซึ่งโรคที่เป็นอันตรายกับกล้วยเป็นอย่างมากนั้น คือ โรคตายพราย (*Fusarium wilt* หรือ Panama disease) ที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคพืช คือ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*) ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีทางควบคุมเชื้อราชนิดนี้ได้อย่างสมบูรณ์ *Foc* เป็นเชื้อโรคที่เจริญเติบโตได้ดีในดิน เข้าทำลายกล้วยผ่านทางราก จากนั้นจึงทำลายท่อลำเลียง ส่งผลให้ลำต้นเหี่ยว (pseudostem) ขาดน้ำและธาตุอาหาร จนเหี่ยวและตายในที่สุด (Newley, 2010)

การระบาดของโรคตายพรายนั้นได้เกิดขึ้นมาตั้งแต่ในอดีต แต่การระบาดครั้งใหญ่นั้นเกิดขึ้นเมื่อปีพ.ศ. 2433 ในประเทศแถบอเมริกากลาง ซึ่งเข้าทำลายต้นกล้วยหอม [*Musa* (AAA group)] 'Gross Michel' เป็นวงกว้างถึง 275,000 ไร่ สำหรับภูมิภาคเอเชีย พบการระบาดของโรคตายพรายนี้ในกล้วยหอม [*Musa* (AAA group)] 'Cavendish' บนพื้นที่กว่า 31,200 ไร่ในประเทศมาเลเซีย และอินโดนีเซีย ส่งผลให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจเป็นมูลค่ากว่า 3,000 ล้านบาทในปี พ.ศ. 2546 (Vicente, 2004)

เนื่องจากมีรายงานว่ากล้วยน้ำว้าสามารถต้านทานโรค Black Sigatoka ที่เกิดจาก *Mycosphaerella fijiensis* จึงทำให้เชื่อว่ากล้วยน้ำว้าจะมีความสามารถในการทนทานโรคตายพรายที่เกิดจากเชื้อรา *Foc* ได้เช่นกัน (Hahn, 1990) จึงทำให้ช่วงทศวรรษที่ผ่านมา มีงานทดลองจำนวนมากซึ่งมุ่งไปที่การปรับปรุงพันธุ์กล้วยเพื่อหาพันธุ์ที่ต้านทานโรคตายพราย มากกว่าการมุ่งปรับปรุงเรื่องคุณภาพของผลผลิต (Faylon *et al.*, 2003) วิธีการที่เหมาะสมในการคัดเลือกจึงเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการเลือกพันธุ์กล้วยที่ต้านทานโรค (Buddenhagen, 1981) ซึ่งโดยปกติแล้ว การคัดเลือกกล้วยจะทำการ

ปลูกประเมินในแปลงซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ได้ผลดีในทางปฏิบัติและเป็นที่ยอมรับ (Mak *et al.*, 2001) อย่างไรก็ตามการประเมินในสภาพแปลงปลูกซึ่งเป็นวิธีการคัดเลือกที่ให้ผลดี มีความจำเป็นที่จะต้องใช้เวลาในการปลูกกล้วย และทำการเลี้ยงเชื้อ *Foc* ในดินซึ่งใช้เวลานานมากกว่า 3 เดือน (Dita *et al.*, 2011) โดยกรณีของกล้วยน้ำว้านั้นต้องใช้ระยะเวลาขั้นต่ำ 3 เดือนหลังจากปลูกถ่ายเชื้อจนกระทั่งการประเมินผล (Orjeda, 1998) นอกจากนี้การปลูกประเมินยังอาจส่งผลให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อไปสู่สภาพธรรมชาติหรือแปลงปลูกกล้วยบริเวณข้างเคียงด้วยเช่นกัน

การปลูกเชื้อกับพืชในสภาพปลอดเชื้อหรือในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถใช้ในการประเมินปฏิกริยาการเกิดโรคได้ และลดความเสี่ยงในการแพร่กระจายเชื้อสู่สภาพธรรมชาติ (Ahloowalia and Maluszynski, 2001) โดย Tripathi *et al.* (2008) ได้ประสบความสำเร็จในการประเมินอาการของโรคที่เกิดจาก *Xanthomonas* sp. ในกล้วย และ Kamle *et al.* (2012) ก็สามารถคัดเลือกพันธุ์ต้านทานต่อ *Fusarium* sp. ในสภาพปลอดเชื้อได้

การศึกษาในครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความเป็นไปได้ในการประเมินระดับการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าในการเกิดโรคตายพรายภายใต้สภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อใช้เป็นพื้นฐานข้อมูลสำหรับงานปรับปรุงพันธุ์กล้วยน้ำว้าให้ต้านทานต่อโรคตายพรายในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการประเมินการเกิดโรคตายพรายในกล้วยน้ำว้าภายใต้สภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
2. เพื่อศึกษาระดับความต้านทานของกล้วยน้ำว้าพันธุ์ต่างๆ ต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุของโรคตายพรายภายใต้สภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
3. เพื่อเปรียบเทียบระดับความต้านทานของกล้วยน้ำว้าต่อ Fusaric acid ภายใต้สภาพปกติ กับสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การตรวจเอกสาร

ความสำคัญของกล้วย

กล้วยได้ถูกบันทึกไว้โดย Pliny นักเขียนชาวโรมัน ว่าถูกค้นพบครั้งแรกที่อินเดียตั้งแต่ปี พ.ศ. 610 ซึ่งเป็นชนิดที่ต่อมาได้ถูกตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Musa sapientum* หรือ ผลของคนฉลาด (the *Musa* of the wise man) (Popenoe, 1914) กล้วยแพร่กระจายไปทั่วโลก เช่น หมู่เกาะคานารี (Canary Island), ทวีปอเมริกาใต้ หรือแม้กระทั่งประเทศจีน ซึ่งภายหลังได้เข้ามาในประเทศไทยผ่านการอพยพของคน ซึ่งในยุคแรกมีการคัดเลือกกล้วยเพื่อการบริโภคของคนเท่านั้น (Fuller and Madella, 2009)

กล้วย เป็นพืชที่มีความสำคัญต่อสังคมมนุษย์มาอย่างยาวนาน มีปริมาณการผลิตสูงเป็นอันดับที่ 4 ของโลก รองจากข้าว, ข้าวสาลี และข้าวโพด (Scot *et al.*, 2006) ประโยชน์ของกล้วยนั้นมีมากมาย อาทิ เช่น รับประทานผลทั้งในรูปผลสด และแปรรูป ในขณะที่ส่วนอื่นๆ ของกล้วยยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น ใบใช้ห่ออาหาร หรือนำมาแปรรูปเป็นกระดาษ (ชัยพร และคณะ, 2546) เปลือกกล้วยและลำต้นสามารถใช้เลี้ยงสัตว์ (ไพศาล, 2511; สุเทพ, 2539) เป็นต้น

ผลกล้วยสดจะมีความอุดมสมบูรณ์ของคุณค่าทางโภชนาการสูงเมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่นๆ (ตารางที่ 1) จึงทำให้การบริโภคผลกล้วยสดเป็นที่นิยมทั่วไป โดยเฉพาะในประเทศไทยการบริโภคผลสดให้เป็นอาหารแก่เด็กทารกเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลาย เพื่อช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแก่ร่างกาย (Ross, 1992) พัฒนาการของสมอง (Lauritzen and Gold, 2003; Newsmax, 2010) และระบบขับถ่าย (Rabbani *et al.*, 2004) ผลกล้วยยังสามารถถูกนำมาแปรรูปเป็นขนมขบเคี้ยว (UNCST, 2007) เบียร์ (Carlson, 1990) เครื่องดื่ม (Viquez *et al.*, 1981) และไวน์ (Akubor *et al.*, 2003; Cheirsilp and Umsakul, 2008) ได้เช่นกัน

กล้วยจัดว่าเป็นไม้ผลอุตสาหกรรมที่สำคัญชนิดหนึ่งในเชิงเศรษฐศาสตร์เนื่องจากปริมาณการผลิต ชื่อ-ขาย และการบริโภคเป็นจำนวนมาก (Striffler and Moberg, 2003) อาจเพราะกล้วยแต่ละพันธุ์สามารถเจริญเติบโตครบวงจรตั้งแต่แตกหน่อจนติดผลในระยะเวลาที่รวดเร็ว (Rubaihayo and Gold, 1991) เช่น กล้วยหอม [*Musa* (AAA group)] สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตชุดแรกได้เมื่อปลูกได้ประมาณ 12 เดือน ในขณะที่กล้วยน้ำว้า [*Musa* (ABB group)] ใช้เวลานานประมาณ 14 เดือน (เบญจมาศ, 2538)

ในปี พ.ศ. 2554 ผลผลิตมวลรวมของกล้วยทั่วโลกมีประมาณ 107 ล้านตัน โดยประเทศไทยคิดอันดับผู้ผลิตรายใหญ่ในอันดับที่ 11 ของโลก มีผลผลิตประมาณ 1.6 ล้านตัน (Food and Agriculture Organization, 2013) และในปี พ.ศ. 2550 ประเทศไทยมีผลผลิตมวลรวมของกล้วยน้ำว้าจากตลาดภายในประเทศเป็นมูลค่าทางเศรษฐกิจกว่า 700 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2553)

กล้วยน้ำว้า

ภูมิปัญญาพื้นบ้านของคนไทยกล่าวว่า “กล้วย” เป็นพืชที่แสดงถึงความอุดมสมบูรณ์ จึงได้กลายเป็นสัญลักษณ์ที่เกี่ยวพันกับวิถีชีวิตของคนไทยในงานมงคลมาเป็นระยะเวลานาน เช่น งานแต่งงาน และงานลอยกระทง (สำออง และคณะ, 2555) โดยกล้วยน้ำว้าเป็นกลุ่มของกล้วยที่นิยมบริโภคมากที่สุดในประเทศไทย ซึ่งคาดการณ์ว่ามีการบริโภคสูงถึง 82 เปอร์เซ็นต์ ของกล้วยทั้งหมด (Boonyanuphap *et al.*, 2004; Chanadee *et al.*, 2011) นอกจากนำมาบริโภคผลสดแล้ว กล้วยน้ำว้ายังถูกนำไปแปรรูปเพื่อบริโภค เช่น คัสตาร์ด (แสงแข, 2554), แป้ง (ฉันทน์, 2552), กล้วยตากแห้ง (เกษร, 2511), ฟิลล์ (อันนิสา, 2550), กล้วยฉาบ (ศุภนิษา, 2553) และลูกอม ประเทศไทยมีกล้วยน้ำว้าหลายพันธุ์ เช่น กล้วยน้ำว้ากาบขาว, กล้วยน้ำว้าค่อม, กล้วยน้ำว้าแดง, กล้วยน้ำว้าเขียว หรือกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง (Bansiddhi, 2004; Biodiversity-Base Economy Development Office, 2011)

กลไกป้องกันการเข้าทำลายพืช

พืชในธรรมชาติ มีกลไกการป้องกันตัวเองจากศัตรูพืช ซึ่งเป็นกลไกที่พืชมีอยู่ก่อนที่ศัตรูพืชจะเข้าทำลาย (passive defences) โดยแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

1. การป้องกันทางกายภาพ (physical barriers) เป็นการป้องกันทางโครงสร้าง ซึ่งเกิดขึ้นตามการเจริญเติบโตของพืชอยู่แล้ว และช่วยป้องกันเซลล์พืชจากการเข้าทำลายของเชื้อโรค (penetrate) เช่น cuticle และ wax (Guest and Brown, 1997)
2. การป้องกันทางเคมี (chemical barriers) เกิดจากสารเคมีที่เซลล์พืชปล่อยออกมาตามธรรมชาติ (phytoanticipins) และมีผลยับยั้งการงอกเส้นใยของสปอร์เชื้อโรค เช่น glucosinolates ในพืชกลุ่ม brassicaceae สามารถยับยั้งการงอกเส้นใยของ *Alternaria brassicicola* (Soledade *et al.*, 2011)

นอกจากนี้ยังมีกลไกการป้องกันตัวเองจากศัตรูพืชที่เกิดขึ้นเมื่อศัตรูพืชเริ่มเข้าทำลาย (active defences) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่พืชได้ตอบสนองเมื่อศัตรูพืชรุกรานเข้ามาภายในเซลล์ โดยแบ่งตามช่วงเวลาในการตอบสนองเป็น 2 ชนิด คือ

1. Rapid active defences เป็นปฏิกิริยาที่มักเกิดขึ้นทันทีเมื่อเชื้อโรคเริ่มการเข้าทำลายภายในเซลล์ (penetrate) เช่น เกิด hypersensitivity reaction ที่ทำให้เซลล์ตายอย่างรวดเร็ว (programmed cell death) เมื่อถูกเชื้อโรคเข้าทำลาย เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเส้นใย (Heath, 2000; Lam *et al.* 2001)

นอกจากนี้พืชสามารถสร้าง phytoalexin เพื่อใช้ยับยั้ง หรือชะลอการแพร่กระจายของเชื้อโรค เช่น phenylphenalenone ในกล้วย (Otalvaro *et al.*, 2002)

2. Delayed active defense เป็นความสามารถในการซ่อมแซมเซลล์ของพืชในการป้องกันการเข้าทำลายซ้ำของเชื้อโรค (secondary infection) เช่น การสร้าง cork cell จาก secondary meristem ของพืช (Guest and Brown, 1997) หรือการสร้าง tylose ของกล้วย (Beckman, 1990)

โรค และแมลงศัตรู

กล้วยเป็นไม้ผลเมืองร้อน มักจะถูกเข้าทำลายด้วยโรค และแมลงอยู่เสมอ ที่พบทั่วไปในแปลงกล้วย คือ ค้างคาว, ไร้เดือนฝอย (*Radopholus similis*), แบคทีเรีย (*Pseudomonas solanacearum*), ไวรัส [Banana Bunchy Top Virus (BBTV) และ Banana Streak Virus (BSV)], เชื้อรา [Black Sigatoka Leaf Spot (*Mycosphaerella fijiensis*), Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) และ Moko disease (*Ralstonia solanacearum*)] (Ostmark, 1974; Constantinides and McHugh, 2003) และในบรรดาโรคที่กล่าวมานี้ Fusarium wilt หรือโรคตายพรายจัดเป็นโรคที่มีความสำคัญที่สุด เนื่องจากเคยเข้าทำลายแหล่งเพาะปลูกกล้วยเป็นวงกว้าง และสร้างความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นมูลค่าที่สูง (Vicente, 2004)

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาในผลสดของกล้วยหอม (AAA group), กล้วยน้ำว้า (ABB group), มันฝรั่ง และแอปเปิล น้ำหนัก 100 กรัม

สารอาหาร	กล้วยหอม	กล้วยน้ำว้า	มันฝรั่ง	แอปเปิล
น้ำ (g)	74.26	65.28	78.96	83.93
พลังงาน (kcal)	92	122	79	59
โปรตีน (g)	1.03	1.3	2.07	0.19
ไขมัน (g)	0.48	0.37	0.10	0.36
คาร์โบไฮเดรต (g)	23.43	31.89	17.98	15.25
แคลเซียม (mg)	6	3	7	7
เหล็ก (mg)	0.31	0.6	0.76	0.18
โพแทสเซียม (mg)	396	499	543	115
โซเดียม (mg)	1	4	6	0
วิตามินเอ (IU)	81	1127	0	53
วิตามินซี (mg)	9.1	18.4	19.7	5.7
ไรอะมิน (บี 1) (mg)	0.045	0.052	0.088	0.017
ไรโบฟลาวิน (บี 2) (mg)	0.100	0.054	0.035	0.014
ไนอาซิน (บี 3) (mg)	0.540	0.686	1.484	0.077
ไขมันอิ่มตัว (g)	0.185	0.143	0.026	0.058
ไขมันไม่อิ่มตัว (g)	0.089	0.069	0.043	0.105

ที่มา: ดัดแปลงจาก Sharrock and Lusty (2000)

Fusarium oxysporum

เชื้อรา *Fusarium* sp. อยู่ในวงศ์เดียวกับ *Gibberella fujikuroi* complex (GFC) หรืออยู่ในหมวด (section) *Liseola* ซึ่งมีทั้งเชื้อราที่ก่อและไม่ก่อให้เกิดโรค (Guenther and Trail, 2005; Zainudin *et al.*, 2008) โดยเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคนั้น จะผลิตสารพิษ (mycotoxin) (Leslie, 1991) ในประเทศไทยนั้น *Fusarium oxysporum* เป็นเชื้อราในดินที่ถูกพบมากที่สุด (ปิยะวดี, 2533) ซึ่งเข้าทำลายในพืชหลายชนิด เช่น ถั่ว (Okoth and Siameto, 2010), ข้าวโพด (ผ่องศรี, 2509), มะเขือเทศ (Edel-Hermann *et al.*, 2012), มันเทศ (Thompson *et al.*, 2011), พริก (Rampersad and Teelucksingh, 2011) และขึ้นฉ่าย (Lori *et al.*, 2008)

Fusarium oxysporum f.sp. *cubense* (Foc) เป็นลำดับย่อย (subdivision) ของเชื้อราที่เข้าทำลายพืชในสกุลกล้วย (Musa sp.) และในลำดับย่อยนี้ยังพบว่ามีพันธุ์ (race) ของเชื้อราที่จำเพาะต่อพันธุ์ของกล้วยอีกเช่นกัน (Correll, 1991) Foc ถูกพบทั้งสิ้น 4 พันธุ์ โดยพันธุ์ที่ 3 จะเข้าทำลายเฉพาะพุทธรักษา (*Heliconia* sp.) เท่านั้น (Vicente, 2004) ส่วนเชื้อรา 3 พันธุ์ที่เหลือนั้นจะเข้าทำลายกล้วยดังตารางที่ 2

ในประเทศไทยพบว่า การระบาดของโรคตายพรายได้กระจายอยู่ทุกภูมิภาคของประเทศ อย่างไรก็ตามการเข้าทำลายของเชื้อ Foc สามารถก่อให้เกิดโรคเฉพาะในกล้วยน้ำว้า (อภิรัชต์, 2544) ซึ่งมีเพียงเชื้อ Foc race 2 เท่านั้นที่สามารถเข้าทำลายกล้วยน้ำว้าได้ (Somrith *et al.*, 2011)

เชื้อราชนิดนี้ผลิตสปอร์ 3 ชนิดเพื่อใช้สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ คือ macroconidia, microconidia และ chlamydospores (Nelson, 1983; Rahman *et al.*, 2012) ในขณะที่เชื้อราชนิดนี้ไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Pietro *et al.*, 2003; Ploetz, 2006) ดังนั้น vegetative compatibility groups (VCGs) จึงถูกนำมาใช้ในการจัดและจำแนกกลุ่มเชื้อราชนิดนี้ (Moore *et al.*, 1991, 1995; Katan, 1999)

ตารางที่ 2 พืชอาศัยของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*

Foc race	พืชอาศัย
1	Musa (AAA group) ‘Gros Michel’
2	Musa (ABB group) ‘Nam Wa’
3	<i>Heliconia</i> sp.
4	Musa (AAA group) ‘Cavendish’

ที่มา: คัดแปลงจาก Bentley *et al.* (1995) และ Somrith *et al.* (2011)

วัฏจักรของเชื้อราชนิดนี้เริ่มจาก chlamydospores สัมผัสกับราก และถูกกระตุ้นด้วยความชื้นและสารเคมีที่รากปล่อยออกมาทำให้เกิดการงอกของเส้นใย (Buxton, 1962) เส้นใยที่งอกออกมานี้จะรุกรานเข้าสู่เซลล์พืชด้วยแรง adhesive (Brandes, 1919) หลังจากนั้นเชื้อราจะเริ่มลุกลามเข้าไปทำลายระบบท่อลำเลียง และเริ่มสร้างสปอร์เพื่อสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Groenewald, 2006) ซึ่งจะก่อให้เกิดลักษณะอาการของโรคตายพรายภายในลำต้นเทียม กล่าวคือ ระบบท่อลำเลียงจะถูกทำลาย และเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง จนกลายเป็นสีน้ำตาล บางครั้งอาจใช้เวลานานถึง 6 เดือนกว่าพืชจะแสดงอาการ (Thangavelu and Mustaffa, 2012) ในขณะเดียวกัน เมื่อระบบท่อลำเลียงถูกทำลาย การลำเลียงของเหลวจากรากไปสู่ใบจะถูกหยุด ส่งผลให้ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ลำต้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ใบจะโค้งลง และหักที่โคน จนท้ายที่สุดต้นกล้วยจะตาย (Ploetz, 2000; Agrios, 2005)

ในปัจจุบันยังไม่มีสารเคมีใดที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราชนิดนี้ ดังนั้นการใช้พันธุ์ต้านทานแทนพันธุ์อ่อนแอจึงเป็นวิธีการที่น่าจะดีที่สุด อีกทั้งยังเป็นการลดการใช้สารควบคุมศัตรูพืชซึ่งจะตกค้างในธรรมชาติเป็นระยะเวลานาน (Herbert and Marx, 1990; Muhammad and Othman, 2005) แต่โดยปกติแล้วการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีทั่วไปนั้นมักใช้เวลานานหลายปีตั้งแต่การคัดเลือกพันธุ์จนถึงการประเมินระดับความต้านทานต่อเชื้อ (Brennan, 1989) การย่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์จึงเป็นสิ่งที่จำเป็น (Spangenberg and Kishi, 2010)

โดยปกติแล้ว *Foc* จะปลดปล่อยสารประกอบจำพวก Hydrolytic enzymes เช่น cellulase, cutinase หรือ pectinase ออกมาทำลายผนังเซลล์ของพืช เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารในกระบวนการสืบทอดพันธุ์ (Knogge, 1996) นอกจาก Hydrolytic enzymes ที่เป็นอันตรายต่อพืชแล้ว *Foc* ยังสามารถผลิต และปลดปล่อยสารประกอบชนิดอื่นที่เป็นพิษต่อพืชได้อีก เช่น beauvericin, fumonisins, fusaproliferin, fusaric acid (FA), fusarins หรือ moniliformin (Leslie, 1999; Juma, 2010) สารเหล่านี้จัดเป็นสารพิษที่ไม่เจาะจงต่อพืชอาศัย (non-host-specific toxin) หรือกล่าวคือ เป็นสารพิษต่อพืชที่ไม่เลือกทำลาย ซึ่งโดยปกติแล้วจะมีผลต่อพื้นที่บริเวณราก (Bouizgarne *et al.*, 2006; Diniz and Oliveira, 2009)

Fusaric acid

ในบรรดาสารพิษที่ไม่เจาะจงต่อพืชอาศัย (non-host-specific toxin) ที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium* sp. พบว่ากรดฟูซาริก (Fusaric acid; FA) เป็นสารพิษที่เป็นที่รู้จักมากที่สุด (Groenewald, 2006) โดยสามารถก่อให้เกิดอาการในพืชทดสอบได้ แม้ไม่สามารถทำให้พืชเกิดอาการเหมือนกับเมื่อถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อ *Fusarium* sp. แต่ได้ถูกศึกษาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2504 (Sadasivan, 1961) แม้ว่าผลการทดสอบหลายครั้งไม่ให้ผลการทดสอบที่น่าพอใจก็ตาม (Lakshminarayanan and Subramanian, 1955; Svabova and Lebeda, 2005)

FA เป็นสารยับยั้งเอนไซม์ norepinephrine ที่สามารถทำให้เกิดอาการ chlorosis และ necrosis (Wang and Ng, 1999) ทำให้เกิดการรั่วไหลของอิเล็กตรอน (Pavlovkin *et al.*, 2004) และมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ ATP (Telles-Pupulin *et al.*, 1996)

การคัดเลือกพืชต้านทานในสภาพปลอดเชื้อ

นักปรับปรุงพันธุ์ได้นำเอาข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ มาประยุกต์ใช้ในการคัดเลือก และประเมินพืชทดสอบ (Ahuja and Kirti, 2004) เช่น การใช้เชื้อสาเหตุโรคพืช หรือสารพิษที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชนั้นๆ มาทดสอบกับพืชในสภาพปลอดเชื้อ (Ling *et al.*, 1985) เช่น Fernandez

et al. (2000) ได้รายงานว่าการถ่ายเชื้อ *Colletotrichum lindemuthianum* อายุ 20 วันในสภาพปลอดเชื้อ กับแคลล์ของถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris*) เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าถั่วแขก บางส่วนแสดงลักษณะ อาการอ่อนแอต่อเชื้อ ในขณะที่บางส่วนไม่แสดงอาการ

Frame et al. (1991) ได้ประสบความสำเร็จในการคัดเลือกถั่วอัลฟัลฟา (*Medicago sativa*) ใน สภาพปลอดเชื้อภายในระยะเวลา 12 วันภายหลังจากที่ปลูกถ่ายเชื้อ *Verticillium albo-atrum* อายุ 14 วัน

Kunkaew et al. (2010) ได้คัดเลือกมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) ที่สามารถ ต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส (anthracnose) ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *manihotis* ในระยะเวลา 4 วัน โดยการวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อราขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร ลงบนกลางเส้นใบของมันสำปะหลังในสภาพปลอดเชื้อ

Thakur et al. (2002) สามารถคัดเลือกต้นคาร์เนชั่น (*Dianthus caryophyllus* L.) ที่สามารถ ต้านทานเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* ในสภาพปลอดเชื้อหลังจากปลูกถ่ายเชื้อในสภาพปลอด เชื้อเป็นระยะเวลา 50 วัน

แม้ว่าการปลูกประเมินพืชทดสอบจะเป็นวิธีที่ให้ผลการทดลองเป็นที่น่าพอใจ แต่ความเสี่ยงใน การแพร่กระจายของเชื้อที่มีชีวิตไปสู่ธรรมชาติเป็นสิ่งที่อันตราย และควรป้องกันให้ดี การใช้สารพิษที่ สกัดจากเชื้อสาเหตุโรคอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ โดยมีแนวคิดว่ เชื้อสาเหตุของ โรคผลิตสารพิษซึ่งทำให้เกิดอาการของโรค ถ้าพืชทดสอบสามารถทนต่อสารพิษของเชื้อสาเหตุโรค นั้นๆ พืชนั้นน่าจะทนทานต่อเชื้อสาเหตุของโรคได้ (Alexander et al., 1997)

การคัดเลือกพันธุ์ต้านทานต่อ Fusaric acid (FA) ในสภาพปลอดเชื้อ

Chawla and Wenzel (1987) อ้างว่าใช้เวลามากกว่า 90 วันในการทดสอบเพื่อให้ได้แคลล์ข้าว บาร์เลย์ (*Hordeum vulgare*) ซึ่งเพาะเลี้ยงจากเอ็มบริโอ ที่มีความทนทานต่อ FA ความเข้มข้น 140 ppm

Remotti et al. (1997) ใช้ FA ความเข้มข้น 90 ppm ในการแยกสารแขวนลอยเซลล์แคลดีโอลัส (*Gladiolus grandiflorus*) กลุ่มที่ทนทานจากกลุ่มที่อ่อนแอต่อสารละลาย FA โดยใช้ระยะเวลาทดลอง 14 วัน ผลการทดสอบ คือ FA สามารถลดการเกิด plant regeneration แต่กลุ่มเซลล์ที่ทนทานจะสามารถ เจริญต่อไปได้

Curir *et al.* (2000) รายงานว่าเมื่อใช้ FA ความเข้มข้น 180 ppm กับลิลลี่ (*Lilium* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 30 วัน ไม่แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างระหว่างพันธุ์ด้านทาน และพันธุ์อ่อนแอ

Nasir and Riazuddin (2005) พบว่าต้นเกลดิโอลัส (*Gladiolus communis*) ที่ชักนำจากแคลลัส ซึ่งสามารถทนทานต่อ FA ความเข้มข้น 90 ppm มีความสามารถในการทนทานต่อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* ได้เช่นกัน

Wang *et al.* (2013) กล่าวว่า FA ความเข้มข้น 50 ppm สามารถก่อให้เกิดผลกระทบต่อการงอกของต้นแตงกวา (*Cucumis sativus*) ในสภาพปลอดเชื้อ และได้แนะนำให้ใช้สารละลาย FA ความเข้มข้นมากกว่า 100 ppm ต่อพืชทดสอบต่างๆ เพื่อให้พืชแสดงอาการเหี่ยว (wilt) ซึ่งน่าจะทำให้เกิดอาการเหมือนอาการของโรคที่แท้จริง

การคัดเลือกพันธุ์กล้วยต้านทานต่อเชื้อในสภาพปลอดเชื้อ

ระยะเวลากว่า 60 ปีที่งานวิจัยทั่วโลกพยายามแก้ปัญหาการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคพืชและแมลงศัตรูพืชที่เข้าทำลายการเพาะปลูกกล้วย โดยการคัดเลือกด้วยจุลินทรีย์ และสารพิษต่างๆ เพื่อคัดเลือกพันธุ์กล้วยที่ตรงตามความต้องการ (Hwang and Ko, 2004) เช่น Matsumoto *et al.* (1995) ได้ใช้ FA ความเข้มข้น 0.1 ppm แยกระหว่างกล้วย [*Musa* (AAA and ABB group)] ที่ต้านทาน และอ่อนแอต่อสารพิษในสภาพปลอดเชื้อ

Smith *et al.* (1995) ได้ใช้เชื้อ *Foc* race 4 คัดเลือกกล้วยหอม [*Musa* (AAA group)] ที่ผ่านการฉายรังสีในสภาพปลอดเชื้อ ได้ต้นที่ทนทานต่อโรค

Bhagwat and Duncan (1998) ได้ประสบความสำเร็จในการใช้สารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 30 วัน ในการคัดเลือกความทนทานในสภาพปลอดเชื้อของกล้วยหอม [*Musa* (AAA group)] ที่ถูกฉายรังสี

Twizeyimana *et al.* (2007) ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของ *Mycosphaerella fijiensis* ความหนาแน่น 10^4 conidia/ml ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรค Black Sigatoka Leaf Spot ในการคัดเลือกความทนทานของกล้วยหลายกลุ่ม [*Musa* (AA, AAA, AAB, and AAAB group)] เป็นระยะเวลา 32 วัน และได้แนะนำว่า การใช้วิธีคัดเลือกความทนทานในสภาพปลอดเชื้อสามารถย่นระยะเวลาในการคัดเลือกความทนทานได้มากกว่าสภาพแปลงปลูก

Wu *et al.* (2010) ได้ประสบความสำเร็จในการใช้สารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* race 4 ความหนาแน่น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในการคัดเลือกกล้วย [*Musa* (AAA and ABB group)] ที่ทนทานในระยะเวลา 30 วัน

Dita *et al.* (2011) ได้รายงานว่าการใช้สารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* race 4 ที่ความหนาแน่น 10^5 conidia/ml เป็นระยะเวลา 40 วันต่อกล้วย [*Musa* (AAA and AAB)] อายุ 3 เดือนเป็นวิธีการมาตรฐาน และรวดเร็วที่สุดในการศึกษาลักษณะอาการภายใน ถึงแม้ว่าต้องใช้เวลา 40 วัน

Namukwaya *et al.* (2012) ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของ *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* ความหนาแน่น 10^8 colony-forming units per ml (cfu/ml) ในการทดสอบกล้วย [*Musa* (AAA and ABB)] คัดแปลงพันธุกรรม แต่ไม่พบอาการหลังจากการปลูกถ่ายเชื้อ 60 วัน

อุปกรณ์ และวิธีการ

การเตรียมพืชทดลอง

ในการทดลองที่ 1 และ 2 ได้ใช้ต้นกล้วยน้ำว้า [*Musa* (ABB group)] ในสภาพปลอดเชื้อ 10 พันธุ์ คือ กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ, กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน, กล้วยน้ำว้าพระราชทาน, กล้วยน้ำว้ากาบขาว, กล้วยน้ำว้า น้ำไท, กล้วยน้ำว้าพระประแดง, กล้วยน้ำว้าค่อม, กล้วยน้ำว้าขาวกำแพงเพชร, กล้วยน้ำว้าดำ และกล้วยน้ำว้าชุมพร และกล้วยหอมทอง [*Musa* (AAA) ‘Hom Thong’] ได้ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS คัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร (จามจุรี และคณะ, 2554) ที่ถูกปรับค่าความเป็นกรด-เบสอยู่ในช่วง 5.6-5.8 โดยใช้ HCl ความเข้มข้น 1N และ KOH ความเข้มข้น 1N เพาะเลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิ 26 ± 2 °C ภายใต้หลอดฟลูออเรสเซนต์ (Philips Lifemax®, Philips N.V., The Netherlands) ที่ $18.2 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน โดยต้นกล้วยทุกพันธุ์ในการทดลองจะถูกเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 30 วัน

ในการทดลองที่ 3 ได้ใช้ต้นกล้วยน้ำว้า 7 พันธุ์ คือ กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ, กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน, กล้วยน้ำว้ากาบขาว, กล้วยน้ำว้าค่อม, กล้วยน้ำว้าท่ายาง, กล้วยน้ำว้านว และ กล้วยน้ำว้าปากช่อง 50 และต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ มาทำการอนุบาลในโรงเรือนโดยได้นำต้นกล้วยมาปลูกลงในถาดหลุม และคลุมด้วยถุงพลาสติกใสที่พรมน้ำระยะเวลาประมาณ 2-3 สัปดาห์แล้วจึงนำออกปลูกลงกระถาง

ต้นกล้วยในการทดลองได้รับอนุเคราะห์จาก ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (พันธุ์พืช เพาะเลี้ยง) จังหวัดพิษณุโลก และจังหวัดชลบุรี สถานีวิจัยปากช่อง และฝ่ายปฏิบัติการวิจัย และเรือนปลูกพืชทดลอง (Central laboratory and greenhouse complex) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แหล่งที่มาของกล้วยพันธุ์ต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

พันธุ์กล้วย	สถานที่
น้ำว่ากาวขาว	ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) จังหวัดพิษณุโลก
น้ำว่าขาวกำแพงเพชร	ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) จังหวัดชลบุรี
น้ำว่าค่อม	สถานีวิจัยปากช่อง และฝ่ายปฏิบัติการวิจัย
น้ำว่าชุมพร	ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) จังหวัดชลบุรี
น้ำว่าดำ	สถานีวิจัยปากช่อง และฝ่ายปฏิบัติการวิจัย
น้ำว่าน้ำไท	ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) จังหวัดชลบุรี
น้ำว่าพระประแดง	ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) จังหวัดชลบุรี
น้ำว่าพระราชทาน	ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) จังหวัด พิษณุโลก
น้ำว่ามะลิอ่อน	ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) จังหวัดพิษณุโลก
น้ำว่าละอองน้ำ	สวนละอองน้ำ จังหวัดชลบุรี
หอมทอง	เรือนปลูกพืชทดลอง (Central laboratory and greenhouse complex) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ตัดกาบของลำต้นเทียมที่มีสีน้ำตาลอ่อน จากต้นกล้วยน้ำว่าซึ่งไม่ทราบชื่อพันธุ์ที่แสดงอาการของโรคตายพราย (ภาพที่ 1) ซึ่งเก็บจาก หมู่ที่ 9 ตำบลทองมงคล อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 77230 โดยได้ตัดไกล์บริเวณโคนของลำต้น ให้มีความกว้างประมาณ 1 เซนติเมตร ความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร นำมาแช่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ (Clorox® 10%) เพื่อฆ่าเชื้อบริเวณผิวนอก เป็นจำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที และได้ทำการล้างกาบของลำต้นเทียมจากต้นกล้วยน้ำว่าด้วยน้ำ Reverse Osmosis (RO) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เป็นจำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที หลังจากการแช่ลำต้นเทียมจากต้นกล้วยน้ำว่าครั้งสุดท้ายแล้ว จึงได้นำกาบของลำต้นเทียม

จากต้นกล้วยน้ำว้ามาตัดให้มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วจึงนำชิ้นกล้วยน้ำว้าขนาดเล็กไปวางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ในจานเลี้ยงเชื้อ (Choi *et al.*, 1999)



ภาพที่ 1 ลำต้นตัดขวางของกล้วยน้ำว้า บริเวณลูกศรชี้แสดงอาการภายในของโรคตายพราย

การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ตรวจสอบเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA โดยการส่องดูเส้นใย และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน (compound microscope) และเมื่อพบเส้นใย และสปอร์ที่ต้องการแล้ว จึงได้ตัดจุดที่เส้นใยมีการงอกเบาบาง และห่างจากการปนเปื้อนด้วย cock borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร มาวางบนอาหาร PDA ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ ทำการตรวจสอบ และย้ายเส้นใยลงอาหาร PDA ทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ที่ปราศจากจุลินทรีย์อื่นปนเปื้อน

หลังจากที่ได้เชื้อบริสุทธิ์ที่คาดว่าเป็น *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) แล้ว จึงได้ทำการตัดจุดที่เส้นใยมีการงอกเบาบางจำนวน 1 ชิ้นด้วย cock borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ไปวางตรงกึ่งกลางระหว่างใบคาร์เนชั่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ carnation leaf agar (CLA) เป็นเวลา 3 สัปดาห์เพื่อตรวจสอบสปอร์ (Seifet, 1996)

เมื่อครบกำหนดเวลา ได้ทำการเก็บเส้นใยที่ปกคลุมอยู่บนใบคาร์เนชั่นไปตรวจสอบสปอร์ และเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน เพื่อตรวจสอบว่าเชื้อบริสุทธิ์ที่ทำการแยกมานั้น เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ต้องการหรือไม่

การเตรียมสารแขวนลอย

ภายหลังจากตรวจสอบเชื้อบริสุทธิ์ว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ต้องการแล้ว จึงได้ตัด และย้ายชิ้นวุ้นที่มี *Foc* จากอาหาร PDA จำนวน 1 ชิ้น ด้วย cock borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร แล้วได้นำไปใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose broth (PDB) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุในขวดทรงชมพู ขนาด 250 มิลลิลิตร นำขวดดังกล่าวไปวางบนเครื่องเขย่าแบบ orbital หมุนเร็ว 100 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิ 26 ± 2 °C ภายใต้อัลตราซาวด์ (Philips Lifemax®, Philips N.V., The Netherlands) ความเข้มแสง $18.2 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

หลังจากเพาะเลี้ยงแล้ว 30 วัน (Charoenporn *et al.*, 2010) จึงนำสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* มาเจือจางโดยใช้วิธีการ serial dilution ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เจือจางเพิ่มขึ้นครั้งละ 10 เท่า โดยได้เริ่มจากการกรองสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ด้วยผ้าขาวบาง ได้สารแขวนลอย 1 เท่า หลังจากนั้นได้ดูดสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* จากความหนาแน่น 1 เท่า ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาเจือจางลงในขวดที่บรรจุน้ำ RO ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 9 มิลลิลิตร ได้สารแขวนลอยเจือจาง 10 เท่า จากนั้นดูดสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* เจือจาง 10 เท่า ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาเจือจางลงในขวดที่บรรจุน้ำ RO ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 9 มิลลิลิตร ได้สารแขวนลอยเจือจาง 10^2 เท่า และได้ทำการเจือจางลำดับส่วนวิธีเดียวกันนี้จนกระทั่งได้สารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* เจือจาง 10^3 เท่า 10^4 เท่า 10^5 เท่า และ 10^6 เท่า

นำสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* มานับจำนวนสปอร์ตามวิธีของ ปาริชาติ (2553) ด้วย Haemocytometer ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์เชิงซ้อนโดยบริเวณที่ใช้ในการนับสปอร์จะแบ่งออกเป็น 9 ช่อง ในช่องตรงกลางหมายเลข 5 จะถูกแบ่งเป็นช่องสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก 25 ช่อง ในช่องขนาดเล็กนี้ได้ถูกแบ่งย่อยออกเป็น 16 ช่องเล็ก

การนับสปอร์ได้อยู่ในตรงกลางหมายเลข 5 โดยทำการนับสปอร์แนวทแยงมุมตั้งแต่ช่องที่ 1 ถึงช่องที่ 5 เป็นจำนวน 2 ครั้ง จากนั้นได้หาค่าเฉลี่ยแล้วจึงนำมาคำนวณหาความหนาแน่น โดยนับจากสารแขวนลอยที่มีความเจือจาง 10^0 , 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 และ 10^6 เท่า และคำนวณหาความหนาแน่นของสปอร์ จากสูตร

$$\text{ความหนาแน่นของเชื้อ (สปอร์ต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{จำนวนสปอร์เฉลี่ยต่อช่อง}}{2 \times 10^{-5}}$$

การทดลองที่ 1 ศึกษาความหนาแน่น และระยะเวลาที่เหมาะสมของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ในการเข้าทำลายกล้วยในสภาพปลอดเชื้อ

1.1 ศึกษาระยะเวลาการงอกของเส้นใย *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* บนอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) ในสภาพปลอดเชื้อ

ทำการหดยีสราแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* หนาแน่น 1.5×10^8 และ 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนอาหารแข็งสูตร MS คัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อศึกษาระยะเวลาการงอกของเส้นใย *Foc* บนอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยน้ำว้า เพาะเชื้อ 3 ขวดต่อความหนาแน่น โดยบันทึกผลการทดลองจากจำนวนวันที่พบเส้นใย *Foc* เจริญให้เห็นบนผิวอาหาร MS ในสภาพปลอดเชื้อ

1.2 ศึกษาความเข้มข้น และระยะเวลาการเข้าทำลายของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ในต้นกล้วยหอมทอง และกล้วยน้ำว้าละอองน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นกล้วยหอมทองและกล้วยน้ำว้าละอองน้ำมาทำแผลที่ราก โดยฉีดยาบริเวณราก แต่ไม่ทำให้รากขาดออกจากกัน แล้วจึงนำไปจุ่มลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 และ 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ก่อนย้ายลงในอาหาร MS ขวดใหม่ (Purwati *et al.*, 2008) บันทึกลักษณะสีของใบ ลำต้นเหี่ยว และความเปลี่ยนแปลงของเส้นใยโดยให้เป็นระดับคะแนน ทุก 7, 14 และ 21 วัน ทำ 2 ซ้ำ ใช้กล้วยซ้ำละ 3 ต้นต่อพันธุ์ ทั้งนี้มีเกณฑ์การให้คะแนน คือ

1. ใบ

- สีเขียว ได้ 1 คะแนน
- สีเหลือง ได้ 2 คะแนน
- สีเหลือง และเหี่ยว ได้ 3 คะแนน
- สีนํ้าตาลแห้ง ได้ 4 คะแนน

2. ลำต้นเหี่ยว

- สีเขียว ได้ 1 คะแนน
- สีนํ้าตาล ได้ 2 คะแนน
- สีนํ้าตาลแก่ ได้ 3 คะแนน

3. เส้นใย

- สีขาว ได้ 1 คะแนน
- สีขาว และม่วง ได้ 2 คะแนน

1.3 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ในการเข้าทำลายกล้วยน้ำว้าละอองน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปลูกถ่ายเชื้อเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.2 เพื่อศึกษาลักษณะอาการภายในของหน่วยทดลองทุกวัน เป็นระยะเวลา 10 วัน ทำ 10 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ 1 ต้น ทุกหน่วยทดลองโดยทำการตัดลำต้นเทียมตามขวางที่ความสูงประมาณ 5 มิลลิเมตร ห่างจากผิวหน้าของอาหารที่ถูกปกคลุมด้วยเส้นใยสีขาวของ *Foc* (ภาพที่ 2) แล้วนำลำต้นเทียมที่ได้ถูกตัดตามขวางไปตรวจสอบการอุดตันภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ



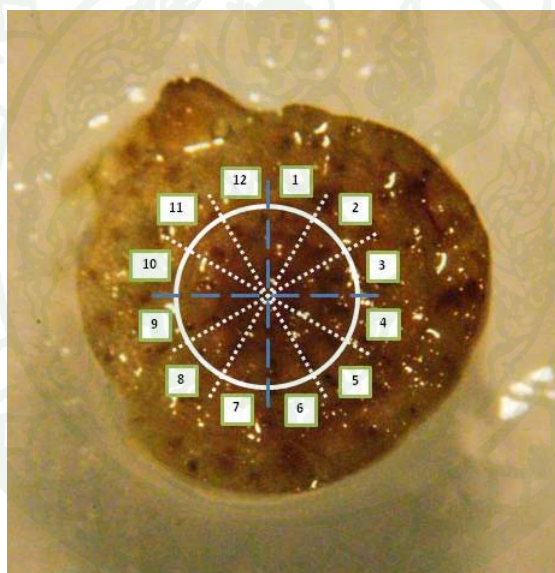
ภาพที่ 2 ต้นกล้วยน้ำว้าละอองน้ำที่ถูก *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ขึ้นปกคลุมบริเวณโคนต้น และเส้นรอยประสีแดงแสดงบริเวณที่ทำการตัดแนวขวาง

1.4 ศึกษาลักษณะความแตกต่างของกล้วยน้ำว้า 10 พันธุ์หลังจากถูกสารแขวนลอยสปอร์ของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เข้าทำลาย 7 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ

ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปลูกถ่ายเชื้อเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.2 ในกล้วยน้ำว้า 10 พันธุ์ คือ กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ, กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน, กล้วยน้ำว้าพระราชทาน, กล้วยน้ำว้ากาบขาว, กล้วยน้ำว้าน้ำไท, กล้วยน้ำว้าพระประแดง, กล้วยน้ำว้าค่อม, กล้วยน้ำว้าขาวกำแพงเพชร, กล้วยน้ำว้าดำ และกล้วยน้ำว้าชุมพร และกล้วยหอมทอง โดยได้ใช้

กล้วยพันธุ์ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น แล้วศึกษาลักษณะอาการภายในของกล้วยเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.3 เมื่อครบ 7 วันภายหลังจากจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

การประเมินลักษณะอาการภายในใช้วิธีการให้คะแนน โดยแบ่งการให้คะแนนตามช่องในแกนกลางด้านในสุดของลำต้นกล้วย พิจารณาจากการอุดตัน และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลของท่อลำเลียง ทำการแบ่งช่องทั้งหมดเป็น 12 ช่อง และให้คะแนนตามสีในช่องนั้นๆ ที่เปลี่ยนไป (ภาพที่ 3) (ดัดแปลงจาก Orjeda, 1998) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) วิเคราะห์ผลทางสถิติโดย Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 3 ภาพตัดแนวขวาง และเกณฑ์การให้คะแนนอาการของโรคตามช่องทั้ง 12 ช่อง เฉพาะภายในวงกลมสีขาว

การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมของ Fusaric acid ต่อการเกิดอาการของโรคในกล้วยน้ำว้าภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

2.1 ศึกษาความเข้มข้น และลักษณะอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้าละอองน้ำที่ได้รับสารละลาย Fusaric acid ในสภาพปลอดเชื้อ

เตรียมอาหารแข็งดัดแปลงสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตรที่เติม Fusaric acid (FA) ซึ่งถูกละลายด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิตร เนื่องจาก FA ไม่สามารถทำ

การนี้มาเชื่อได้ (Smith and MacDonald, 1990) โดยแบ่งอาหารเป็น 2 กลุ่มตามความเข้มข้นสุดท้ายของ FA คือ

1. FA ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 และ 0.5 ppm ซึ่งใช้ FA หนัก 0.00005 0.0001 0.0002 0.0004 และ 0.0005 มิลลิกรัม ตามลำดับ สำหรับอาหารปริมาตรสุดท้าย 1.0 ลิตร

2. FA ความเข้มข้น 1, 2, 10, 12, 16, 20, 24, 28 และ 130 ppm ซึ่งใช้ FA หนัก 0.0001 0.0002 0.0010 0.0012 0.0016 0.0020 0.0024 0.0028 และ 0.0130 มิลลิกรัม ตามลำดับ สำหรับอาหาร ปริมาตรสุดท้าย 0.1 ลิตร

หลังจากทดสอบละลาย FA ลงในอาหาร MS แล้ว จึงเขย่าขวดอาหาร MS ก่อนเทลงขวดแก้ว ขวดละประมาณ 15 มิลลิลิตร แล้วจึงนำขวดอาหารวางทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อน ของจุลินทรีย์ หลังจากตรวจสอบจนแน่ใจว่าไม่พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ จึงทำการย้ายต้นกล้วย น้ำว้ามาใส่ในอาหาร MS มี FA ความเข้มข้นต่างๆ โดยทำแปลที่รากเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.2

ประเมินลักษณะอาการภายนอกโดยการให้คะแนน ทั้งนี้เกณฑ์การให้คะแนน คือ ลำต้น ปกติ ได้ 0 คะแนน และลำต้นที่เกิดการเปลี่ยนสีภายนอกได้ 1 คะแนน มีหน่วยทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้ กล้วย 1 ต้น สังเกตลักษณะอาการภายนอกของต้นกล้วยทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 42 วัน ซึ่งภายหลังจาก เก็บผลคะแนนแล้ว ได้ทำการแปลงข้อมูลด้วยสูตร ข้อมูลใหม่ = $\sqrt{X+1}$ โดยแทนที่ X ด้วยคะแนนที่ได้ เก็บจากการประเมิน เนื่องจากข้อมูลมีค่าเป็น 0 จำนวนหนึ่ง (จริญ, 2534) ทำการทดลองโดยวางแผนการ ทดลองแบบกลุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดย ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ ข้อมูลแบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

2.2 ศึกษาความเข้มข้นของ Fusaric acid ที่มีผลต่อกล้วยน้ำว้าและกล้วยหอมทองในสภาพปลอด เชื้อ

ทำการเตรียมอาหารแข็งดัดแปลงสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ FA ความเข้มข้น 130 และ 260 ppm โดยใช้วิธีการเตรียมอาหารเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

ทำการย้ายกล้วยน้ำว้า 10 พันธุ์ และกล้วยหอมทอง มาใส่ในอาหาร MS ที่เติม FA โดยทำ แปลที่รากเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.2 มีหน่วยทดลอง 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้กล้วยพันธุ์ละ 3 ต้น

เก็บผลการทดลองโดยดูลักษณะอาการภายนอก และภายใน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน โดยแปลงข้อมูลด้วยสูตร $\sqrt{X+1}$ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1 และอิงหลักการประเมินและให้คะแนนเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.4 ทำการทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดย ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

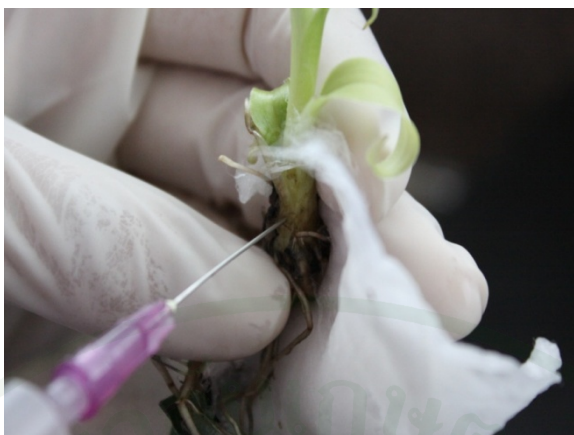
การทดลองที่ 3 ศึกษาความเข้มข้น ระยะเวลา และปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลาย Fusaric acid สำหรับกล้วยน้ำว้า

3.1 ศึกษาความเข้มข้น และลักษณะอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid เจือจางด้วย เอทานอล

เตรียมสารละลาย Fusaric acid (FA) ในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้มีความเข้มข้น 10,000 ppm หลังจากนั้นทำการเจือจางด้วยน้ำ RO ให้มีความเข้มข้น 1,000 100 และ 10 ppm ตามลำดับ และได้ทำการฉีดสารละลาย FA ทั้ง 4 ความเข้มข้น ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บริเวณหน่อของกล้วยน้ำว้ากบขาวด้วยเข็มเบอร์ 24 ขนาด 1 นิ้ว (ภาพที่ 4) นอกจากนี้ ได้ทำการฉีดเอทานอลความเข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์ กรดไนตริกความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ และน้ำ RO ในปริมาตรที่เท่ากันลงในกล้วยน้ำว้ากบขาวอีกกลุ่มหนึ่งเพื่อเปรียบเทียบผลของตัวทำลายและกรดต่อลักษณะอาการภายนอก ทำ 5 ซ้ำ ใช้กล้วยน้ำว้ากบขาวชำละ 1 ต้น สังเกตลักษณะอาการภายนอกของต้นกล้วยทุกวัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

เก็บผลการทดลองโดยการประเมินลักษณะอาการภายนอกโดยการให้คะแนน มีเกณฑ์การให้คะแนน คือ

- | | |
|---------------------------|-------------|
| 1. ลำต้นปกติ ไม่เปลี่ยนสี | ได้ 1 คะแนน |
| 2. ลำต้นสีน้ำตาล | ได้ 2 คะแนน |
| 3. ลำต้นสีน้ำตาลเข้ม | ได้ 3 คะแนน |
| 4. ตาย | ได้ 4 คะแนน |



ภาพที่ 4 การฉีดสารละลาย Fusaric acid ความเข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บริเวณหน่อกล้วย

3.2 ศึกษาความเข้มข้น และลักษณะอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid ที่เจือจางด้วยน้ำ Reverse Osmosis

เตรียมสารละลาย Fusaric acid (FA) ในน้ำ RO ให้มีความเข้มข้น 10,000 ppm หลังจากนั้นทำการเจือจางด้วยน้ำ RO ให้มีความเข้มข้น 1,000 100 และ 10 ppm ตามลำดับ และได้ทำการฉีดสารละลาย FA ทั้ง 4 ความเข้มข้น ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่บริเวณหน่อของกล้วยน้ำว้ากาบขาวด้วยวิธีการเช่นเดียวกับในการทดลองที่ 3.1 เก็บผลการทดลองโดยการประเมินลักษณะอาการภายนอกด้วยการให้คะแนนเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1 การทดลองนี้ทำ 6 ซ้ำ ใช้กล้วยน้ำว้ากาบขาวชำละ 1 ต้น

3.3 ศึกษาปริมาณสารละลาย Fusaric acid ที่มีผลต่อการเกิดอาการในกล้วยน้ำว้ากาบขาว

ใช้สารละลาย FA ในน้ำ RO ความเข้มข้น 1,000 ppm ฉีดเข้าต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวด้วยวิธีการเช่นเดียวกับในการทดลองที่ 3.1 ด้วยปริมาณของสารละลายที่ต่างกัน คือ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร

ประเมินลักษณะอาการภายนอกด้วยการให้คะแนนเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1 ทำ 5 ซ้ำ ใช้กล้วยน้ำว้ากาบขาวชำละ 1 ต้น สังเกตลักษณะอาการภายนอกของต้นกล้วยทุกวัน เป็นระยะเวลา 9 วัน

3.4 ศึกษาการตอบสนองของกล้วยน้ำว้า 7 พันธุ์ และกล้วยหอมทองที่ฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid ความเข้มข้น 1,000 ppm ในน้ำ Reverse Osmosis

ได้ฉีดสารละลาย FA ในน้ำ RO ความเข้มข้น 1,000 ppm เข้าลำต้นกล้วยน้ำว้า 7 พันธุ์ คือ กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ, กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน, กล้วยน้ำว้ากาบขาว, กล้วยน้ำว้าค่อม, กล้วยน้ำว้าท่ายาง, กล้วยน้ำว้าเนวล และ กล้วยน้ำว้าปากช่อง 50 และกล้วยหอมทอง พันธุ์ละ 12 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น ศึกษา ลักษณะอาการภายนอกของหน่วยทดลองหลังจากที่ฉีดสารละลาย FA แล้ว 8 วัน โดยใช้วิธีทำการฉีด สารละลาย FA เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1 ประเมินลักษณะอาการภายนอกทำโดยการให้คะแนนแผล ของต้นกล้วยบริเวณที่ทำการฉีดสารละลาย FA โดยแบ่งเกณฑ์การให้คะแนนตามความยาวของแผล คือ

- | | |
|---|-------------|
| 1. แผลขนาดปกติมีความยาวของแผลน้อยกว่า 1 เซนติเมตร | ได้ 1 คะแนน |
| 2. แผลขนาดเล็กมีความยาวของแผล 1-2 เซนติเมตร | ได้ 2 คะแนน |
| 3. แผลขนาดปานกลางมีความยาวของแผล 2-5 เซนติเมตร | ได้ 3 คะแนน |
| 4. แผลขนาดใหญ่มีความยาวของแผลมากกว่า 5 เซนติเมตร | ได้ 4 คะแนน |
| 5. ลำต้นหัก หรือตาย | ได้ 5 คะแนน |

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) วิเคราะห์ผลทางสถิติโดย ANOVA และ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลอง

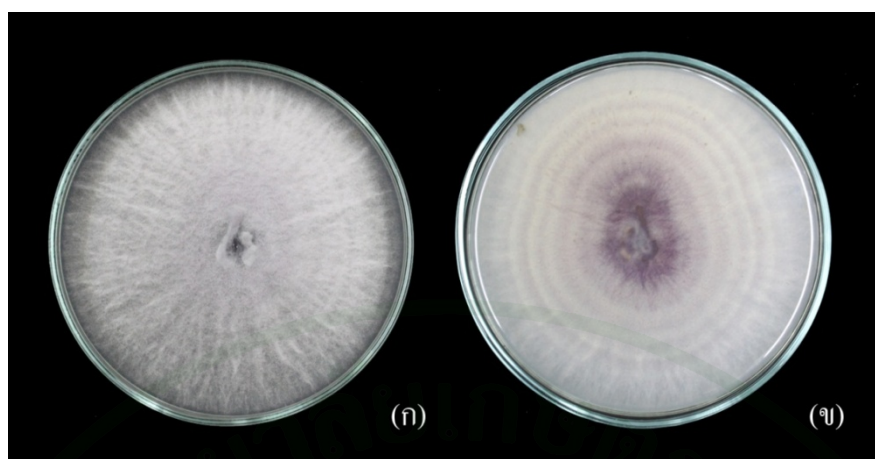
การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคพืช

หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ (ภาพที่ 5) พบว่าหน้าผิวดอาหาร PDA มีเส้นใยเป็นสีขาว (ภาพที่ 5-ก) และหลังผิวดอาหาร PDA มีสีม่วงเล็กน้อยบริเวณกลางจานแก้ว (ภาพที่ 5-ข) เส้นใยมีลักษณะเป็นปุยฟูสีขาวซึ่งเป็นลักษณะของ *Fusarium* sp. (Fourie *et al.*, 2009)

หลังจากเพาะเลี้ยง *Fusarium* sp. บนอาหาร CLA เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์พบว่าเส้นใยเป็นสีขาว มีลักษณะฟูเล็กน้อย (ภาพที่ 6) เมื่อทำการเขี่ยเส้นใย และตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน ได้พบสปอร์ 3 ชนิดซึ่งเป็นลักษณะของ *Fusarium oxysporum* (Booth, 1971; Nelson, 1990; Leslie and Summerell, 2006) คือ

1. มาโครโคนิเดีย (Macroconidia) มีลักษณะคล้ายกระสวย โค้ง และยาว ส่วนหัว (Apical) ลักษณะมน ไม่แหลม ในขณะที่ส่วนฐาน (Basal) มีลักษณะเป็น Foot-shaped เซลล์ใส ไม่มีสี และมีผนังกัน 3-5 septa (ภาพที่ 7-ก)
2. ไมโครโคนิเดีย (Microconidia) มีรูปร่างกลม หรือรี ไม่มีสี ใน 1 สปอร์ อาจมีได้ 1 หรือ 2 เซลล์ พบบริเวณก้านชูสปอร์ (conidiophore) (ภาพที่ 7-ข)
3. คลาไมโดสปอร์ (Chlamydospore) มีรูปร่างกลม อาจคล้ายรูปไข่ ไม่มีสี อาจพบเป็นเซลล์เดี่ยว หรือเป็นคู่ มักพบบริเวณระหว่างเส้นใย (ภาพที่ 7-ค)

เนื่องจาก *Fusarium oxysporum* ที่แยกได้นี้ ได้จากเนื้อเยื่อภายในต้นกล้วย จึงเชื่อได้ว่าเป็น *Forma specialis* (f.sp.) *cubense* เพราะเป็น forma species เดียวที่สามารถเข้าทำลายต้นกล้วยได้ (Bentley *et al.* 1995)



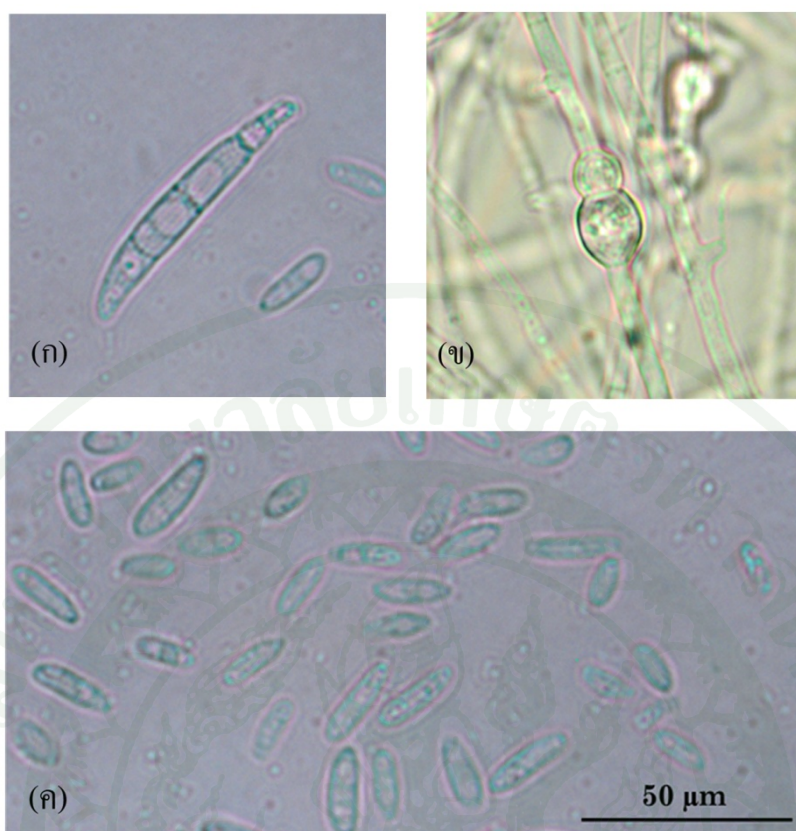
ภาพที่ 5 *Fusarium oxysporum* ที่เจริญบนอาหาร potato dextrose agar เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์

ก) ด้านหน้าอาหาร

ข) ด้านหลังอาหาร



ภาพที่ 6 *Fusarium oxysporum* ที่เจริญบนอาหาร carnation leaf agar เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์



ภาพที่ 7 ลักษณะสปอร์ชนิดต่างๆ ของ *Fusarium oxysporum*

ก) มาโครโคนิเดีย (Macroconidia)

ข) ไมโครโคนิเดีย (Microconidia)

ค) คลาไมโดสปอร์ (Chlamydospore)

การวัดปริมาณสปอร์ของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*

การนับสปอร์ และหาความหนาแน่นของเชื้อ *Foc* ซึ่งได้ทำตามวิธีการของ ปาริชาติ (2553) พบว่าสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ที่ไม่ได้เจือจาง มีสปอร์เฉลี่ย 9.6 สปอร์ต่อช่อง ทำให้มีความหนาแน่นสปอร์จากการคำนวณเป็น 4.8×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สารแขวนลอยสปอร์ที่เจือจาง 10^1 เท่า มีสปอร์เฉลี่ย 5.4 สปอร์ต่อช่อง ทำให้มีความหนาแน่นสปอร์จากการคำนวณเป็น 2.7×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สารแขวนลอยสปอร์ที่เจือจาง 10^2 เท่า มีสปอร์เฉลี่ย 0.7 สปอร์ต่อช่อง ทำให้มีความหนาแน่นสปอร์จากการคำนวณเป็น 3.5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ที่เจือจาง 10^3 เท่า มีสปอร์เฉลี่ย 0.6 สปอร์ต่อช่อง ทำให้มีความหนาแน่นสปอร์จากการคำนวณเป็น 3.0×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ที่เจือจาง 10^4 เท่า มีสปอร์เฉลี่ย 0.3 สปอร์ต่อช่อง ทำให้มีความหนาแน่นสปอร์จากการคำนวณเป็น 1.5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สารแขวนลอยสปอร์ที่เจือจาง 10^5 เท่า มีสปอร์เฉลี่ย 0.2 สปอร์ต่อช่อง ทำให้มีความหนาแน่นสปอร์จากการคำนวณเป็น 1.0×10^4 สปอร์ต่อ

มิลลิลิตร และสารแขวนลอยสปอร์ที่เจือจาง 10^6 เท่า มีสปอร์เฉลี่ย 0.1 สปอร์ต่อช่อง ทำให้มีความหนาแน่นสปอร์จากการคำนวณเป็น 5.0×10^3 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 จำนวนสปอร์ในสารแขวนลอยสปอร์ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ที่นับด้วย Haemocytometer จากสารแขวนลอยที่เจือจางระดับต่างๆ จากเชื้อที่เพาะเลี้ยงนาน 30 วัน

ความเจือจาง	สปอร์เฉลี่ยต่อช่อง ^{1/}	ความหนาแน่นสปอร์ <i>Foc</i> (สปอร์ต่อมิลลิลิตร)
10^0	9.6	4.8×10^5
10^1	5.4	2.7×10^5
10^2	0.7	3.5×10^4
10^3	0.6	3.0×10^4
10^4	0.3	1.5×10^4
10^5	0.2	1.0×10^4
10^6	0.1	5.0×10^3

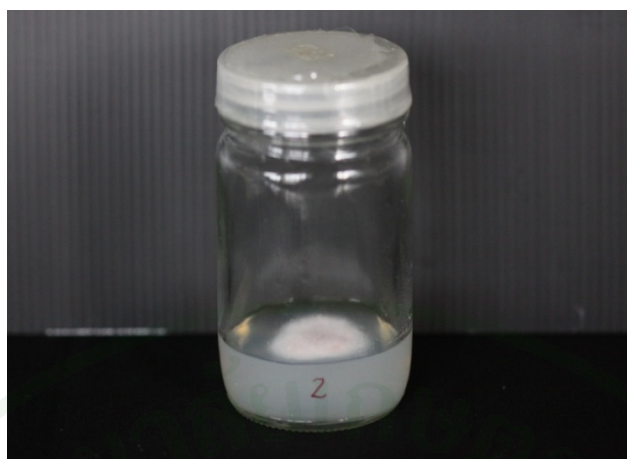
หมายเหตุ ^{1/} ช่อง = 2 ลูกบาศก์มิลลิเมตร

การทดลองที่ 1 ความหนาแน่น และระยะเวลาที่เหมาะสมของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ในการเข้าทำลายกล้วยในสภาพปลอดเชื้อ

1.1 ระยะเวลาการงอกของเส้นใย *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* บนอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) ในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเลี้ยง *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ด้วยสารแขวนลอยสปอร์ ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร บนอาหาร MS พบการงอกเส้นใยสีขาวของ *Foc* เป็นครั้งแรกในวันที่ 2 หลังจากการเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 8) โดยเส้นใยของ *Foc* เติบโตจนเต็มพื้นผิวอาหาร MS ในวันที่ 7

ในขณะที่สารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร งอกเส้นใยบนอาหารในวันที่ 3 หลังจากการเพาะเลี้ยง โดยเส้นใยของ *Foc* เติบโตจนเต็มพื้นผิวอาหาร MS พื้นที่ประมาณ 12.57 ตารางเซนติเมตร ในวันที่ 12 หลังจากการเพาะเลี้ยง และเส้นใยมีสีขาว



ภาพที่ 8 เส้นใยของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* เติบโตบนอาหาร Murashige and Skoog ระยะเวลา 2 วัน

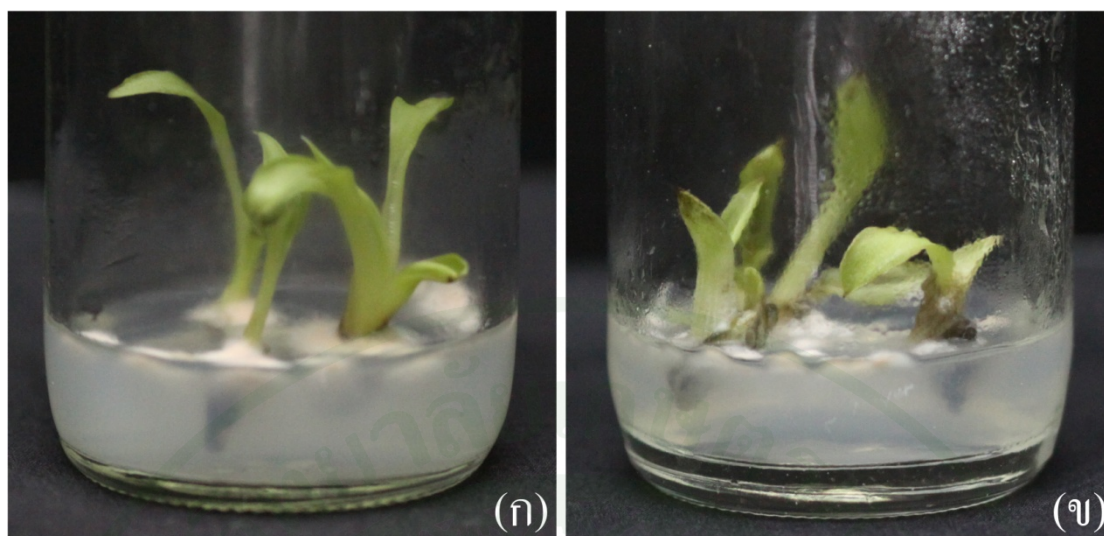
1.2 ความหนาแน่น และระยะเวลาการเข้าทำลายของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ในต้นกล้วยหอมทอง และกล้วยน้ำว้าละอองน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

ในวันที่ 7 หลังการจุ่มต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 9-ก) พบว่าใบของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์มีสีเขียว ได้คะแนนเฉลี่ย 1 คะแนน ลำต้นเทียมของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์มีสีเขียว ได้คะแนนเฉลี่ย 1 คะแนน และพบการเติบโตของเส้นใย *Foc* สีขาวเติบโตปกคลุมรอบลำต้นกล้วย และผิวหน้าอาหารทุกต้นทั้งสองพันธุ์ ได้คะแนนเฉลี่ย 1 คะแนน เช่นเดียวกันกับต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ที่ถูกจุ่มลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 9-ข) ใบของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์มีสีเขียว ได้คะแนนเฉลี่ย 1 คะแนน ลำต้นเทียมของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์มีสีเขียว ได้คะแนนเฉลี่ย 1 คะแนน และพบการเติบโตของเส้นใย *Foc* สีขาวเติบโตปกคลุมรอบลำต้นกล้วย และผิวหน้าอาหารทุกต้นทั้งสองพันธุ์ ได้คะแนนเฉลี่ย 1 คะแนน ซึ่งไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบอาการภายนอกของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ที่ถูกจุ่มระหว่างสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 และ 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 5 และ 6)

ในวันที่ 14 หลังการจุ่มต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พบว่าใบของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์เปลี่ยนเป็นสีเหลือง ได้คะแนนเฉลี่ย 2 คะแนน แตกต่างกับต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ซึ่งถูกจุ่มในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ที่พบว่าใบของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์เริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง กล้วยน้ำว้าละอองน้ำได้คะแนนเฉลี่ย 1.50 คะแนน และกล้วยหอมทองได้คะแนนเฉลี่ย 1.67 คะแนน ลำต้นเทียมของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ที่ถูกจุ่มลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8

สปอร์ต่อมิลลิลิตร เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ได้คะแนนเฉลี่ย 2 คะแนน แตกต่างกับลำต้นเทียมของต้นกล้วย ทั้งสองพันธุ์ที่ถูกจุ่มลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมี สีเขียว ได้คะแนนเฉลี่ย 1 คะแนน ในขณะที่เส้นใยจากต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ที่เติบโตจากสารแขวนลอย สปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เจริญเป็นสีขาว และม่วง ได้คะแนนเฉลี่ย 2 คะแนน แตกต่างกับเส้นใยจากต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ที่เติบโตจากสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความ หนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พบเพียงสีขาว ได้คะแนนเฉลี่ย 1 คะแนน (ตารางที่ 5 และ 6)

ในวันที่ 21 หลังการจุ่มต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความ หนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 10-ก) พบว่าใบของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์เปลี่ยนเป็นสี น้ำตาล และเหี่ยว กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ ได้คะแนนเฉลี่ย 3.83 คะแนน และกล้วยหอมทองได้คะแนน เฉลี่ย 3.33 คะแนน แตกต่างกับต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ซึ่งถูกจุ่มในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความ หนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 10-ข) ที่พบว่าใบของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์เริ่มเปลี่ยนจากสี เหลืองเป็นสีน้ำตาล กล้วยน้ำว้าละอองน้ำได้คะแนนเฉลี่ย 2.50 คะแนน และกล้วยหอมทองได้คะแนน เฉลี่ย 2.67 คะแนน ลำต้นเทียมของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ที่ถูกจุ่มลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแก่ กล้วยน้ำว้าละอองน้ำได้คะแนน เฉลี่ย 2.83 คะแนน และกล้วยหอมทองได้คะแนนเฉลี่ย 2.33 คะแนน ไม่แตกต่างกับต้นกล้วยทั้งสอง พันธุ์ซึ่งถูกจุ่มในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ที่พบว่าลำต้น เทียมของต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์มีสีน้ำตาล ได้คะแนนเฉลี่ย 2 คะแนน ในขณะที่เส้นใยจากต้นกล้วยทั้ง สองพันธุ์ที่เติบโตจากสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นสี ขาว และม่วง ได้คะแนนเฉลี่ย 2 คะแนน ไม่แตกต่างกับเส้นใยจากต้นกล้วยทั้งสองพันธุ์ที่เติบโตจากสาร แขวนลอยสปอร์ *Foc* ความหนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พบสีขาว และม่วง ได้คะแนนเฉลี่ย 2 คะแนน (ตารางที่ 5 และ 6)



ภาพที่ 9 อาการภายนอกกล้วยน้ำว้าละอองน้ำอายุประมาณ 1 เดือน หลังจากจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* แล้ว 7 วัน
 ก) ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร
 ข) ความหนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 10 อาการภายนอกกล้วยน้ำว้าละอองน้ำอายุประมาณ 1 เดือน หลังจากจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* แล้ว 21 วัน
 ก) ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร
 ข) ความหนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 5 คะแนนการเกิดอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้าละอองน้ำ และกล้วยหอมทอง อายุประมาณ 1 เดือน ที่ผ่านการจุ่มในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้ว 7, 14 และ 21 วัน

ระยะเวลา (วัน)	กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ			กล้วยหอมทอง		
	ใบ ^{1/}	ลำต้นเทียม ^{2/}	เส้นใย ^{3/}	ใบ ^{1/}	ลำต้นเทียม ^{2/}	เส้นใย ^{3/}
7	1.00 a ^{4/}	1.00 a	1.00	1.00 a	1.00 a	1.00
14	2.00 b	2.00 b	2.00	2.00 b	2.00 b	2.00
21	3.83 c	2.83 b	2.00	3.33 c	2.33 b	2.00
F-test	*	*	ns	*	*	ns
CV (%)	10.35	12.12	0.00	14.13	16.77	0.00

หมายเหตุ

^{1/} 1 คะแนน = สีเขียว

2 คะแนน = สีเหลือง

3 คะแนน = สีเหลือง และเหี่ยว

4 คะแนน = สีน้ำตาลแห้ง

^{2/} 1 คะแนน = สีเขียว

2 คะแนน = สีน้ำตาล

3 คะแนน = สีน้ำตาลแก่

^{3/} 1 คะแนน = สีขาว

2 คะแนน = สีขาว และม่วง

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 6 คะแนนการเกิดอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้าละอองน้ำ และกล้วยหอมทอง อายุประมาณ 1 เดือน ที่ผ่านการจุ่มในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* ความหนาแน่น 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้ว 7, 14 และ 21 วัน

ระยะเวลา (วัน)	กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ			กล้วยหอมทอง		
	ใบ ^{1/}	ลำต้นเทียม ^{2/}	เส้นใย ^{3/}	ใบ ^{1/}	ลำต้นเทียม ^{2/}	เส้นใย ^{3/}
7	1.00 a ^{4/}	1.00	1.00	1.00 a	1.00	1.00
14	1.50 a	1.00	1.00	1.67 a	1.00	1.00
21	2.50 b	2.00	2.00	2.67 b	2.00	2.00
F-test	*	ns	ns	*	ns	ns
CV (%)	26.83	0.00	0.00	23.72	0.00	0.00

หมายเหตุ

^{1/} 1 คะแนน = สีเขียว

2 คะแนน = สีเหลือง

3 คะแนน = สีเหลือง และเหี่ยว

4 คะแนน = สีน้ำตาลแห้ง

^{2/} 1 คะแนน = สีเขียว

2 คะแนน = สีน้ำตาล

3 คะแนน = สีน้ำตาลแก่

^{3/} 1 คะแนน = สีขาว

2 คะแนน = สีขาว และม่วง

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

1.3 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ในการเข้าทำลายกล้วยน้ำว้าละอองน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

การสังเกตอาการภายในของต้นกล้วยน้ำว้าละอองน้ำได้ถูกผ่าตามขวางด้วยมีดผ่าตัด และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอทุกวันหลังจากจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า ไม่พบการงอกของเส้นใย และไม่พบการเปลี่ยนสีของลำต้นเทียมในวันที่ 1 2 และ 3 (ภาพที่ 11-ก)

วันที่ 4 ภายหลังจากการจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* เริ่มพบการงอกของเส้นใยบางๆ บริเวณรอบโคนต้นกล้วย แต่เมื่อทำการตัดขวางลำต้นเทียมยังไม่พบการเปลี่ยนสีของลักษณะอาการภายในลำต้น

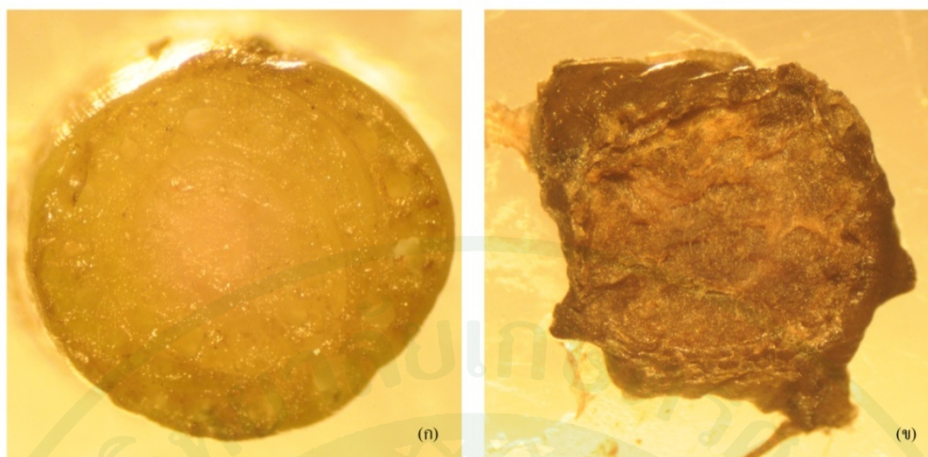
วันที่ 5 ภายหลังจากการจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* พบว่า ภายในเนื้อเยื่อตัดขวางบริเวณท่อน้ำเลี้ยงเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองบางส่วน ในขณะที่รอบต้นกล้วยภายนอกพบกลุ่มเส้นใยสีขาวเจริญอย่างชัดเจน

วันที่ 6 ภายหลังจากการจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* พบว่า ภายในเนื้อเยื่อตัดขวางบริเวณท่อน้ำเลี้ยงยังคงมีสีเหลืองบางส่วน ในขณะที่กลุ่มเส้นใยสีขาวเริ่มเจริญปกคลุมอาหาร

วันที่ 7 ภายหลังจากการจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* พบว่า ภายในเนื้อเยื่อตัดขวางบริเวณท่อน้ำเลี้ยงเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มขึ้นอย่างชัดเจน ในขณะที่กลุ่มเส้นใยสีขาวเจริญปกคลุมอาหารมากกว่าวันที่ 6

วันที่ 8 ภายหลังจากการจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* พบว่า เนื้อเยื่อตัดขวางบริเวณท่อน้ำเลี้ยงยังคงเป็นสีเหลืองเข้ม และลักษณะอาการภายนอกยังเป็นเช่นเดิมคล้ายกับวันที่ 7 และกลุ่มเส้นใยสีขาวเจริญปกคลุมอาหารมากกว่าวันที่ 7

ในขณะที่วันที่ 9 และ 10 ภายหลังจากการจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* พบว่า เนื้อเยื่อตัดขวางบริเวณท่อน้ำเลี้ยงเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มพร้อมกับเนื้อเยื่อบริเวณโดยรอบ ลำต้นเริ่มและ (ภาพที่ 11-ข) ในขณะที่ลำต้นเทียมเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (ตารางที่ 7)



ภาพที่ 11 หน้าตัดกล้วยน้ำว้าละอองน้ำ อายุประมาณ 1 เดือน หลังจากจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา

ก) 1 วัน

ข) 10 วัน

ตารางที่ 7 การพัฒนาอาการภายนอก และภายในของกล้วยน้ำว้าละอองน้ำที่เกิดหลังจากจุ่มต้นกล้วย อายุประมาณ 1 เดือน ลงในสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อ มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 วัน

วันที่	อาการภายนอก	อาการภายใน
1	ไม่พบเส้นใย <i>Foc</i> ลำต้นเทียมสีปกติ	เนื้อเยื่อลักษณะปกติ
2	ไม่พบเส้นใย <i>Foc</i> ลำต้นเทียมสีปกติ	เนื้อเยื่อลักษณะปกติ
3	ไม่พบเส้นใย <i>Foc</i> ลำต้นเทียมสีปกติ	เนื้อเยื่อลักษณะปกติ
4	พบเส้นใย <i>Foc</i> บางๆ รอบบริเวณโคนต้น ลำต้นเทียมสีปกติ	เนื้อเยื่อลักษณะปกติ
5	กลุ่มของเส้นใย <i>Foc</i> เพิ่มขึ้น ลำต้นเทียมสีปกติ	เนื้อเยื่อบริเวณท่อน้ำเลี้ยงเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง
6	เส้นใย <i>Foc</i> เริ่มปกคลุมอาหาร ลำต้นเทียมสีปกติ	เนื้อเยื่อบริเวณท่อน้ำเลี้ยงเปลี่ยนเป็นสีเหลือง
7	เส้นใย <i>Foc</i> เริ่มปกคลุมอาหาร ลำต้นเทียมเริ่มมีสีเข้ม	เนื้อเยื่อบริเวณท่อน้ำเลี้ยงเปลี่ยนเป็นสีเหลือง
8	เส้นใย <i>Foc</i> ปกคลุมอาหาร ลำต้นเทียมเริ่มมีสีเข้ม	เนื้อเยื่อบริเวณท่อน้ำเลี้ยงเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม
9	เส้นใย <i>Foc</i> ปกคลุมอาหาร ลำต้นเทียมเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล	เนื้อเยื่อบริเวณท่อน้ำเลี้ยงและโคครอบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม
10	เส้นใย <i>Foc</i> ปกคลุมอาหาร ลำต้นเทียมเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล	เนื้อเยื่อที่ผ่าตามขวางและ และมีสีน้ำตาล

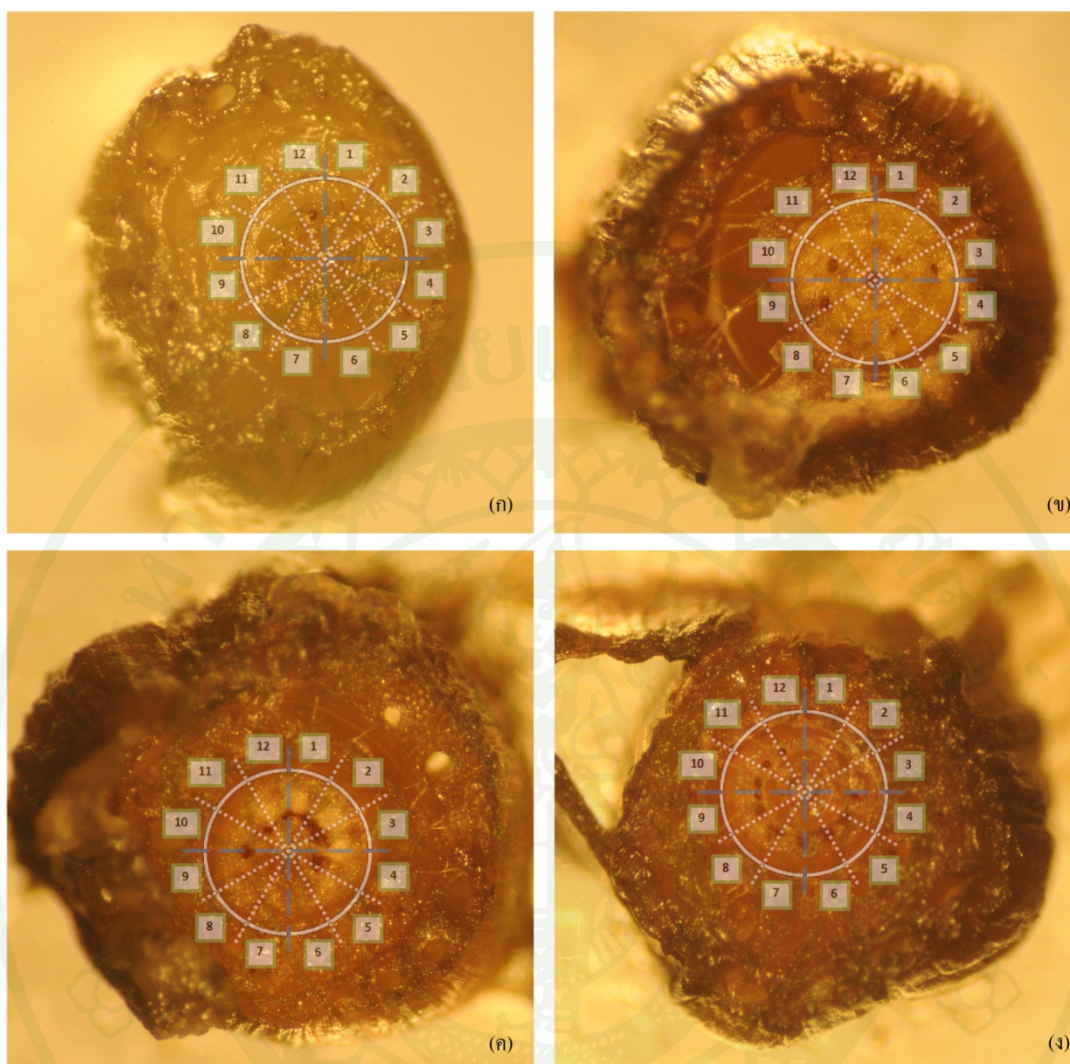
1.4 ศึกษาลักษณะความแตกต่างของกล้วยน้ำว้า 10 พันธุ์หลังจากได้รับสารแขวนลอยสปอร์ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้ว 7 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อพิจารณาความแตกต่างของอาการในกล้วยน้ำว้า 10 พันธุ์หลังจากได้รับสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในสภาพปลอดเชื้อ 7 วันแล้ว สามารถแบ่งกลุ่มความทนทานที่มีความแตกต่างกันทางสถิติตามลำดับคะแนนได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีแนวโน้มทนทานต่อเชื้อ *Foc* ซึ่งมีลักษณะท่อลำเลียงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลน้อยที่สุด คือ กล้วยน้ำว้าตะอองน้ำ (ภาพที่ 12-ก) และกล้วยน้ำว้าค่อม (ภาพที่ 12-ข) โดยมีคะแนนเฉลี่ย คือ 0.40 และ 0.93 คะแนนตามลำดับ กลุ่มที่ 2 ซึ่งมีการเปลี่ยนสีของท่อลำเลียงเป็นสีน้ำตาลปานกลาง คือ กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน และกล้วยน้ำว้ากาบขาว (ภาพที่ 12-ค) โดยมีคะแนนเฉลี่ย 6.13 และ 9.53 คะแนนตามลำดับ และกลุ่มสุดท้าย ซึ่งมีการเปลี่ยนสีของท่อลำเลียงมากที่สุด คือ กล้วยน้ำว้าขาวกำแพงเพชร, กล้วยน้ำว้าน้ำไท (ภาพที่ 12-ง), กล้วยน้ำว้าพระราชทาน, กล้วยน้ำว้าชุมพร, กล้วยน้ำว้าพระประแดง และกล้วยน้ำว้าดำ โดยมีคะแนนเฉลี่ย 10.13, 11.13, 11.13, 11.13, 11.40 และ 11.47 คะแนนตามลำดับ (ตารางที่ 8) ในขณะที่กล้วยหอมซึ่งเป็น negative control นั้นไม่พบการเข้าทำลายในท่อลำเลียง (Somrith *et al.*, 2011)

ตารางที่ 8 คะแนนการเกิดอาการของกล้วยพันธุ์ต่างๆ อายุประมาณ 4 สัปดาห์ ที่จุ่มในสารแขวนลอยสปอร์ของ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ภายใต้สภาพปลอดเชื้อแล้ว 1 สัปดาห์

พันธุ์กล้วย	คะแนนเฉลี่ย ^{1/}
น้ำว้ากาบขาว	9.53 b
น้ำว้าขาวกำแพงเพชร	10.13 c
น้ำว้าค่อม	0.93 a
น้ำว้าชุมพร	11.13 c
น้ำว้าดำ	11.47 c
น้ำว้าน้ำไท	11.13 c
น้ำว้าพระประแดง	11.40 c
น้ำว้าพระราชทาน	11.13 c
น้ำว้ามะลิอ่อน	6.13 b
น้ำว้าละอองน้ำ	0.40 a
หอมทอง	0.00
F-test	*
C.V. (%)	18.64

หมายเหตุ ^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 12 ตัวอย่างหน้าตัด และคะแนนการเกิดอาการของโรคในกล้วยน้ำว้าบางพันธุ์

- | | |
|------------------------|----------|
| ก) กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ | 1 คะแนน |
| ข) กล้วยน้ำว้าค่อม | 3 คะแนน |
| ค) กล้วยน้ำว้ากาบขาว | 7 คะแนน |
| ง) กล้วยน้ำว้าน้ำไท | 10 คะแนน |

การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมของ Fusaric acid ต่อการเกิดอาการของ โรคน้ำท่วมขังน้ำว่าละอองน้ำภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

2.1 ศึกษาความเข้มข้น และลักษณะอาการภายนอกของกล้วยน้ำว่าละอองน้ำที่ได้รับ Fusaric acid ในสภาพปลอดเชื้อ

ลักษณะอาการภายนอกที่เปลี่ยนไปของกล้วยน้ำว่าละอองน้ำที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid (FA) คือ การเปลี่ยนสีของลำต้นเทียมจากสีเขียว ไปเป็นสีเหลือง โดยในวันที่ 7 ลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว่าละอองน้ำที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.2, 20 และ 130 ppm มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.14 คะแนน ไม่ต่างกับลำต้นเทียมที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.4, 0.5, 1, 2, 10, 12, 16, 24 และ 28 ppm ที่ไม่แสดงอาการใดๆ มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.00 คะแนน (ตารางที่ 9)

วันที่ 14 ลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว่าละอองน้ำที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 20 และ 130 ppm มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.14 คะแนน ไม่ต่างกับลำต้นเทียมที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.4, 10, 12, 16, 24 และ 28 ppm ที่ไม่แสดงอาการใดๆ มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.00 คะแนน (ตารางที่ 9)

วันที่ 21 ลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว่าละอองน้ำที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 1, 2, 20 และ 130 ppm มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.14 คะแนน และลำต้นเทียมที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.5 ppm มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.27 คะแนน ซึ่งไม่ต่างกับลำต้นเทียมที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 10, 12, 16, 24 และ 28 ppm ที่ไม่แสดงอาการใดๆ มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.00 คะแนน (ตารางที่ 9)

วันที่ 28 ลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว่าละอองน้ำที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 1, 2, 12 และ 20 ppm มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.14 คะแนน และลำต้นเทียมที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.5 และ 130 ppm มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.27 คะแนน ซึ่งไม่ต่างกับลำต้นเทียมที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 10, 16, 24 และ 28 ppm ที่ไม่แสดงอาการใดๆ มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.00 คะแนน (ตารางที่ 9)

วันที่ 35 ลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว่าละอองน้ำที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 2, 10, 12, 20 และ 28 ppm มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.14 คะแนน และลำต้นเทียมที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.4, 0.5, 1 และ 130 ppm มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.27 คะแนน ซึ่งไม่ต่างกับลำต้นเทียมที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 16 และ 24 ppm ที่ไม่แสดงอาการใดๆ มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.00 คะแนน (ตารางที่ 9)

วันที่ 42 ลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว้าละอองน้ำที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.05, 0.2, 10, 12, 20, 24 และ 28 ppm มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.14 คะแนน ไม่ต่างกับลำต้นเทียมที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 0.1, 0.4, 0.5, 1, 2, 16 และ 130 ppm ซึ่งมีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.27 คะแนน (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 คะแนนการเป็นโรคของต้นกล้วยน้ำว้าละอองน้ำ อายุประมาณ 1 เดือน ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร
สูตร MS ที่มี Fusaric acid ความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพปลอดเชื้อ

ความเข้มข้น (ppm)	ระยะเวลา (วัน)					
	7	14	21	28	35	42
0.05	1.00 ^{1/}	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14
0.10	1.00	1.14	1.14	1.14	1.14	1.27
0.20	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14
0.40	1.00	1.00	1.14	1.14	1.27	1.27
0.50	1.00	1.14	1.27	1.27	1.27	1.27
1.00	1.00	1.14	1.14	1.14	1.27	1.27
2.00	1.00	1.14	1.14	1.14	1.14	1.27
10.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.14	1.14
12.00	1.00	1.00	1.00	1.14	1.14	1.14
16.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.27
20.00	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14
24.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.14
28.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.14	1.14
130.00	1.14	1.14	1.14	1.27	1.27	1.27
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	10.65	16.60	17.29	17.91	18.96	19.64

หมายเหตุ ^{1/} 1 คะแนน = ลำต้นปกติ

2 คะแนน = ลำต้นที่เกิดการเปลี่ยนสีภายนอก

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.2 ศึกษาความเข้มข้นของ Fusaric acid ที่มีผลต่อกลิ้วหอม และกลีวน้ำว้าในสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อย้ายต้นกลี้วมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม FA ความเข้มข้น 130 ppm เป็นเวลา 7 วัน พบว่า สามารถแบ่งกลี้วที่ตอบสนองต่อ FA ความเข้มข้น 130 ppm ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ไม่มีการตอบสนองต่อ FA ซึ่งมีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.00 คะแนน กลุ่มที่มีการตอบสนองต่อ FA น้อย มีช่วงคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ยระหว่าง 1.01 ถึง 1.49 คะแนน และกลุ่มที่มีการตอบสนองต่อ FA มาก มีช่วงคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ยมากกว่า 1.50 คะแนน โดยกลุ่มที่ไม่มีการตอบสนองต่อ FA นั้นประกอบไปด้วย กลีวน้ำว้าน้ำไท กลีวน้ำว้าพระประแดง และกลีวน้ำว้าขาวกำแพงเพชร มีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.00 คะแนน ในขณะที่กลุ่มที่มีการตอบสนองต่อ FA น้อย คือ กลีวน้ำว้าดำ กลี้วย่อม กลีวน้ำว้าหอมทอง กลีวน้ำว้ามะลิอ่อน กลีวน้ำว้าละอองน้ำ กลีวน้ำว้ากาบขาว และกลีวน้ำว้าชุมพร โดยมีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.03, 1.14, 1.14, 1.14, 1.15, 1.19 และ 1.32 คะแนน ตามลำดับ และกลุ่มสุดท้าย หรือกลุ่มที่มีการตอบสนองต่อ FA มาก มีกลีวน้ำว้าเพียงพันธุ์เดียว คือ กลีวน้ำว้าพระราชทาน ซึ่งมีคะแนนการเป็นโรคเฉลี่ย 1.78 คะแนน (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 คะแนนเฉลี่ยการเป็นโรคของลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว้า และกล้วยหอมทอง อายุประมาณ 4 สัปดาห์ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี Fusaric acid ความเข้มข้น 130 ppm เป็นเวลา 1 สัปดาห์

พันธุ์กล้วย	คะแนนเฉลี่ย ^{1/ 2/}
น้ำว้ากบขาว	1.19 b
น้ำว้าขาวกำแพงเพชร	1.00 a
น้ำว้าค่อม	1.14 b
น้ำว้าชุมพร	1.32 b
น้ำว้าดำ	1.03 b
น้ำว้าน้ำไท	1.00 a
น้ำว้าพระประแดง	1.00 a
น้ำว้าพระราชทาน	1.78 c
น้ำว้ามะลิอ่อน	1.14 b
น้ำว้าละอองน้ำ	1.15 b
หอมทอง	1.14 b
F-test	*
C.V. (%)	27.61

หมายเหตุ

^{1/} 1 คะแนน = ลำต้นปกติ

2 คะแนน = ลำต้นที่เกิดการเปลี่ยนสีภายนอก

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สำหรับกล้วยที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 260 ppm มีการแบ่งกลุ่มตามเกณฑ์การให้คะแนนตามความแตกต่างกันเช่นเดียวกับกล้วยที่ได้รับ FA ความเข้มข้น 130 ppm ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ไม่มีการตอบสนองต่อ FA ซึ่งมีคะแนนการเป็นโรคเฉื่อย 1.00 คะแนน กลุ่มที่มีการตอบสนองต่อ FA น้อย มีช่วงคะแนนการเป็นโรคเฉื่อยระหว่าง 1.01 ถึง 1.49 คะแนน และกลุ่มที่มีการตอบสนองต่อ FA มาก มีช่วงคะแนนการเป็นโรคเฉื่อยมากกว่า 1.50 คะแนน โดยกลุ่มที่ไม่มีการตอบสนองต่อ FA นั้นประกอบด้วยกล้วยน้ำว้าพระประแดง กล้วยน้ำว้าดำ และกล้วยน้ำว้าชุมพร มีคะแนนการเป็นโรคเฉื่อย 1.00 คะแนน ในขณะที่กลุ่มที่มีการตอบสนองต่อ FA น้อย คือ กล้วยน้ำว้าค่อม กล้วยน้ำว้าหอมทอง กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ กล้วยน้ำว้าน้ำไท กล้วยน้ำว้ากาบขาว และกล้วยน้ำว้าพระราชทาน มีคะแนนการเป็นโรคเฉื่อย 1.06, 1.06, 1.08, 1.23, 1.25 และ 1.41 คะแนนตามลำดับ และกลุ่มสุดท้าย หรือกลุ่มที่มีการตอบสนองต่อ FA มาก คือ กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน และกล้วยน้ำว้าขาวกำแพงเพชร มีคะแนนการเป็นโรคเฉื่อย 1.50 และ 2.06 คะแนนตามลำดับ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 คะแนนเฉลี่ยการเป็นโรคของลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว้า และกล้วยหอมทอง อายุประมาณ 4 สัปดาห์ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี Fusaric acid ความเข้มข้น 260 ppm เป็นเวลา 1 สัปดาห์

พันธุ์กล้วย	คะแนนเฉลี่ย ^{1/2/}
น้ำว้ากบขาว	1.25 b
น้ำว้าขาวกำแพงเพชร	2.06 c
น้ำว้าค่อม	1.06 b
น้ำว้าชุมพร	1.00 a
น้ำว้าดำ	1.00 a
น้ำว้าน้ำไท	1.23 b
น้ำว้าพระประแดง	1.00 a
น้ำว้าพระราชทาน	1.41 b
น้ำว้ามะลิอ่อง	1.50 c
น้ำว้าละอองน้ำ	1.08 b
หอมทอง	1.06 b
F-test	*
C.V. (%)	39.14

หมายเหตุ ^{1/}1 คะแนน = ลำต้นปกติ

2 คะแนน = ลำต้นที่เกิดการเปลี่ยนสีภายนอก

^{2/}ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 3 ศึกษาความเข้มข้น ระยะเวลา และปริมาณที่เหมาะสมของสารละลาย Fusaric acid สำหรับกล้วยน้ำว้า

3.1 ศึกษาความเข้มข้น และลักษณะอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid ซึ่งเจือจางด้วย เอทานอล

วันที่ 1 ฉีดกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid (FA) (เจือจางด้วยเอทานอล) ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm เอทานอลความเข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์ และกรดไนตริกความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 13-ก) มีคะแนนเฉลี่ย 2.20, 2.00, 2.40, 3.00, 2.00, 3.00 และ 3.00 คะแนนตามลำดับ ขณะที่ต้นกล้วยซึ่งฉีดด้วยน้ำ RO ไม่แสดงอาการใดๆ ซึ่งอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100 และ 1,000 ppm และเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10,000 ppm เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ และกรดไนตริกความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12)

วันที่ 2 ฉีดกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm เอทานอลความเข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์ และกรดไนตริกความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ มีคะแนนเฉลี่ย 2.40, 2.20, 2.60, 3.00, 2.20, 3.20 และ 3.80 คะแนนตามลำดับ ขณะที่ต้นกล้วยซึ่งฉีดด้วยน้ำ RO ไม่แสดงอาการใดๆ ซึ่งอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100 และ 1,000 ppm และเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10,000 ppm เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ และกรดไนตริกความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12)

วันที่ 3 ฉีดกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm (ภาพที่ 13-ข) เอทานอลความเข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์ และกรดไนตริกความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ มีคะแนนเฉลี่ย 2.40, 2.20, 2.80, 3.80, 2.60, 3.20 และ 3.80 คะแนนตามลำดับ ขณะที่ต้นกล้วยซึ่งฉีดด้วยน้ำ RO ไม่แสดงอาการใดๆ ซึ่งอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100 และ 1,000 ppm และเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10,000 ppm เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ และกรดไนตริกความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12)

วันที่ 4 ฉีดกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm เอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 13-ค) และ 95 เปอร์เซ็นต์ และกรดไนตริก

ความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ มีคะแนนเฉลี่ย 3.00, 2.60, 3.40, 4.00, 3.00, 4.00 และ 4.00 คะแนนตามลำดับ ขณะที่ต้นกล้วยซึ่งฉีดด้วยน้ำ RO ไม่แสดงอาการใดๆ ซึ่งอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 100 ppm ต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10 และ 1,000 ppm และเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ และต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วย FA ความเข้มข้น 10,000 ppm เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ และกรดไนตริกความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12)

ความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ ตายทุกหน่วยทดลอง (มีคะแนนเฉลี่ย 4.00 คะแนน) ขณะที่ต้นกล้วยซึ่งฉีดด้วยน้ำ RO ไม่แสดงอาการใดๆ (ตารางที่ 12)



ภาพที่ 13 อาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาว ภายหลังจากย้ายออกปลูกประมาณ 3 สัปดาห์ เมื่อน้ำฉีดด้วยสารละลายชนิดต่างๆ

ก) ถูกฉีดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 4 วัน

ข) ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10,000 ppm ที่มีเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย ระยะเวลา 3 วัน

ค) ถูกฉีดด้วยกรดไนตริกความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 1 วัน

ตารางที่ 12 คะแนนอาการภายนอกของต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาว ภายหลังการย้ายออกปลูกประมาณ 3 สัปดาห์ หลังจากถูกฉีดด้วยของเหลวชนิดต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิตรต่อต้น เป็นเวลา 8 วัน

สารละลาย	ระยะเวลา (วัน)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
FA 10 ppm	2.20 b ^{1/}	2.40 b ^{2/}	2.40 b	3.00 c	3.00 b	3.00 b	4.00 c	4.00 b
FA 100 ppm	2.00 b	2.20 b	2.20 b	2.60 b	3.00 b	3.40 b	4.00 c	4.00 b
FA 1,000 ppm	2.40 b	2.60 b	2.80 b	3.40 c	3.80 b	4.00 c	4.00 c	4.00 b
FA 10,000 ppm	3.00 c	3.00 c	3.80 c	4.00 d	4.00 c	4.00 c	4.00 c	4.00 b
เอทานอล 70%	2.00 b	2.20 b	2.60 b	3.00 c	3.20 b	3.40 b	3.40 b	4.00 b
เอทานอล 95%	3.00 c	3.20 c	3.20 c	4.00 d	4.00 c	4.00 c	4.00 c	4.00 b
กรดไนตริก 65%	3.00 c	3.80 c	3.80 c	4.00 d	4.00 c	4.00 c	4.00 c	4.00 b
น้ำ RO	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
F-test	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	10.75	16.41	19.33	11.87	6.88	8.18	5.46	0.00

หมายเหตุ ^{1/} 1 คะแนน = ลำต้นปกติ ไม่เปลี่ยนสี

2 คะแนน = ลำต้นสีน้ำตาล

3 คะแนน = ลำต้นสีน้ำตาลเข้ม

4 คะแนน = ตาย

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.2 ศึกษาความเข้มข้น และลักษณะอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid ที่เจือจางด้วยน้ำ Reverse Osmosis

วันที่ 1 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm มีคะแนนเฉลี่ย 1.00, 1.00, 1.83 และ 2.00 คะแนนตามลำดับ ซึ่งอาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100 และ 1,000 ppm ต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10,000 ppm (ตารางที่ 13)

วันที่ 2 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm มีคะแนนเฉลี่ย 1.00, 1.00, 2.00 และ 2.50 คะแนนตามลำดับ โดยต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10 และ 100 ppm ไม่ปรากฏอาการใดๆ ซึ่งต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 และ 10,000 ppm (ตารางที่ 13)

วันที่ 3 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm มีคะแนนเฉลี่ย 1.00, 1.00, 2.50 และ 3.00 คะแนนตามลำดับ โดยต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10 และ 100 ppm ไม่ปรากฏอาการใดๆ ซึ่งต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ทั้งนี้ต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10,000 ppm แสดงอาการมากที่สุด (ตารางที่ 13)

วันที่ 4 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10 และ 100 ppm (ภาพที่ 14-ก), 1,000 (ภาพที่ 14-ข) และ 10,000 ppm (ภาพที่ 14-ค) มีคะแนนเฉลี่ย 1.00, 1.00, 2.83 และ 3.67 คะแนนตามลำดับ โดยต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10 และ 100 ppm ไม่ปรากฏอาการภายนอก ซึ่งต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ทั้งนี้ต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10,000 ppm แสดงอาการมากที่สุด (ตารางที่ 13)

วันที่ 5 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm มีคะแนนเฉลี่ย 1.00, 1.00, 3.67 และ 3.83 คะแนนตามลำดับ ทั้งนี้ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10 และ 100 ppm ไม่ปรากฏอาการใดๆ ซึ่งต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 หรือ 10,000 ppm (ตารางที่ 13)

วันที่ 6 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm มีคะแนนเฉลี่ย 1.00, 1.00, 3.83 และ 4.00 คะแนนตามลำดับ ทั้งนี้ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่

ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10 และ 100 ppm ไม่ปรากฏอาการใดๆ ซึ่งต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm โดยต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10,000 ppm แสดงอาการมากที่สุด (ตารางที่ 13)

วันที่ 7 และ 8 ต้นกล้วยน้ำว้ากบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm มีคะแนนเฉลี่ย 1.00, 1.00, 4.00 และ 4.00 คะแนนตามลำดับ ทั้งนี้ต้นกล้วยน้ำว้ากบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10 และ 100 ppm ไม่ปรากฏอาการใดๆ ซึ่งต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 และ 10,000 ppm (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 คะแนนอาการภายนอกของต้นกล้วยน้ำว้ากบขาว ภายหลังการอนุบาลประมาณ 3 สัปดาห์ เมื่อฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid ความเข้มข้นต่างๆ ที่เจือจางด้วยน้ำ Reverse Osmosis ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อต้น เป็นเวลา 8 วัน

สารละลาย	ระยะเวลา (วัน)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
FA 10 ppm	1.00 a ^{1/}	1.00 a ^{2/}	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
FA 100 ppm	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
FA 1,000 ppm	1.83 a	2.00 b	2.50 b	2.83 b	3.67 b	3.83 b	4.00 b	4.00 b
FA 10,000 ppm	2.00 b	2.50 b	3.00 c	3.67 c	3.83 b	4.00 c	4.00 b	4.00 b
F-test	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	14.00	16.83	22.31	21.48	13.86	8.30	0.00	0.00

หมายเหตุ ^{1/} 1 คะแนน = ลำต้นปกติ ไม่เปลี่ยนสี

2 คะแนน = ลำต้นสีน้ำตาล

3 คะแนน = ลำต้นสีน้ำตาลเข้ม

4 คะแนน = ตาย

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์



ภาพที่ 14 อาการภายนอกของกล้วยน้ำว้ากาบขาว ภายหลังการย้ายออกปลูกประมาณ 3 สัปดาห์ เมื่อฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid โดยมีน้ำ Reverse Osmosis เป็นตัวทำละลาย แล้ว 4 วัน

ก) ความเข้มข้น 100 ppm

ข) ความเข้มข้น 1,000 ppm

ค) ความเข้มข้น 10,000 ppm

3.3 ศึกษาปริมาณสารละลาย Fusaric acid ที่มีผลต่อการเกิดอาการในกล้วยน้ำว้ากาบขาว

วันแรกของการทดลองไม่พบการเปลี่ยนสีของลำต้นเทียมหลังจากได้รับสารละลาย Fusaric acid (FA) ทุกปริมาณ (คะแนนเฉลี่ย 1 คะแนน) ในขณะที่วันที่ 2 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร มีคะแนนเฉลี่ย 1.00, 1.00, 1.20, 1.80 และ 2.20 คะแนนตามลำดับ โดยต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1 และ 0.2 มิลลิลิตร ไม่ปรากฏอาการใดๆ ในขณะที่ต้นกล้วยซึ่งฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร ปรากฏอาการภายนอกเล็กน้อย จึงต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร (ตารางที่ 14)

วันที่ 3 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร มีคะแนนเฉลี่ย 1.00, 1.20, 1.80, 2.20 และ 2.40 คะแนนตามลำดับ ซึ่งอาการภายนอกของต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.2 และ 0.3 มิลลิลิตร ต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.4 และ 0.5

มิลลิลิตร ในขณะที่ต้นกล้วยซึ่งฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ไม่ปรากฏอาการใดๆ (ตารางที่ 14)

วันที่ 4 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร มีคะแนนเฉลี่ย 1.00, 1.40, 2.20, 2.40 และ 3.00 คะแนนตามลำดับ ซึ่งอาการภายนอกของต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร ในขณะที่ต้นกล้วยซึ่งฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ไม่ปรากฏอาการใดๆ (ตารางที่ 14)

วันที่ 5 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร มีคะแนนเฉลี่ย 1.20, 1.80, 2.60, 3.00 และ 3.40 คะแนนตามลำดับ ซึ่งอาการภายนอกของต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1 และ 0.2 มิลลิลิตร ต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร และต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร (ตารางที่ 14)

วันที่ 6 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร มีคะแนนเฉลี่ย 1.60, 2.20, 3.20, 3.40 และ 3.80 คะแนนตามลำดับ ซึ่งอาการภายนอกของต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร (ตารางที่ 14)

วันที่ 7 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร มีคะแนนเฉลี่ย 2.00, 2.60, 3.40, 3.80 และ 4.00 คะแนนตามลำดับ ซึ่งอาการภายนอกของต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1 และ 0.2 มิลลิลิตร ต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร ทั้งนี้ต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แสดงอาการมากที่สุด (ตารางที่ 14)

วันที่ 8 ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร มีคะแนนเฉลี่ย 2.20, 2.80, 3.40, 4.00 และ 4.00 คะแนนตามลำดับ ซึ่ง

อาการภายนอกของต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.1 และ 0.2 มิลลิลิตร ต่างจากต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ทั้งนี้ ต้นกล้วยที่ฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร แสดงอาการมากที่สุด (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 คะแนนอาการภายนอกของต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาว ภายหลังการย้ายออกปลูกประมาณ 3 สัปดาห์ เมื่อฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid ความเข้มข้น 1,000 ppm เจือจางด้วยน้ำ Reverse Osmosis ที่ปริมาตรต่างกัน แล้ว 8 วัน

ปริมาตร FA (มิลลิลิตร/ต้น)	ระยะเวลา (วัน)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0.1	1.00 ^{1/}	1.00 a ^{2/}	1.00 a	1.00 a	1.20 a	1.60 a	2.00 a	2.20 a
0.2	1.00	1.00 a	1.20 a	1.40 a	1.80 a	2.20 b	2.60 a	2.80 a
0.3	1.00	1.20 a	1.80 a	2.20 b	2.60 b	3.20 c	3.40 b	3.40 b
0.4	1.00	1.80 a	2.20 b	2.40 b	3.00 c	3.40 c	3.80 b	4.00 c
0.5	1.00	2.20 b	2.40 b	3.00 c	3.40 c	3.80 c	4.00 c	4.00 c
F-test	ns	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	0.00	24.06	24.67	25.50	26.35	23.36	23.68	26.23

หมายเหตุ ^{1/}1 คะแนน = ลำต้นปกติ ไม่เปลี่ยนสี

2 คะแนน = ลำต้นสีน้ำตาล

3 คะแนน = ลำต้นสีน้ำตาลเข้ม

4 คะแนน = ตาย

^{2/}ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.4 ศึกษาการตอบสนองของกล้วยน้ำว้า 7 พันธุ์ และกล้วยหอมทองที่ฉีดด้วยสารละลาย Fusaric acid ความเข้มข้น 1,000 ppm ที่เจือจางด้วยน้ำ Reverse Osmosis

การวัดความยาวแผลเนื้ของกล้วยน้ำว้า 7 พันธุ์ คือ ละอองน้ำ, มะลิอ่อน, กาบขาว, ค่อม, ทำยาง, นวล และ ปากช่อง 50 และกล้วยหอม ที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ที่เจือจางด้วยน้ำ RO สามารถแบ่งกลุ่มตามความยาวแผลเนื้ได้ 2 กลุ่มตามความแตกต่างทางสถิติ คือ กลุ่มที่มีแผลขนาดปานกลาง และกลุ่มที่มีแผลขนาดใหญ่ โดยกลุ่มที่มีแผลขนาดปานกลาง คือ กล้วยน้ำว้าปากช่อง 50 กล้วยน้ำว้าค่อม กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน กล้วยน้ำว้าทำยาง และกล้วยน้ำว้าละอองน้ำ ซึ่งมีความยาวแผลเนื้ 2.33, 2.67, 2.83, 2.92 และ 3.09 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มที่มีแผลขนาดใหญ่ ได้แก่ กล้วยน้ำว้านวล กล้วยน้ำว้ากาบขาว และกล้วยหอม ซึ่งมีความยาวแผลเนื้ 4.17, 4.33 และ 4.58 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 ความยาวแผลเนื้ของกล้วยพันธุ์ต่างๆ ภายหลังการย้ายออกปลูกประมาณ 2 เดือน ที่เกิดจากการฉีดสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรต่อต้น ในสภาพปกติ แล้ว 8 วัน

พันธุ์กล้วย	ความยาวแผลเนื้ (เซนติเมตร) ^{1/}
น้ำว้ากาบขาว	4.33 b
น้ำว้าค่อม	2.67 a
น้ำว้าทำยาง	2.92 a
น้ำว้านวล	4.17 b
น้ำว้าปากช่อง 50	2.33 a
น้ำว้ามะลิอ่อน	2.83 a
น้ำว้าละอองน้ำ	3.08 a
หอมทอง	4.58 b
F-test	*
C.V. (%)	36.96

หมายเหตุ ^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 15 ตัวอย่างแผลของต้นกล้าวย ภายหลังการย้ายออกปลูกประมาณ 2 เดือน ที่เกิดจากการฉีดสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรต่อต้น ในสภาพปกติ แล้ว 8 วัน ตามเกณฑ์ให้คะแนน

ก) กล้าวยน้ำว่ากาบขาว ที่ไม่เกิดแผล

ข) แผลขนาดปกติมีความยาวของแผลน้อยกว่า 1 เซนติเมตร (กล้าวยน้ำว่านวล)

ค) แผลขนาดเล็กมีความยาวของแผล 1-2 เซนติเมตร (กล้าวยน้ำว่าทำยาง)

ง) แผลขนาดปานกลางมีความยาวของแผล 2-5 เซนติเมตร (กล้าวยน้ำว่าละอองน้ำ)

จ) แผลขนาดใหญ่มีความยาวของแผลมากกว่า 5 เซนติเมตร (กล้าวยน้ำว่ากาบขาว)

ฉ) ลำต้นหัก หรือตาย (กล้าวยหอมทอง)

วิจารณ์

การจำแนก *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*

Fusarium sp. ที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้ถูกจำแนกว่าเป็น *Fusarium oxysporum* จากลักษณะการเจริญของเส้นใย และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ทั้ง 3 ชนิด แต่การตรวจสอบเพียงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Fusarium* sp. ซึ่งเป็น species complex นั้น อาจไม่เพียงพอที่จะจำแนกในระดับ *formae speciales* ได้ (Ploetz, 2005) โดยปกติการจำแนกในระดับ *formae speciales* จะต้องใช้วิธีการทดสอบกับพืชอาศัย (host) ในพื้นที่ปิด ซึ่งใช้เวลานาน (Moretti, 2009) หรือใช้การวิเคราะห์ระดับโมเลกุล เช่น amplified fragment length polymorphism (AFLP) หรือ random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) ในการยืนยัน (Windels, 1991; O'Donnell and Cigelnik, 1997; Belabid *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตาม *Fusarium oxysporum* ที่สามารถแยกได้ในการทดลองนี้นั้น ได้มาจากกล้วยน้ำว้าที่เป็นโรคตายพราย ซึ่งอริราชต์ (2544) รายงานว่าเชื้อสาเหตุของโรคตายพรายในกล้วยน้ำว้าที่พบในประเทศไทยมีเพียง *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 2 จึงสันนิษฐานเบื้องต้นว่าเชื้อที่แยกได้เป็น *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 2 ตามชนิดและพันธุ์ของพืชอาศัย

การเลี้ยงเชื้อบนอาหาร CLA ได้พบ chlamydospore หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า resting spore ซึ่งมีผนังเซลล์หนาเป็นจำนวนมาก แทนที่จะพบ macroconidia หรือ microconidia ปกติแล้ว chlamydospore จะถูกสร้างเมื่อเชื้อเจริญเติบโตในสภาพที่ไม่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโต (Brunschoot, 2006) เนื่องจากสปอร์ชนิดนี้เหมาะแก่การพักตัวของเชื้อเพื่อข้ามฤดูกาล ข้อมูลดังกล่าวน่าจะแสดงว่า ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ (Winder, 1999) หรือแสงสว่างน้อยเกินไป (Rossi and Scandolara, 2009) ในห้องทดลองในการทดลองนี้อาจไม่เหมาะสมแก่การเลี้ยงเชื้อ

ความหนาแน่นของสปอร์ *Foc* ที่เหมาะสมในการประเมินการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองเพื่อย่นระยะเวลาในการประเมินผลให้สั้นลง ที่พบว่าสามารถใช้สารแขวนลอยสปอร์ *Foc* ซึ่งได้จากการเลี้ยง *Foc* ในอาหารเหลว PDB เป็นระยะเวลา 30 วัน ที่ระดับความเจือจาง 10^3 เท่า ซึ่งมีความหนาแน่นสปอร์เฉลี่ย 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้วทำให้ประเมินผลได้ในเวลาเพียง 7 วัน ซึ่งเร็วกว่างานของ Wu *et al.* (2010) ที่ใช้เวลาประเมินผลถึง 30 วัน เมื่อใช้สารแขวนลอยสปอร์ *Foc* ซึ่งได้จากการเลี้ยง *Foc* ในอาหารเหลว Armstrong เพียง 5 วัน ที่ระดับความเจือจาง 10^6 เท่า เนื่องจากการเพิ่มความหนาแน่นของสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* ขึ้น ทำให้มีปริมาณของสปอร์ *Foc* มากขึ้น การเข้า

ทำลายลำต้นกล้วยน้ำว้าจึงรวดเร็วขึ้น (Roux *et al.*, 2010) จึงสามารถประเมินผลการตอบสนองของต้นกล้วยน้ำว้าได้รวดเร็วขึ้น

การหาความหนาแน่นของสปอร์นั้นได้ทำเฉพาะในการทดลองย่อยที่ 1.4 ซึ่งเป็นการทดสอบระดับการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าต่อสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* เท่านั้น พบว่าระดับความหนาแน่นของสปอร์ไม่ได้ลดลงเป็นสัดส่วนกับระดับความเจือจางของสารแขวนลอย กล่าวคือ ที่ระดับความเจือจาง 10^3 เท่า มีความหนาแน่นสปอร์เฉลี่ย 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ระดับความเจือจางเพิ่มขึ้น 1,000 เท่าเป็น 10^6 เท่า มีความหนาแน่นสปอร์เฉลี่ย 2.5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งไม่ลดลง 1,000 เท่า อาจเนื่องมาจาก 1) ขณะที่ทำการเจือจางสารแขวนลอยไม่มีการเขย่าสารแขวนลอยทุกครั้งก่อนทำการเจือจาง และ/หรือ 2) ระดับของปลายทิวที่จุ่มในสารแขวนลอยอาจลึกไม่สม่ำเสมอ ดังนั้น การทดลองในลักษณะนี้ จึงควรต้องมีการหาความหนาแน่นของสปอร์ในสารแขวนลอยในทุกครั้งที่ทำการทดลอง

ความเข้มข้นที่เหมาะสม และระยะเวลาในการประเมินการตอบสนองต่อ Fusaric acid ของกล้วยน้ำว้าในสภาพปลอดเชื้อ

ในทางทฤษฎี สารพิษต่อพืช (phytotoxin) เป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งในกระบวนการเกิดอาการของโรค (Slavov, 2005) ซึ่ง Fusaric acid (FA) ที่สร้างโดย *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*) ได้ถูกเชื่อว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดลักษณะอาการของโรคตายพรายในกล้วย (Dong *et al.*, 2012) การใช้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เติม FA เพื่อใช้ประเมินการตอบสนองของกล้วยในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งเท่ากับการใช้สารแขวนลอยสปอร์ *Foc* จึงน่าจะมีโอกาสในความเป็นไปได้ อย่างไรก็ตาม FA ที่ใช้ในการทดลองนี้ได้มาจากการสกัด *Gibberella fujikuroi* ซึ่งเป็นเชื้อราที่อยู่ในวงศ์เดียวกับ *Foc* (Guenther and Trail, 2005; Zainudin *et al.*, 2008) การที่ผลการทดลองภายใต้สภาพปลอดเชื้อปรากฏว่า กล้วยน้ำว้าพันธุ์เดียวกันได้ตอบสนองต่อสารละลาย FA ความเข้มข้น 130 และ 260 ppm แตกต่างกัน คือ

1. กล้วยน้ำว้าขาวกำแพงเพชร และกล้วยน้ำว้าน้ำไทซึ่งไม่ตอบสนองต่อ FA ความเข้มข้น 130 ppm กลับตอบสนองมากต่อ FA ความเข้มข้น 260 ppm อาจเกิดจากกล้วยน้ำว้าขาวกำแพงเพชร และกล้วยน้ำว้าน้ำไท มีความสามารถในการทนทานต่อ FA ในความเข้มข้นต่ำ คือ ความเข้มข้น 130 ppm จึงไม่แสดงอาการตอบสนอง แต่เมื่อความเข้มข้นของ FA เพิ่มขึ้นเป็น 260 ppm จึงพบการตอบสนองมากขึ้น

2. กล้วยน้ำว้าพระราชทาน ซึ่งมีการตอบสนองต่อ FA ความเข้มข้น 130 ppm แต่กลับมีการตอบสนองที่ลดน้อยลงต่อ FA ความเข้มข้น 260 ppm เป็นไปได้ว่าในช่วงเวลา 7 วัน ยังไม่สามารถ

ประเมินระดับการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าพระราชทานได้ โดยการทดลองเกี่ยวกับ FA ในอดีตเป็น การใช้ช่วงระยะเวลาประเมินผลมากกว่า 7 วัน คือ 14 วัน (Remotti *et al.*, 1997) 30 วัน (Curir *et al.*, 2000) หรือมากกว่า 90 วัน (Chawla and Wenzel, 1987) จึงทำให้ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าที่ระยะเวลา 7 วันนั้น กล้วยน้ำว้าพระราชทานตอบสนองต่อ FA ความเข้มข้น 260 ppm น้อยกว่า FA ความเข้มข้น 130 ppm ดังนั้น การเพิ่มระยะเวลาประเมินผลของกล้วยน้ำว้าพระราชทานต่อ FA ความเข้มข้น 260 ppm และ/หรือเพิ่มความเข้มข้นของ FA ในการทดสอบกับกล้วยน้ำว้าอาจทำให้พบการตอบสนอง

3. กล้วยน้ำว้าชุมพร และกล้วยน้ำว้าคำ ซึ่งมีการตอบสนองต่อ FA ความเข้มข้น 130 ppm แต่ไม่พบการตอบสนองต่อ FA ความเข้มข้น 260 ppm ซึ่งในเหตุการณ์นี้ได้คล้ายคลึงกับเหตุการณ์ที่ 2 คือ กล้วยน้ำว้าตอบสนองต่อ FA ความเข้มข้นต่ำ แต่ไม่ตอบสนองต่อ FA ความเข้มข้นสูง

จากกรณีดังกล่าวมีความเป็นไปได้ว่า ถ้าเพิ่มระยะเวลาการประเมินที่มากกว่า 7 วัน ในการประเมินระดับการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าพระราชทาน กล้วยน้ำว้าชุมพร และกล้วยน้ำว้าคำ ต่อ FA ความเข้มข้น 130 และ 260 ppm อาจพบการตอบสนองได้ดีขึ้น และ/หรือควรใช้ความเข้มข้นของ FA ที่สูง เพื่อหาระดับการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าภายในระยะเวลาที่ต้องการได้

ความเข้มข้น, ตัวทำลาย และปริมาณที่เหมาะสมของสารละลาย Fusaric acid สำหรับการประเมินการตอบสนองต่อ Fusaric acid ของกล้วยน้ำว้านอกสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดสอบการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าต่อสารละลาย FA ในสภาพปลอดเชื้อ ด้วยความเข้มข้น 130 และ 260 ppm ไม่สามารถทำให้กล้วยน้ำว้าแสดงอาการตอบสนองได้เด่นชัด จึงได้ทำการทดสอบเพิ่มเติมนอกสภาพปลอดเชื้อ โดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย FA ผลปรากฏว่าลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ซึ่งมีเอทานอลเป็นตัวทำลายได้เกิดการเปลี่ยนสีของลำต้นเทียมหลังจากฉีดสารละลาย 1 วันทุกความเข้มข้น โดยอาการภายนอกของต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10,000 ppm ที่ถูกเจือจางด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์นั้น แสดงอาการเหมือนกับต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000, 100 และ 10 ppm นั้น มีเอทานอลเจือจางอยู่ 9.5, 0.95 และ 0.095 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ได้แสดงการตอบสนองเช่นเดียวกันกับต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10 ppm นั้น มีเอทานอลเจือจางอยู่ 0.095 เปอร์เซ็นต์ ควรจะแสดงการตอบสนองต่อสารละลาย FA น้อย หรือไม่แสดงอาการเช่นเดียวกันกับต้นกล้วยน้ำว้ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยน้ำ Reverse osmosis (RO) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าลักษณะอาการภายนอกบริเวณลำต้นเทียมของกล้วย

น้ำว่ากาบขาวที่พบได้เกิดจากเอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลาย เพราะแอลกอฮอล์สามารถทำให้เกิดการ plasmolysis จากเซลล์พืช (Lerner *et al.*, 1979; Quintas *et al.*, 2000) การที่เอทานอลเป็นพิษต่อพืช (Perata and Alpi, 1990) นั้น พืชแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อเอทานอลแตกต่างกัน เช่น เอทานอล 0.2 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตในกุหลาบ ในขณะที่ต้องใช้เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์จึงสามารถส่งผลกระทบต่อเจริญเติบโตของต้นแก่นตะวัน (*Helianthus tuberosus*) ได้ (Dieleman *et al.*, 1995) ทั้งนี้พบว่าเซลล์ของยาสูบ (*Nicotiana tabacum*) สามารถสลาย (metabolize) เอทานอลได้ (Yang *et al.*, 1995) ซึ่งในการทดลองนี้ น่าจะแสดงว่ากล้วยน้ำว่ากาบขาวไวต่อเอทานอลมาก แม้ที่ความเข้มข้น 0.095 เปอร์เซ็นต์ก็ตาม ดังนั้นจึงควรต้องหลีกเลี่ยงการทำละลายสารพิษด้วยเอทานอลเมื่อนำไปทดสอบกับกล้วยน้ำว่า

เมื่อเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นน้ำ RO กลับพบว่าลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว่ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 10 และ 100 ppm ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ไม่พบอาการภายนอก ซึ่งแตกต่างกับลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว่ากาบขาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 และ 10,000 ppm ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่แสดงการเปลี่ยนสีบริเวณลำต้นเทียมภายหลังการฉีดสารละลาย 1 วัน ดังนั้นการใช้น้ำ RO จึงเป็นตัวทำละลาย FA ที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการประเมินระดับการตอบสนองของกล้วยต่อ FA

การฉีดสารละลาย FA ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร กับต้นกล้วยน้ำว่า 7 พันธุ์ ในสภาพเปิดภายใต้โรงเรือนในเวลา 8 วัน สามารถแยกแยะระหว่างต้นกล้วยน้ำว่าที่มีระดับการตอบสนองต่อสารละลาย FA ต่างกันได้ นอกจากนี้ยังพบว่า กล้วยหอมทองมีการตอบสนองต่อสารละลาย FA มาก เช่นเดียวกับการทดลองในสภาพปลอดเชื้อ

ระดับความต้านทาน และการตอบสนองของกล้วยน้ำว่าต่อสารแขวนลอย *Foc* และสารละลาย FA

สารแขวนลอยสปอร์ *Foc* ที่ระดับความเจือจาง 10^3 เท่า ซึ่งมีความหนาแน่นสปอร์เฉลี่ย 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สามารถแยกกล้วยน้ำว่าพันธุ์ที่ทนทาน และอ่อนแอต่อสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* ได้จากลักษณะอาการภายในที่แตกต่างกันเมื่อครบระยะเวลาประเมิน 7 วัน โดยสังเกตได้จากสีที่เปลี่ยนไปที่เกิดจากการอุดตันในท่อลำเลียง (vascular occlusion) (Beckman, 1990) โดยสีที่เปลี่ยนไปนี้อาจเกิดได้จาก

1. การสะสมเส้นใยของ *Foc* บริเวณท่อลำเลียง ทำให้ไม่สามารถลำเลียงน้ำ และสารอาหารได้ จึงทำให้เซลล์ตาย จึงเกิดการเปลี่ยนสี

2. ในขณะที่เส้นใย *Foc* เข้าทำลายภายในท่อลำเลียงของลำต้นกล้วย *Foc* ได้ปล่อยสารพิษ (phytotoxin) และส่งผลให้เซลล์บริเวณนั้นๆ ตาย จึงเกิดการเปลี่ยนสีบริเวณนั้น

3. ในขณะที่เส้นใย *Foc* เข้าทำลายภายในท่อลำเลียงของลำต้นกล้วย กล้วยได้มีกระบวนการป้องกันตัวเอง (defend mechanism) โดยปล่อย phenolic compound เพื่อยับยั้งการเข้าทำลายของ *Foc* จึงทำให้บริเวณดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนสี

เนื่องจากการทำแผลบริเวณรากของต้นกล้วยน้ำว้า ได้ทำให้สปอร์ของ *Foc* สัมผัส เจริญเข้าสู่ภายในท่อลำเลียง และเข้าทำลายรากของต้นกล้วยได้โดยตรง (Purwati *et al.*, 2008) ซึ่งทำให้สามารถแสดงอาการได้อย่างเร็วขึ้น (Beckman, 1990) เนื่องจากมีแรงดึงจากการคายน้ำ (transpiration pull) ช่วยส่งผลให้ *Foc* เกิดการเคลื่อนที่ และอุดตันในท่อลำเลียง (vascular occlusion) และมีการเปลี่ยนสีในที่สุด ในเวลา 24 ชั่วโมง เส้นใยของ *Foc* สามารถเจริญไปตามท่อลำเลียงภายในของกล้วยได้ 0.2 มิลลิเมตร ซึ่งเส้นใยจะเริ่มเจริญเติบโตตั้งแต่เมื่อสปอร์แรกสัมผัส (first contact) กับราก โดยกล้วยน้ำว้าที่มีการอุดตันของท่อลำเลียงน้อย มีการเปลี่ยนสีของท่อลำเลียง (vascular discoloration) เพียง 1 ส่วน ใน 12 ส่วน (กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ และกล้วยน้ำว้าค่อม) ขณะที่กล้วยน้ำว้าซึ่งมีการอุดตันของท่อลำเลียงมาก มีการเปลี่ยนสีของท่อลำเลียงมากกว่า 10 ส่วน ใน 12 ส่วน (กล้วยน้ำว้าพระราชทาน, กล้วยน้ำว้าชุมพร, กล้วยน้ำว้าพระประแดง และกล้วยน้ำว้าดำ) ดังนั้นการเปลี่ยนสีของท่อลำเลียง (vascular discoloration) นี้ จึงถูกใช้เป็นหนึ่งในดัชนีที่สามารถวัดระดับความต้านทานของพืชต่อ *Foc* (Pratt, 1982; Daly and Walduck, 2006; Van Den Berg *et al.*, 2007) โดยในกล้วยพันธุ์ที่ต้านทานจะเริ่มกลไกการป้องกันตัวเอง (defend mechanism) เมื่อ *Foc* เริ่มรุกราน โดยมักสร้าง tylose มาเป็นสิ่งกีดขวาง และป้องกันการเจริญเติบโตของเส้นใย หรือปล่อย phenolic compound ออกมาเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Foc* ภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากมีเส้นใยเจริญอยู่ภายในท่อลำเลียง ในขณะที่พันธุ์อ่อนแอจะการเริ่มกลไกเหล่านี้ ช้ากว่าพันธุ์ต้านทานมาก โดยอาจเริ่มเมื่อระยะเวลาผ่านไปแล้วมากกว่า 144 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม ผลการประเมินระดับการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าต่อ *Foc* ในสภาพปลอดเชื้อนั้น อาจจะไม่มีความแตกต่างกับการประเมินในสภาพแปลงปลูกภายนอก เพราะปัจจัยของสภาพแวดล้อมที่ไม่สามารถควบคุมได้ เช่น สภาพอากาศ และอุณหภูมิ รวมไปถึงสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในสภาวะนั้นๆ จะส่งผลต่อการแสดงออกของพืช (Feller *et al.*, 2006)

เมื่อทดสอบการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าในสภาพปลอดเชื้อ โดยผสม FA ในอาหาร MS เพื่อให้ FA เข้าสู่ต้นกล้วยทางราก ลำเลียงผ่านท่อลำเลียง แล้วจึงเกิดการตอบสนอง ซึ่งระหว่างกลำเลียง FA นั้น อาจทำให้ความเข้มข้นของ FA ลดลงเมื่อระยะเวลาผ่านไป จึงอาจทำให้ต้นกล้วยสามารถปรับตัว และทนทานต่อสารพิษได้ ในขณะที่การฉีดสารละลาย FA เข้าสู่ลำต้นกล้วยโดยตรงนอกสภาพ

ปลอดเชื้อ ได้ทำให้ท่อลำเลียงของต้นกล้วยสัมผัสโดยตรงกับสารละลาย FA จึงเกิดการตอบสนองอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้สภาพแวดล้อม และอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วย อายุ และขนาดของต้นกล้วย ซึ่งเป็นปัจจัยภายนอก อาจส่งผลต่อกล้วยในการตอบสนองต่อสารละลาย FA

ผลการตอบสนองข้างต้นนั้นอาจเป็นไปได้ว่า การเกิดลักษณะอาการของโรคตายพรายอาจไม่ได้เกิดจากการทำปฏิกิริยาของ FA เพียงชนิดเดียว แต่อาจเกิดจากสารประกอบ และ/หรือสารพิษต่อพืชชนิดอื่นๆ ที่ *Foc* ผลิตออกมา (co-occurring mycotoxins) (Nosir *et al.*, 2011) แล้วทำปฏิกิริยาเสริมกัน (synergistic effect) (Dowd, 1987; Smith and Sousadias, 1993; Bacon *et al.*, 1996; Bacon and Hinton, 2006) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อได้เปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าต่อสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* และอาหารเพาะเลี้ยงที่มี FA แล้ว พบว่าการตอบสนองของต้นกล้วยน้ำว้าแตกต่างจากแนวคิดของ Alexander *et al.* (1997) ที่ว่า ถ้าพืชทดสอบสามารถทนต่อสารพิษของเชื้อสาเหตุโรคนั้นๆ พืชนั้นน่าจะทนทานต่อเชื้อสาเหตุของโรคได้ ซึ่งในการทดลองนี้พบรูปแบบการตอบสนองต่อ *Foc* และอาหารเพาะเลี้ยงที่มี FA ในสภาพปลอดเชื้อได้ 2 กรณี คือ

กรณีที่ 1 ต้นกล้วยน้ำว้าละอองน้ำตอบสนองต่ำต่อสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* แต่ไม่ทนทานต่อสารละลาย FA ซึ่งเป็นไปได้ว่าเมื่อเกิดการเข้าทำลายของ *Foc* แต่กล้วยน้ำว้าละอองน้ำมีกลไกป้องกัน (defense mechanism) ที่สามารถทำให้ *Foc* ไม่สามารถผลิตสารพิษออกมาได้ ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่ากล้วยน้ำว้าพันธุ์อื่น จึงทำให้พบการอุดตันของท่อลำเลียงน้อย ซึ่งคล้ายกับกล้วยหอมทอง ที่ไม่เป็นพืชอาศัย (host) ของ *Foc* race 2 จึงไม่เกิดการอุดตันของท่อลำเลียงที่เกิดจากสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* แต่เกิดการตอบสนองมากต่ออาหารเพาะเลี้ยงที่มี FA ความเข้มข้น 130 และ 260 ppm ที่เป็นสารพิษที่เกิดจาก *Foc*

กรณีที่ 2 คือ ต้นกล้วยน้ำว้าน้ำไท และกล้วยน้ำว้าขาวกำแพงเพชร ตอบสนองมากต่อสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* แต่ไม่ตอบสนองต่ออาหารเพาะเลี้ยงที่มี FA ความเข้มข้น 130 ppm ในขณะที่กล้วยน้ำว้าชุมพร และกล้วยน้ำว้าดำ ตอบสนองมากต่อสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* แต่ไม่ตอบสนองต่ออาหารเพาะเลี้ยงที่มี FA ความเข้มข้น 260 ppm ส่วนกล้วยน้ำว้าพระประแดงตอบสนองมากต่อ *Foc* แต่ไม่ตอบสนองต่ออาหารเพาะเลี้ยงที่มี FA ทั้งความเข้มข้น 130 และ 260 ppm ซึ่งเป็นไปได้ว่าเซลล์ของกล้วยน้ำว้าน้ำไท กล้วยน้ำว้าขาวกำแพงเพชร กล้วยน้ำว้าชุมพร กล้วยน้ำว้าดำ และกล้วยน้ำว้าพระประแดง ไม่เสียหายมากนักเมื่อสัมผัสกับสารละลาย FA แต่อาจเสียหายจากสารพิษชนิดอื่นๆ ที่ผลิตจาก *Foc* ซึ่งสอดคล้องกับแนวคิดของ Groenwald (2006) ที่ว่า FA ไม่ใช่สารสำคัญเพียงชนิดเดียวที่ก่อให้เกิดอาการของโรค (pathogenicity) อย่างไรก็ตามการศึกษากการตอบสนองของกล้วยน้ำว้าต่ออาหารเพาะเลี้ยงที่มี FA ภายใต้สภาพปลอดเชื้อข้างต้นนั้น อาจได้ผลคลาดเคลื่อนเนื่องจากอิทธิพลของเอทานอลที่เป็นตัว

ทำลายของ FA เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อเอทานอลที่ต่างกัน (Dieleman *et al.*, 1995; Klerk *et al.*, 1997)

การใช้สารละลาย FA ไม่สามารถทำให้เกิดการพัฒนาของแผล แตกต่างกับการใช้สารแขวนลอยสปอร์ *Foc* ที่เป็นสิ่งมีชีวิต ซึ่งทำให้ต้นกล้วยเกิดการพัฒนาลักษณะการอุดตัน/อาการของโรคตามระยะเวลา การใช้สารสกัดหยาบ หรือ crude extract จาก *Foc* ควรเป็นทางเลือกที่ดี เนื่องจาก crude extract จะประกอบไปด้วย phytotoxin ทุกชนิด ที่สังเคราะห์ขึ้นจาก *Foc* ในการศึกษาการตอบสนองของต้นกล้วย



สรุป

1. วิธีการปลูกเชื้อลงในต้นกล้วยในสภาพปลอดเชื้อที่รวดเร็วสามารถทำได้โดยการทำแผลที่ราก แล้วจุ่มต้นกล้วยลงในสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* ความหนาแน่น 1.5×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยประเมินอาการภายในของกล้วยน้ำว้าจากการหลุดตัวของท่อลำเลียงที่มีสีน้ำตาล ซึ่งดูจากหน้าตัดของลำต้นเทียมที่เกิดจากการตัดตามขวาง หลังจากปลูกเชื้อได้ 7 วัน ซึ่งสามารถแยกระหว่างกล้วยพันธุ์ที่ตอบสนองต่อสารแขวนลอยสปอร์ *Foc* มาก และน้อยได้ คือ กล้วยน้ำว้าละอองน้ำ และกล้วยน้ำว้าดำตามลำดับ
2. การทำลาย FA ควรใช้น้ำ RO เป็นตัวทำลาย เพราะกล้วยน้ำว้าไวต่อเอทานอลมาก
3. การประเมินการตอบสนองพันธุ์กล้วยน้ำว้านอกสภาพปลอดเชื้อ โดยฉีดสารละลาย FA ในน้ำ RO ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เข้าลำต้นเทียมของกล้วยน้ำว้า สามารถประเมินได้จากความยาวของแผลหลังจากฉีดสารละลาย FA แล้ว 8 วัน ซึ่งสามารถแยกระหว่างกล้วยพันธุ์ที่ตอบสนองต่อสารละลาย FA มาก และน้อยได้ คือ กล้วยน้ำว้าปากช่อง 50 และกล้วยน้ำว้ากาบขาวตามลำดับ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- เกษร ทวีเศษ. 2511. การศึกษาวิธีการทำกล้วยน้ำว้าตากแห้งโดยใช้ลมร้อนเป่าผ่านจากการแผ่รังสีความร้อนของแผ่นโลหะ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จรัญ จันทลักขณา. 2534. สถิติ วิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. สำนักพิมพ์บริษัทโรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด, กรุงเทพฯ.
- จามจุรี โสติดิกุล, เกศรินทร์ เกตุพยัคฆ์, อนงค์น้อย รัตนแก้ว และเพ็ญประภา จินะมูล. 2554. ผลของ BA และ adenine ต่อการขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ, น. 273. ใน การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 10. 18-20 พฤษภาคม 2554. กรุงเทพฯ, ประเทศไทย.
- ชัยพร สามพุ่มพวง, วุฒินันท์ คงทัด, เกษม หฤทัยธนาสันต์, สิริพิศ พิศชวนชม และวิชัย หฤทัยธนาสันต์. 2546. การศึกษาคุณสมบัติของกระดาษจากเยื่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อนเพื่องานหัตถกรรม, น. 79-84. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ณนัท แดงสังวาลย์. 2552. การใช้แปงกล้วยน้ำว้าทดแทนแป้งสาลีในบราวนี่. การศึกษาค้นคว้าอิสระ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เบญจมาศ ศิลาชัย. 2538. กล้วย. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ปาริชาติ แก่งอินทร์. 2553. การใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* เพื่อควบคุมเห็บในโคเนื้อลูกผสม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ปิยะวดี เจริญวัฒนะ. 2533. ชนิดของเชื้อรา *Fusarium* จากพืชและดินในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ผ่องศรี อังสิริกุล. 2509. การตรวจประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อราบางชนิดต่อการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Fusarium* ที่ติดมากับเมล็ดข้าวโพด. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพศาล สุพล. 2511. การศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพบางอย่างของกล้วยน้ำว้าตากแห้งด้วยเครื่องอบแห้ง ผลกับกล้วยที่หั่นตามยาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศุภนิษา สุทธิพงษ์. 2553. การพัฒนากระบวนการแปรรูปเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ สำหรับการผลิต กล้วยน้ำว้าอบแห้งแบบแผ่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2553. สถิติกล้วย. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

ลำอาน สืบสมาน, ภัทรพร ยุทธาภรณ์พินิจ, ปาริฉัตร ช้างสิงห์ และ สุทธินันท์ แพงทรัพย์. 2555. กล้วย คุณค่าภูมิปัญญาไทย. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช, นนทบุรี.

สุเทพ เจือละออง. 2539. การทดลองใช้เปลือกกล้วยน้ำว้าแห้งบดละเอียดเป็นส่วนผสมในอาหาร สำหรับ เลี้ยงปลาแรด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

แสงแข สพันธุ์พงศ์. 2554. การใช้แปรงกล้วยน้ำว้าทดแทนแปรงสาลีสำหรับการผลิตทาร์ตคัสตาร์ดกล้วย. การศึกษาค้นคว้าอิสระ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรรณิสา จาราว. 2550. การพัฒนาฟิล์มบรีโกลไดจากกล้วยน้ำว้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Agrios, G. N. 2005. **Plant Pathology**. Fifth edition. Elsevier Academic Press. Florida, USA.

Ahloowalia, B. S. and M. Maluszynski, 2001. Induced mutations—A new paradigm in plant breeding. **Euphytica** 118(2): 167–173.

Ahuja, P. S. and P. B. Kirti. 2004. *In vitro* approaches to crop improvement, pp. 195-228. In H. K. Jain and M. C. Kharkwal., eds. **Plant Breeding: Mendelian to Molecular Approaches**. New Delhi, India.

Akubor, P. I., S. O. Obio, K. A. E. Nwodomereand and E. Obiomah. 2003. Production and quality evaluation of banana wine. **Plant Foods for Human Nutrition** 58(3): 1-6.

- Alexander N. J, R. H. Proctor, S. P. McCormick and R. D. Plattner. 1997. Genetic and molecular aspects of the biosynthesis of trichothecenes by *Fusarium*. **Genetic Research Communication** 25(12): 315–320.
- Bacon, C. and D. Hinton. 2006. Is fusaric acid a wilt toxin in maize?. **Phytopathology** 96: 7. **Abstract on Phytopathology** (2006): Abstract No. 9657.
- Bacon, C. W., J. K. Porter, W. P. Norred and J.F. Leslie. 1996. Production of fusaric acid by *Fusarium* species. **Applied and Environmental Microbiology** 62(11): 4039-4043.
- Bansiddhi, K. 2004. Current status and prospects of banana R&D in Thailand, pp. 111-115. In A.B. Molina, J.E. Eusebio, V.N. Roa, I. Van Den Bergh, M.A.G. Maghuyop and K.H. Borromeo., eds. **Advancing banana and plantain R&D in Asia and the Pacific. Proceedings of the 2nd BAPNET steering committee meeting**. Jakarta, Indonesia.
- Beckman, C. H. 1990. Host responses to the pathogen, pp. 93-105. In R.C. Ploetz., eds. **Fusarium Wilt of Banana**. APS Press, Minesota.
- Belabid, L., M. Baum., Z. Fortas., Z. Bouznad and I. Eujayl. 2004. Pathogenic and genetic characterization of Algerian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* by RAPD and AFLP analysis. **African Journal of Biotechnology** 3(1): 25-31.
- Bentley, S., K. G. Pegg and J. L. Dale. 1995. Genetic variation among a world-wide collection of isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analysed by RAPD-PCR fingerprint. **Mycological Research** 99(11): 1378-1384.
- Bhagwat, B. and E.J. Duncan. 1998. Mutation breeding of Highgate (*Musa acuminata*, AAA) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* using gamma irradiation. **Euphytica** 101(2): 143-150.
- Biodiversity-Base Economy Development Office. 2011. **Development database: Banana**. Biodiversity-Base Economy Development Office Press, Bangkok, Thailand.

- Boonyanuphap, J., D. Wattanachaiyingcharoen and K Sakurai. 2004. GIS-based land suitability assessment for *Musa* (ABB group) plantation. **Journal of Applied Horticulture** 6(1): 3-10.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. **Commonwealth Mycological Institute**. Surrey, England.
- Bouizgarne, B., H. E. M. Bouteau, K. Madiona, B. Biligui, M. Monestiez, A. M. Pennarun, Z. Amiar, J. P. Rona, Y. Ouhdouch, I. E. Hadrami and F. Bouteau. 2006. A putative role for fusaric acid in biocontrol of the parasitic angiosperm *Orobanche ramosa*. **Molecular Plant-Microbe Interaction** 19(5): 550-556.
- Brandes, E. W. 1919. Banana wilt. **Phytopathology** 9(9): 379-389.
- Brennan, J. P. 1989. An analysis of the economic potential of some innovations in a wheat breeding programme. **Australian Journal of Agricultural Economics** 33(1): 48-55.
- Brunschot, S. V. 2006. **Fusarium Wilts of Banana Laboratory Diagnostics Manual**. Department of Primary Industries and Fisheries, Queensland, Australia.
- Buddenhagen, I. W. 1981. Conceptual and practical considerations when breeding for tolerance or resistance, pp. 221-234. In R.C. Staples and G.H. Toenniessen., eds. **Plant Disease Control**. Wiley-Interscience, United States.
- Buxton, E. W. 1962. Root exudates from banana and their relationship to strains of the fusarium causing panama wilt. **Annals of Applied Biology** 50(2): 269-282.
- Carlson, R. G. 1990. Banana beer, reciprocity, and ancestor propitiation among the Haya of Bukoba, Tanzania. **Ethnology** 29(4): 297-311.
- Chanadee, W., C. Chanudomporn, K. Tangkittipong and M. Raweewan. 2011. Opportunity and value development for Thai bananas, pp. 62-67. In **International Conference on Economics and Business Information (IPEDR) (Vol. 9)**. IACSIT Press, Bangkok, Thailand.

- Charoenporn, C., S. Kanokmedhakul, F. C. Lin, S. Poeaim and K. Soytong. 2010. Evaluation of bio-agent formulations to control *Fusarium* wilt of tomato. **African Journal of Biotechnology** 9(36): 5836-5844.
- Chawla, H. S. and G. Wenzel. 1987. *In vitro* selection for fusaric acid resistant barley plants. **Plant Breeding** 99(2): 159-163.
- Cheirsilp, B. and K. Umsakul. 2008. Processing of banana-based wine product using pectinase and α -amylase. **Journal of Food Process Engineering** 31(1): 78-90.
- Choi, Y. W., K. D. Hyde and W. H. Ho. 1999. Single spore isolation of fungi. **Fungal Diversity** 3(1): 29-38.
- Constantinides, L. N. and J. J. McHugh. 2003. **Pest Management Strategic Plan for Banana Production in Hawaii**. Workshop Summary. Pearl City Urban Garden Center. University of Hawaii. Hawaii, USA.
- Correll, J. C. 1991. The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology** 81(9): 1061-1064.
- Curir, P., L. Guglieri, M. Dolci, A. Capponi and G. Aurino. 2000. Fusaric acid production by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lilii* and its role in the lily basal rot disease. **European Journal of Plant Pathology** 106(9): 849-856.
- Daly, A. and G. Walduck. 2006. **Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) of bananas (Panama disease)**. Department of Primary Industry, Fisheries and Mines, Northern Territory Government, Australia.
- Dieleman, J. A., R. R. J. Perik and D. Kuiper. 1995. Effect of ethanol on the growth of axillary rose buds *in vitro*. **Journal of Plant Physiology** 145(3): 377-378.

- Diniz, S. P. S. S. and R. C. Oliveira. 2009. Effects of fusaric acid on *Zea mays* L. seedlings. **Pyton** 78(2): 155-160.
- Dita, M. A., C. Waalwijk, L. V. Paiva, M. T. Souza Jr. and G. H. J. Kema. 2011. A greenhouse bioassay for the *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* x 'Grand Naine' (*Musa*, AAA, cavendish subgroup) interaction. **Acta Horticulturae** 897: 377-380.
- Dong, X., Ling, N., Wang, M., Shen, Q. and S. Guo. 2012. Fusaric acid is a crucial factor in the disturbance of leaf water imbalance in *Fusarium*-infected banana plants. **Plant Physiology and Biochemistry** 60(1): 171-179.
- Dowd, P. F. 1987. Fusaric acid: A secondary fungal metabolite that synergizes toxicity of cooccurring host allelochemicals to the corn earworm, *Heliothis zea* (Lepidoptera). **Journal of Chemical Ecology** 15(1): 249-254.
- Edel-Hermann, V., N. Gautheron and C. Steinberg. 2012. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* and related species pathogenic on tomato in Algeria and other Mediterranean countries. **Plant Pathology** 61(4): 787-800.
- Faylon, P. S., J. E. Eusebio and E. A. Anit. 2003. Banana R&D in the Philippines: Updates and highlights, pp. 81-94. In A.B. Molina, J.E. Eusebio, V.N. Roa, I. Van Der Bergh and M.A.G. Maghuyop., eds. **Proceedings of the 2nd BAPNET Steering Comitte meeting on Advancing banana and plantain R&D in Asia and the Pacific**. 6-7 October 2003, Jakata, Indonesia.
- Feller, C., R. J. Manlay, M. J. Swift and M. Bernoux. 2006. Functions, services and value of soil organic matter for human societies and the environment: A historical perspective, 9-22. In Frossard, E., W.E.H. Blum and B. P. Warkentin., eds. **Function of Soils for Human Societies and the Environment**. Geological Society, London.

- Fernandez, M. T., M. Fernandez, M. L. Centeno, J. Canal and R. Rodriguez. 2000. Reaction of common bean callus to culture filtrate of *Colletotrichum lindemuthianum*: Differences in the composition and toxic activity of fungal culture filtrates. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 61(1): 41–49.
- Food and Agriculture Organization. 2013. **FAOSTAT**. Available Source: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>, January 15, 2014.
- Fourie, G., E. T. Steenkamp, T. R. Gordon and A. Viljoen. 2009. Evolutionary relationships among the *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* vegetative compatibility groups. **Applied and Environmental Microbiology** 75(14): 4770-4781.
- Frame, B., K. F. Yu, B. R. Christie and K. P. Pauls. 1991. *In vitro* selection for resistance to verticillium wilt in alfalfa (*Medicago sativa* L.) using a fungal culture filtrate. **Physiological and Molecular Plant Pathology** 38(5): 325-340.
- Fuller, D. Q. and M. Madella. 2009. Banana cultivation in South Asia and East Asia: A review of the evidence from archaeology and linguistics. **Ethnobotany Research and Applications** 7(7): 333-351.
- Giorni, P., P. Battilani and N. Magan. 2008. Effect of solute and matric potential on *in vitro* growth and sporulation of strains from a new population of *Aspergillus flavus* isolated in Italy. **Fungal Ecology** 1(2): 102-106.
- Groenewald, S. 2006. **Biology, Pathogenicity and Diversity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense***. Ph.D. Thesis, University of Pretoria.
- Guenther, J. C. and F. Trail. 2005. The development and differentiation of *Gibberella zeae* (anamorph: *Fusarium graminearum*) during colonization of wheat. **Mycologia** 97(1): 229–237.

- Guest, D. and J. F. Brown. 1997. **Plant Defences Against Pathogens**. Rockvale Publications. Australia.
- Hahn, S. K., D. Vuylsteke and R. Swennen. 1990. First reaction to ABB cooking bananas distributed in southeastern Nigeria. pp. 306-325. *In* R. A. Fullerton and R.H. Stover (eds.), **Sigatoka Leaf Spot Diseases of Bananas**. INIBAP, Montpellier, France.
- Harris, D. L. F. and J. F. Pedersen. 2011. Presence of *Fusarium* spp. in air and soil associated with sorghum fields. **Plant Disease** 95(6): 648-656.
- Heath, M. C. 2000. Hypersensitive response-related death. **Plant Molecular Biology** 44(2): 321-334.
- Herbert, J. A., and D. Marx. 1990. Short-term control of panama disease in South Africa. **Phytophylactica** 22:339-340.
- Hwang, S. C. and W. H. Ko. 2004. Cavendish banana cultivars resistant to fusarium wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. **Plant Disease** 88(6): 580-588.
- Juma, M. J. 2010. **Incidence of *Fusarium* Species and Levels of Fumonisin B1 in Sorghum and Finger Millet in Western Kenya**. M.E. Thesis, Kenyatta University.
- Kamle, M., S. Kalim, A. Bajpai, R. Chandra and R. Kumar. 2012. *In vitro* selection for wilt resistance in Guava (*Psidium guajava* L.) cv. Allahabad Safeda. **Biotechnology** 11(3): 163-171.
- Katan, T. 1999. Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. **Phytoparasitica** 27 (1): 51-64.
- Klerk, G.J.D., J.T. Brugge and S. Marinova. 1997. Toxicity of ethanol during proliferation and adventitious root formation in apple microcutting *in vitro*. **Biologia Plantarum** 39(1): 105-112.

- Knogge, W. 1996. Fungal infection of plants. **The Plant Cell** 8(10): 1711-1722.
- Kunkaew, S., J. Waorapong, D. R. Smith and K. Triwitayakorn. 2010. An *in vitro* detached leaf assay for pre-screening resistance to anthracnose disease in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Australasian Plant Pathology** 39(6): 547-550.
- Lakshminarayanan, K. and D. Subramanian. 1955. Is fusaric acid a vivotoxin?. **Nature** 176(48): 697-698.
- Lam, E., N. Kato and M. Lawton. 2001. Programmed cell death, mitochondria and the plant hypersensitive response. **Nature** 411(1): 848-853.
- Lauritzen, M. and L. Gold. 2003. Brain function and neurophysiological correlates of signals used in functional neuroimaging. **The Journal of Neuroscience** 23(10): 3972-3980.
- Lerner, H. R., Guy, R., Reinhold, L., A. P. Mayber and R. Weimberg. 1979. Induction of membrane leakage in plant cells. **Acta Horticulturae** 89(1): 147-149.
- Leslie, J. F. 1991. Mating populations in *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium* Section *Liseola*). **The American Phytopathological Society** 81(9): 1058-1060.
- _____. 1999. Genetic status of the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Journal of Plant Pathology** 15(5): 259-269.
- _____ and B.A. Summerell. 2006. **The Fusarium Laboratory Manual**. Blackwell Publishing. Iowa, USA.
- Ling, D. H., P. Vidhyaseharan, E. S. Borromeo, F. J. Zapata and T. W. Mew. 1985. *In vitro* screening of rice germplasm for resistance to brown spot disease using phytotoxin. **Theoretical and Applied Genetics** 71(1): 133-135.

- Lori, G. A., S. M. Wolcan and S. Larran. 2008. *Fusarium* yellows of celery caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* in Argentina. **Journal of Plant Pathology** 90 (2): 173-178.
- Mak, C., A. A. Mohamed, K. W. Liew and Y. W. Ho. 2001. Early screening technique for fusarium wilt resistance in banana micropropagated plants. In S.M. Jain and R. Swennen., eds. **Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutations**. Leuven, Belgium.
- Matsumoto, K., M. L. Barbosa, L. A. C. Souza and J. B. Teixeira. 1995. Race 1 fusarium wilt tolerance on banana plants selected by fusaric acid. **Euphytica** 84(1): 67-71.
- Moretti, A. N. 2009. Taxonomy of *Fusarium* genus, a continuous fight between lumpers and splitters. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 117(3): 7-13.
- Moore, N. Y., S. Bentley, K. G. Pegg and D. R. Jones. 1995. **Musa disease fact sheet no 5 fusarium wilt of banana**. INIBAP. Montpellier, France.
- _____, P. A. Hargreaves, K. G. Pegg and J. A. G. Irwin. 1991. Characterisation of strains of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cybense* by production of volatiles. **Australia Journal of Botany** 39(2): 161-166.
- Muhammad, A. J. and R. Y. Othman. 2005. Characterization of fusarium wilt-resistant and fusarium wilt-susceptible somaclones of banana cultivar rastali (*Musa* AAB) by Random Amplified Polymorphic DNA and Retrotransposon Markers. **Plant Molecular Biology Reporter** 23(3): 241-249.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum** 15(3): 473-497.
- Namukwaya, B., L. Tripathi, J. N. Tripathi, G. Arinaitwe, S. B. Mukasa and W. K. Tushemereirwe. 2012. Transgenic banana expressing *Pflp* gene confers enhanced resistance to xanthomonas wilt disease. **Transgenic Research** 21(4): 855-865.

- Nasir, I. A. and S. Riazuddin. 2005. *In vitro* selection for fusarium wilt resistance in gladiolus. **Journal of Integrative Plant Biology** 50(5): 601-612.
- Nelson, P. E. 1990. Taxonomy of fungi in the genus *Fusarium* with emphasis on *Fusarium oxysporum*, pp. 27-35. In R.C. Ploetz., eds. **Fusarium Wilt of Banana**. APS Press, Minesota.
- Nelson, P. E., T. A. Toussoun and W. F. O. Marassas. 1983. **Fusarium species: an illustrated manual for identification**. The Pennsylvania State University Press, USA.
- Newley, P. 2010. **Panama disease in bananas**. Available Source: http://www.dpi.nsw.gov.au/_data/assets/pdf_file/0006/348900/panama-disease-in-bananas.pdf, August 1, 2010.
- Newsmax. 2010. **The importance of bananas**. Available Source: <http://www.newsmax.com/FastFeatures/healthy-fruit-diet-ananas/2010/12/15/id/380040>, December 15, 2010.
- Nosir, W., McDonald, J. and S. Woodward. 2011. Impact of biological control agents on fusaric acid secreted from *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* (Massey) Snyder and Hansen in *Gladiolus grandiflorus* corms. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology** 38(1): 21-27.
- O'Donnell, K. and E. Cigelnik. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 7(1):103-16.
- Okoth, S. and E. Siameto. 2010. Suppression of *Fusarium* spp. in a maize and beans intercrop by soil fertility management. **Journal of Yeast and Fungal Research** 1(2): 35-43.
- Orjeda, G. 1998. Evaluation of *Musa* germplasm for resistance to Sigatoka diseases and Fusarium wilt. **INIBAP Technical Guidelines 3**. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

- Ostmark, H. E. 1974. Economic insect pests of bananas. **Annual Review of Entomology** 19(1): 161-176.
- Otalvaro, F., F. Echeverri, W. Quinones, F. Torres and B. Schneider. 2002. Correlation between phenylphenalenone phytoalexins and phytopathological properties in *Musa* and the role of a dihydrophenylphenalene triol. **Molecules** 7(1): 331-340.
- Pavlovkin, J, I. Mistrík and M. Prokop. 2004 Some aspects of the phytotoxic action of fusaric acid on primary *Ricinus* roots. **Plant Soil Environment** 50(9): 397-401.
- Perata, P. and A. Alpi. 1990. Ethanol-induced injuries to carrot cells. **Plant Physiology** 95(3): 748-752.
- Pietro, A. D., M. P. Madrid, Z. Caracuel, J. Delgado-Jarana and M. I. G. Roncero. 2003. *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. **Molecular Plant Pathology** 4(5): 315-325.
- Ploetz, R. C. 2000. **Panama Disease: A Classic and Destructive Disease of Banana**. Plant Health Progress. Florida, USA.
- _____. 2006. Fusarium wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. **The American Phytopathological Society** 96(6): 653-656.
- Popenoe, P. 1914. Origin of the banana. **Journal of Heredity** 5(1): 273-280.
- Pratt, R. G. 1982. A new vascular wilt disease caused in Crimson Clover by *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology** 72(6): 622-627.
- Purwati, R. D., N. Hidayah and S. Sudarsono. 2008. Inoculation methods and conidial densities of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* in Abaca. **Hayati Journal of Biosciences** 15(1): 1-7.

- Quintas, C., E. L. Costa and M. C. L. Dias. 2010. The effect of ethanol on the plasma membrane permeability of spoilage yeasts. **Food Technology Biotechnology** 38(1): 47–51.
- Rabbani, G. H., T. Teka, S. K. Saha, B. Zaman, N. Majid, M. Khatun, M. A. Wahed and G. J. Fuchs. 2004. Green banana and pectin improve small intestinal permeability and reduce fluid loss in Bangladeshi children with persistent diarrhea. **Digestive Diseases and Sciences** 49(3): 475–484.
- Rahman, N. R. B. A., K. Ahmad, P. Lepun, Z. Rosli, A. Abdu and W. S. King. 2012. Effects of culture media on growth and spore occurrence of *Fusarium oxysporum* Schlecht. f.sp. *cubense* (E.F. Smith) W.C. Snyder. & H.N. Hans. **Asia Life Sciences** 21(1): 133–148.
- Rampersad, S. N. and L. D. Teelucksingh. 2011. First report of *Fusarium proliferatum* infecting pimento shili peppers in Trinidad. **The American Phytopathological Society** 95(10): 1313.
- Remotti, P. C., H. J. M. Löffler and L. V. Vloten-Doting. 1997. Selection of cell-lines and regeneration of plants resistant to fusaric acid from *Gladiolus* × *grandiflorus* cv. 'Peter Pears'. **Euphytica** 96(2): 237–245.
- Ross, A. C. 1992. Vitamin a status: relationship to immunity and the antibody response. **Experimental Biology and Medicine** 200(3): 303–320.
- Rossi, V. and A. Scandolara. 2009. Effect of environmental conditions on spore production by *Fusarium verticillioides*, the causal agent of maize ear rot. **European Journal Plant Pathology** 123(2): 159–169.
- Roux, F., L. Gao and J. Bergelson. 2010. Impact of initial pathogen density on resistance and tolerance in a polymorphic disease resistance gene system in *Arabidopsis thaliana*. **Genetics Society of America** 185(1): 283–291.
- Rubaihayo, P. R. and C. S. Gold. 1991. Rapid rural appraisal of highland banana production in Uganda. **Research Bulletin 2**. Makerere University, Uganda.

- Sadasivan, T.S. 1961. Physiology of wilt disease. **Annual Review of Plant Physiology** 12(1): 449-468.
- Scot, C. N., C. P. Randy and A. K. Kepler. 2006. *Musa* species (banana and plantain). Available Source: www.traditionaltree.org/bch.cbd.int/database/attachment/?id=12529, January 15, 2014.
- Seifet, K. 1996. **Fusarium Interactive Key**. Agriculture and Agri-Food. Canada.
- Sharrock, S. and C. Lusty. 2000. Nutritive value of banana, pp. 28-31. **In INIBAP Annual Report 1999**. INIBAP. Montpellier, France.
- Slavov, S. 2005. Phytotoxins and *in vitro* screening for improved disease resistant plants. **Biotechnology and Biotechnological Equipment** 19(1): 48-55.
- Smith, M. K., S. D. Hamill, P. W. Langdon and K. G. Pegg. 1995. *In vitro* mutation breeding for the development of banana with resistance to race 4, fusarium wilt, pp. 37-44. **In in vitro mutation breeding of bananas and plantains. Final Reports of an FAO/IAEA Co-ordinated Research Programme**. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria.
- Smith, T. K. and E. J. MacDonald. 1990. Effects of fusaric acid on brain regional neurochemistry and vomiting behavior in swine. **Journal of Animal Science** 69(5): 2044-2049.
- _____ and M. G. Sousadias. 1993. Fusaric acid content of swine feedstuffs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 41(12): 2296-2298.
- Soledade, M., C. Pedras and S. Hossain. 2011. Interaction of cruciferous phytoanticipins with plant fungal pathogens: Indole glucosinolates are not metabolized but the corresponding desulfo-derivatives and nitriles are. **Phytochemistry** 72(18): 2308-2316.
- Somrith, A., Singburaudom, N. and O. Piasai. 2011. Vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. **Kasetsart Journal (Natural Science)** 45(3): 451-460.

- Spangenberg, T. and Y. Kishi. 2010. Highly sensitive, operationally simple, cost/time effective detection of the mycolactones from the human pathogen *Mycobacterium ulcerans*. **Chemical Communications** 46(1): 1410–1412.
- Striffler, S. and M. Moberg. 2003. **Banana Wars: Power Production, and History in the Americas**. Duke University Press. USA.
- Svabova, L. and A. Lebeda. 2005. *In vitro* selection for improved plant resistance to toxin-producing pathogens. **Phytopathology** 153(1): 52-64.
- Telles-Pupulin, A. R., S. P. S. S. Diniz, A. Bracht and I. Iwamoto. 1996. Effectes of fusaric acid on respiration in maize root mitochondria. **Biologia Plantarum** 38(3): 421-429.
- Thakur, M., D. R. Sharma and S. K. Sharma. 2002. *In vitro* selection and regeneration of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) plants resistant to culture filtrate of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. **Plant Cell Reports** 20(9): 825-828.
- Thangavelu, R. and M. M. Mustaffa. 2012. Current advances in the fusarium wilt disease management in banana with emphasis on biological control, pp. 273-298. In C.J. Cumagem., eds. **Plant Pathology** InTech, Rijeka, Croatia.
- Thompson, A. H., C. D. Narayanin, M. F. Smith and M. M. Slabbert. 2011. A disease survey of fusarium wilt and alternaria blight on sweet potato in South Africa. **Crop Protection** 30(11): 1409-1413.
- Tripathi, L., J. Odipio, J. N. Tripathi and G. Tusiime. 2008. A rapid technique for screening banana cultivars for resistance to *Xanthomonas* wilt. **European Journal of Plant Pathology** 121(1): 9-19.
- Twizeyimana, M., P. S. Ojiambo, A. Tenkouano, T. Ikotun and R. Bandyopadhyay. 2007. Rapid screening of *Musa* species for resistance to black leaf streak using *in vitro* plantlets in tubes and detached leaves. **Plant Disease** 91(3): 308-314.

Uganda National Council for Science and Technology; UNCST. 2007. **The Biology of Bananas and Plantains**. Uganda.

Van Den Berg, N., D. K. Berger, I. Hein, P. R. J. Birch, M. J. Wingfield and A. Viljoen. 2007.

Tolerance in banana to *Fusarium* wilt is associated with early up-regulation of cell wall-strengthening genes in the roots. **Molecular Plant Pathology** 8(3): 333-341.

Vicente, L. P. 2004. *Fusarium* wilt (Panama disease) of bananas: an updating review of the current knowledge on the disease and its causal agent, pp. 1-15. *In XVI Reunion Internacional Acorbat*. Oaxaca, Mexico.

Viquez, F., C. Lastreto and R. D. Cooke. 1981. A study of the production of clarified banana juice using pectinolytic enzymes. **International Journal of Food Science & Technology** 16(2): 115-125.

Wang, H. and T. B. Ng. 1999. Pharmacological activities of fusaric acid (5-butylpicolinic acid). **Life Science** 65(9): 849-856.

Wang, M., Y. Xiong, N. Ling, X. Feng, Z. Zhong, Q. Shen and S. Guo. 2013. Detection of the dynamic response of cucumber leaves to fusaric acid using thermal imaging. **Plant Physiology and Biochemistry** 66(3): 68-76.

Windels, C. E. 1991. Current status of *Fusarium* taxonomy. **Phytopathology** 81(9): 1048-1051.

Winder, R. S. 1999. The influence of substrate and temperature on the sporulation of *Fusarium avenaceum* and its virulence on marsh reed grass. **Mycological Research** 103(9): 1145-1151.

Wu, F., D. Bhatnagar, T. B. Klimke, I. Carbone, R. Hellmich, G. Munkvold, P. Paul, G. Payne and E. Takle. 2011. Climate change impacts on mycotoxin risks in US maize. **World Mycotoxin Journal** 4(1): 79-93.

- Wu, Y. L., G. J. Yi and X. X. Peng. 2010. Rapid screening of *Musa* species for resistance to fusarium wilt in an *in vitro* bioassay. **European Journal of Plant Pathology** 128(3): 409-415.
- Yang, Y. S., D. C. Chu, M. Aizawa, M. Kim and T. Tamomoto. 1995. Ethanol metabolism by tobacco callus *in vitro*. **Plant Science** 104(2): 147-152.
- Zainudin, N. A. I. M., A. A. Razak and B. Salleh. 2008. Bakanae disease of rice in Malaysia and Indonesia: etiology of the causal agent based on morphological, physiological and pathogenicity characteristics. **Journal of Plant Protection Research** 48(4): 475-485.

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ	ศุทธิศักดิ์ แสงธราทิพย์
เกิดวันที่	7 มีนาคม 2529
สถานที่เกิด	เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ตำแหน่งปัจจุบัน	นักลงทุน
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	กรุงเทพมหานคร
ผลงานดีเด่น และ/หรือรางวัลทางวิชาการ -	
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุน Erasmus Mundus: EurasiaII จากสหภาพยุโรป (พ.ศ. 2554) ทุน Program Hubet Curien จากประเทศฝรั่งเศส (พ.ศ. 2555) ทุน Japan Student Services Organization จากประเทศญี่ปุ่น (พ.ศ. 2556)