BGJ4480030 ศ.ดร.จักรี เส้นทอง

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

# โครงการ กลไกการสร้างความต้านทานของสายพันธุ์ถั่วลิสงต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และการเกิดสารอะฟลาท็อกซิน

โดย
ศาสตราจารย์ ดร. จักรี เส้นทอง
นางสาวจันทร์จิรา พื้นตะศรี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สาวิตร มีจุ้ย
Assoc. Prof. Dr. Keith T Ingram

เสร็จสิ้นโครงการเมื่อ วันที่ 27 กันยายน 2546

สัญญาเลขที่ BGJ/30/2544

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

# โครงการ กลไกการสร้างความต้านทานของสายพันธุ์ถั่วลิสงต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และการเกิดสารอะฟลาท็อกซิน


ผู้วิจัย

ศาสตราจารย์ ดร. จักรี เส้นทอง[1]

นางสาวจันทร์จิรา พื้นต๊ะศรี[1]

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สาวิตร มีจุ้ย[2]

Assoc. Prof. Dr. Keith T Ingram[3]

สังกัด

[1]ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่

[2]สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง จ. ลำปาง

[3]Crop and Soil Sciences, Griffin, GA, USA.



สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย



(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

**กิตติกรรมประกาศ**

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีด้วยการสนับสนุนทุนวิจัยจาก ฝ่ายวิชาการสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โดยได้ให้การสนับสนุนทุนงานวิจัยเป็นระยะเวลา 2 ปี

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปางเอื้ออำนวยสถานที่ในการทำงานวิจัยตลอดจนอุปกรณ์ต่างๆ เจ้าหน้าที่ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่กรุณาช่วยเหลือในด้านแรงงาน และมหาวิทยาลัยจอร์เจียเอื้ออำนวยในด้านเทคโนโลยีงานวิจัย และขอขอบคุณคุณธีรศักดิ์ รุ่งเจริญ ที่ให้คำปรึกษา ความช่วยเหลือทางด้านคอมพิวเตอร์โปรแกรม

สุดท้ายนี้ ทีมผู้ผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยชิ้นนี้คงเป็นประโยชน์ และเป็นแนวทางในการศึกษาแก่ผู้สนใจและเกี่ยวข้องกับงานวิจัยด้านนี้ หากมีข้อบกพร่องประการใด ผู้วิจัยยินดีน้อมรับแนะนำเพื่อแก้ไขให้เหมาะสมในโอกาสต่อไป และขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

ทีมงานวิจัย

**รหัสโครงการ** สัญญาเลขที่ BGJ/30/2544

**ชื่อโครงการ** กลไกการสร้างความต้านทานของสายพันธุ์ถั่วลิสงต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และการเกิดสารอะฟลาท็อกซิน

**ชื่อนักวิจัย** ศ.ดร. จักรี เส้นทอง[1], นางสาวจันทร์จิรา พื้นต๊ะศรี[1], ผศ.ดร. สาวิตร มีจุ้ย[2]
Assoc. Prof. Dr. Keith T Ingram[3]
[1]ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, [2]สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง อ.เมือง จ.ลำปาง, [3]Crop and Soil Sciences, Griffin, GA, USA.

**Email address :** agicsnth@chiangmai.ac.th
puntase@hotmail.com
sawitm@hotmail.com

**ระยะเวลาโครงการ** 28 กันยายน 2544 - 27 กันยายน 2546

ในพันธุ์ถั่วลิสงที่ไม่ทนแล้งจะพบประชากรของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่รากและฝัก ในปริมาณที่มากกว่าพันธุ์ถั่วลิสงที่ทนแล้ง ทั้งนี้อาจจะเกี่ยวข้องกับสารที่ปลดปล่อยจากรากและฝักของถั่วลิสง ซึ่งอาจจะเป็นอาหารสำหรับการเพิ่มประชากรของเชื้อรา *A. flavus* ก็ได้ การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อประเมินถึงความสัมพันธ์ระหว่างสารที่ปลดปล่อยจากรากของถั่วลิสงในแต่ละพันธุ์กับการเพิ่มประชากรของเชื้อรา *A. flavus* ในสภาวะที่ขาดน้ำและการต้านทานต่อสารอะฟลาท็อกซิน ได้ทำการทดลองที่โรงปฏิบัติการของมหาวิทยาลัยจอร์เจีย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และสถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง ระหว่างเดือน กันยายน พ.ศ. 2544 ถึง เดือน กันยายน พ.ศ. 2546 โดยการปลูกถั่วลิสง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 419CC, 511CC, Luhua 11 และพันธุ์ไทนาน 9 ในระบบ hydroponic ที่มีสารละลาย half Hoagland ได้ใช้สาร poly- ethyleneglycol เพื่อชักนำให้เกิดสภาวะเครียดจากการขาดน้ำ การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสารที่ปลดปล่อยจากรากด้วยเครื่องมือ HPLC และใช้ WinRhizo program สำหรับการวิเคราะห์เกี่ยวกับระบบของราก ผลการทดลอง พบว่า ในสภาวะที่ขาดน้ำจะมีน้ำตาลซูโครส ปลดปล่อยออกมาจากรากในปริมาณที่มากกว่าน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรุกโทส และจากผลการทดลองนี้เองได้สนับสนุนสมมุติฐานที่ว่า สารละลายที่ปลดปล่อยออกมาจากรากของถั่วลิสง โดยเฉพาะน้ำตาลซูโครส นั้นจะเป็นปัจจัยหลักทางนิเวศวิทยาที่จะมีผลต่อการเพิ่มประชากรของเชื้อรา *A. flavus* ในบริเวณของรากและฝักของถั่วลิสง ในสภาวะที่ขาดน้ำสายพันธุ์ถั่วลิสงที่ไม่ทนแล้ง (419CC) จะมีการปลดปล่อยน้ำตาลซูโครสออกมาในปริมาณที่มากกว่า 40% เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ที่ทนแล้ง (511CC)

**คำหลัก** เชื้อรา *Aspergillus flavus*, สารที่ปลดปล่อยจากราก, สายพันธุ์ถั่วลิสง, ระบบ hydroponic, การขาดน้ำ

**Project Code:** BGJ/30/2544

**Project Title:** Mechanisms of Resistance to *Aspergillus flavus* Infection and Aflatoxin Contamination in Peanut Genotypes

**Investigator:** Prof. Dr. Chuckree Senthong[1], Ms. Janjira Puntase[1], Assist. Prof. Dr. Sawit Meechoui[2], Assoc. Prof. Dr. Keith T Ingram[3]

[1]Department of Agronomy, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand.

[2]Lampang Agricultural Research and Training Center, Lampang, Thailand.

[3]Department of Crop and Soil Sciences, University of Georgia, Griffin, GA, U.S.A.

**Email address :** agicsnth@chiangmai.ac.th

puntase@hotmail.com

sawitm@hotmail.com

**Project Period:** September 28, 2001 – Septerber 27, 2003

*Aspergillus flavus* population appeared to be greater on roots and pods of drought susceptible peanut genotypes than on roots and pods of drought resistant genotypes. Root exudates may provide growth substrate to promote *A. flavus* population increase. The objective of this research was to ascertain the relationship between root exudates, development of *A. flavus* population, water deficit and aflatoxin resistance. The experiments were conducted in the greenhouse of the Georgia Envirotron, the University of Georgia, at Chiang Mai University and at the Lampang Agricultural Research and Training Center in Thailand from September, 2001 to September, 2003. Four peanut genotypes; 419CC, 511CC, Luhua 11 and Tainan 9 were grown in a hydroponic system with half- Hoagland's solution. Poly- ethyleneglycol was used to impose as water deficit. Root exudates were measured by HPLC. Root system were analyzed for root length using a flatbed scanner and WinRhizo software. The effects of root exudates on *A. flavus* population growth was observed. Water deficit promoted in the greater exudation of sucrose more than glucose and fructose. These result support the hypothesis that the exudates especially sucrose in the geocarposphere are an important ecological factor affecting the colonization of peanut fruits by *Aspergillus flavus*. Under water deficit condition drought susceptible genotype (419CC) excreated more than 40% of sucrose when compared with the drought resistant genotypes (511CC)

**Keywords:** *Aspergillus flavus*, Root exudates, Peanut genotypes, Hydroponic system, Water deficit

## บทนำ

การศึกษาเกี่ยวกับการเข้าทำลายของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในบริเวณรากและฝักของถั่วลิสงนั้น ยังไม่ทราบแน่ชัดว่ามีกลไกของการเข้าทำลายได้อย่างไร และมีความสัมพันธ์กับการเกิดสารอะฟลาท็อกซินได้อย่างไร แต่เมื่อไม่นานมานี้ได้มีงานวิจัยซึ่งทำโดย Ingram *et al.* (1999) ได้ใช้ระบบ mini- rhizotron สำรวจการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* บริเวณรากและฝักของถั่วลิสง โดยได้ทำการปลูกเชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่มียีน green fluorescing protein (GFP) ที่ได้พัฒนาโดย J. Cary และยีน GFP ตัวนี้มีคุณสมบัติเรืองแสงสีเขียวสว่างภายใต้คลื่นแสง UV จึงทำให้เชื้อรา *A. flavus* ที่ใช้มีคุณสมบัติเรืองแสงสีเขียวด้วย ทำให้ง่ายแก่การสำรวจ และ Ingram *et al.* (1999) ได้สำรวจจำนวนประชากรของเชื้อรา GFP *A. flavus* โดยประเมินจากการเพิ่มปริมาณการเรืองแสงบริเวณผิวรากและฝักถั่วลิสงภายใต้สภาวะดินแห้งหรือขาดน้ำ พบว่า จำนวนของเชื้อรา *A. flavus* ปรากฏในบริเวณรากและฝักของถั่วลิสงสายพันธุ์ที่ไม่ทนแล้งจะมีปริมาณที่มากกว่าบริเวณรากและฝักของถั่วลิสงสายพันธุ์ที่ทนแล้ง

สารที่ปลดปล่อยจากราก และสารบางอย่างที่รั่วไหล อาจเป็นสารตั้งต้นส่งเสริมการเจริญของประชากรเชื้อรา *A. flavus* ปริมาณสารที่ปลดปล่อยออกมาดูเหมือนว่าจะแตกต่างกันในถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์ และเพิ่มขึ้นในพืชที่ตอบสนองต่อสภาวะเครียดด้วย สมมุติฐานของการศึกษาในครั้งนี้ คือ สารที่ปลดปล่อยจากราก และสารที่รั่วไหลจากเซลล์รากพืช อาจเป็นตัวที่จะอธิบายถึงความแตกต่างของการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* บริเวณผิวราก และความแตกต่างทางด้านพันธุกรรมของถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อการเกิดสารพิษอะฟลาท็อกซิน ดังนั้น

การทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อทดสอบสมมุติฐาน โดยการประเมินปริมาณของสารที่ปลดปล่อยหรือรั่วไหลจากรากของถั่วลิสงในแต่ละสายพันธุ์ ความสัมพันธ์ระหว่างสารที่ปลดปล่อยจากราก กับการต้านทานต่อสภาวะที่ขาดน้ำ และผลของสารที่ปลดปล่อยจากราก ต่อจำนวนเชื้อรา *A. flavus* ในดิน

## วิธีการทดลอง

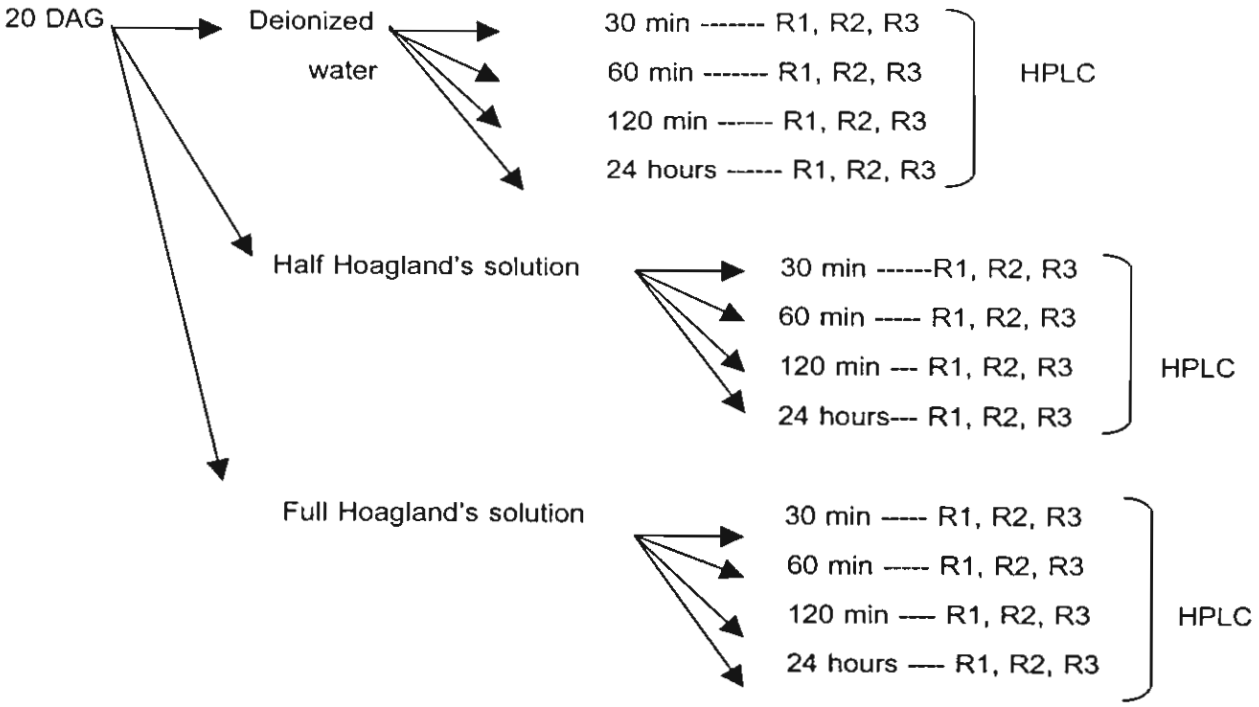
การทดลองในปี พ.ศ. 2544 ณ มหาวิทยาลัยจอร์เจีย ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ทำการปลูกถั่วลิสง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 329CC, 419CC, 511CC และพันธุ์ Georgia Green ในถังปลูกขนาด 200 ลิตรด้วยทรายละเอียด ภายใต้สภาพโรงเรือน ทุกถังปลูกติดตั้งท่อ mini-rhizotron ที่ระดับ 5, 25, 50, 75 เซนติเมตร สำหรับสอดกล้อง mini-rhizotron (ภาพ 1)เพื่อการสำรวจการเจริญเติบโตของราก และฝักถั่วลิสง แบ่งกรรมวิธีการให้น้ำสารละลาย half Hoagland แก่ถั่วออกเป็น 2

กรรมวิธี คือ ให้น้ำที่จุดอิ่มตัว (ให้น้ำสัปดาห์ละ 2 ครั้ง) และให้ขาดน้ำ 2 สัปดาห์สลับกับการให้น้ำตามปรกติ 1 สัปดาห์ เมื่อถั่วอายุได้ 30-40 วันหลังปลูก ทำการปลูกเชื้อ GPF *A. flavus* ลงบนผิวทรายตรงตำแหน่งท่อ mini-rhizotron แล้วหลังจากนั้น ใช้กล้อง mini-rhizotron สำรวจการเจริญของเชื้อรา GPF *A. flavus* บริเวณที่รากเจริญด้วยแสง UV ทำการเก็บรวบรวมภาพที่ได้ลงในคอมพิวเตอร์ แล้วนำภาพข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์การเรืองแสงสีเขียวด้วย QuaCos program โดยข้อมูลจะบันทึกปริมาณการเรืองแสงสีเขียวต่อภาพที่ได้ ในระยะเกิดฝักก็ทำการสำรวจบริเวณที่เกิดฝัก แล้วรวบรวมภาพข้อมูลวิเคราะห์เช่นเดียวกัน

การทดลองในปี 2545 - 2546

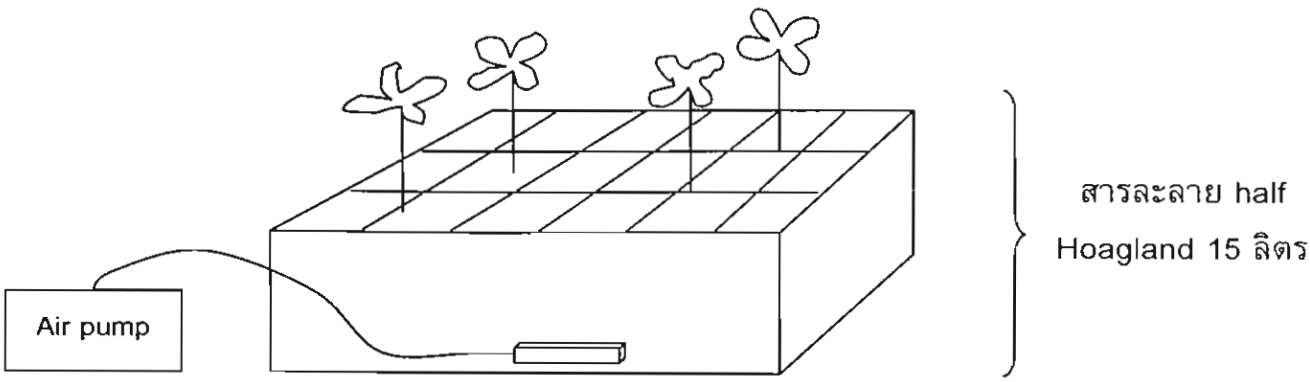
ได้แบ่งการทดลองเป็น 2 ช่วงการทดลอง คือ ช่วงแรกทำการประเมินอายุของต้นถั่วลิสงที่ควรเก็บ, ช่วงระยะเวลาการแช่ราก และชนิดของสารละลายที่ใช้แช่รากถั่วลิสง ตามลำดับ ช่วงที่ 2 นำผลจากช่วงการทดลองแรกมาใช้ในการหาปริมาณน้ำตาลในถั่วลิสงสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

การทดลองที่ 1 ทำการปลูกถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 โดยเริ่มจากเพาะเมล็ดถั่วด้วยกระดาษเพาะ (Between paper) ประมาณ 3 วัน เมื่อรากถั่วเริ่มงอกยาว 2-3 เซนติเมตร ย้ายเมล็ดถั่วดังกล่าว ไปปลูกในระบบ hydroponic ด้วยสารละลาย half Hoagland เป็นระยะเวลา 2 เดือน เปลี่ยนน้ำสารละลายทุกๆ 7 วัน ในกรณีที่เกิดโรค แมลงเข้าทำลายต้นถั่ว ทำการฉีดพ่นสารเคมีตามความจำเป็น ได้แก่ อะโซดิน เมื่อต้นถั่วลิสงอายุได้ 20, 40 และ 60 วันหลังปลูก สุ่มเก็บตัวอย่างต้นถั่วลิสงจากแต่ละถังปลูก (2 ต้น ต่อ 1 ถังปลูก) ล้างรากถั่วด้วยน้ำธรรมดา แล้วนำต้นถั่วโดยเฉพาะส่วนของรากถั่วไปแช่ในบีกเกอร์ที่มีสารละลาย 3 ชนิด ได้แก่ Deionized water, half Hoagland's solution และ full Hoagland's solution ทำการแช่รากถั่วในสารละลายทั้ง 3 ชนิด เป็นระยะเวลา 30, 60, 120 นาที และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังไดอะแกรมข้างล่าง



และเมื่อถั่วลิสงอายุได้ 40 และ 60 วันหลังปลูกทำการเก็บตัวอย่างเช่นเดียวกับที่ 20 วันหลังปลูก เมื่อครบกำหนดเวลาที่แช่รากถั่ว เก็บตัวอย่างสารแขวนลอยที่ได้จากการแช่รากถั่ว (root exudates) ไว้ในหลอดเก็บตัวอย่างขนาดเล็ก แล้วนำไปแช่เก็บที่อุณหภูมิ –20 $^{o}$C หลังจากนั้นนำสารแขวนลอย root exudates ทั้งหมดไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล กลูโคส ซูโครส และ ฟรุกโทส ด้วยเครื่องมือ HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ซึ่งมีสภาวะดังนี้ mobile phase: Acetronotile : $H_2O$ (70:30); inject volume: 20 µl; flow rate: 1 ml/min; sensitivity: 1.0:E-07 RIU/mV; HPLC column: packed column, 5 µm, length 250 mm

การทดลองที่ 2 ได้นำผลการทดลองจากการทดลองที่ 1 มาใช้ โดยเริ่มต้นจากฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดถั่วลิสง 4 สายพันพันธุ์ด้วย clorox 10% เป็นเวลานาน 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วอีก 2 ครั้ง เพาะเมล็ดถั่วลิสง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 419CC (อ่อนแอต่อสภาวะขาดน้ำและการเกิดสารอะฟลาท๊อกซิน), 511CC (ต้านทานต่อสภาวะขาดน้ำและการเกิดสารอะฟลาท๊อกซิน) และพันธุ์ Luhua 11 (ต้านทานต่อการเกิดสารอะฟลาท๊อกซิน) , ไทนาน 9 (พันธุ์นิยมปลูกในประเทศไทย)* ด้วยกระดาษเพาะ (Between paper) จนเกิดรากประมาณ 3-5 วัน ย้ายเมล็ดถั่วลิสงทั้ง 4 สายพันธุ์ลงในถังปลูกระบบ hydroponic จำนวน 4 ต้นต่อถัง (1 ซ้ำ) ของแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 4 ซ้ำการทดลอง ในถังปลูกบรรจุสารละลาย half Hoagland's solution อยู่ประมาณ 15 ลิตรต่อถัง และแต่ละถังปลูกติดตั้งสายยางให้อากาศจากปั๊ม ดังรูป ระบบ hydroponic ทั้งหมดอยู่ในสภาพโรงเรือนกระจก




ทุกๆ 7 วันเปลี่ยนสารละลาย half Hoagland พร้อมกับวัดค่า DOC ของน้ำ ด้วยเครื่องมือออกซิเจนอิเล็กโทรด เมื่อถั่วลิสงทั้ง 4 สายพันธุ์มีอายุได้ 30 วันหลังปลูก (ระยะออกดอก) แบ่งถั่วแต่ละสายพันธุ์ออกเป็น 2 ชุดการทดลอง ชุดแรก คือ ชุดควบคุมให้สารละลายตามปรกติ ส่วนชุดที่ 2 ชักนำให้เกิดสภาวะเครียด (ขาดน้ำในต้นพืช) โดยผสมสาร polyethylene-glycol 4000 (PEG) ลงในน้ำ

* ไม่สามารถปลูกทดสอบถั่วลิสงสายพันธุ์ 329CC และ พันธุ์ Georgia Green เหมือนกับการทดลองที่มหาวิทยาลับจอร์เจียได้ เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงทั้ง 2 สายพันธุ์มีความงอกที่ต่ำ และเมล็ดพันธุ์ขาดแคลน ไม่สามารถนำมาปลูกทดสอบได้อีก

สารละลายในถังปลูกถั่วลิสง โดยใส่ในปริมาณ 50 กรัมต่อ 1 ลิตรของสารละลาย เป็นเวลานานประมาณ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดสภาวะเครียดในต้นถั่วด้วยเครื่องมือ LCA4 (Advance portable photosynthesis and transpiration measurement system) และ pressure bomb (Model 3000 series plant water status console soil moisture equipment crop)

หลังจากทำการวัดสภาวะเครียดของน้ำในต้นพืช เก็บตัวอย่างต้นถั่วลิสงทุกถังปลูก (4 ต้นต่อถัง) ล้างส่วนของรากถั่วด้วยน้ำธรรมดา (พยายามอย่าให้รากถั่วขาดหรือเสียหาย) นำส่วนรากถั่วลิสงแช่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำ Deionized ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมงตามที่กำหนด เก็บตัวอย่างสารแขวนลอย (root exudates) จากแต่ละบีกเกอร์ใส่ขวดพลาสติก แช่เก็บที่อุณหภูมิ –20 $^{\circ}$C ส่วนต้นถั่วลิสงตัดแยกออกจากส่วนราก นำส่วนลำต้นและใบไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 $^{\circ}$C นาน 48 ชั่วโมง ส่วนรากถั่วนำมาย้อมสีด้วย methyl violet ใน 95% ethanol ( 2.5 กรัม methyl violet ใน 250 มิลลิลิตร 95% ethanol แล้วเจือจางใน 1 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 100 มิลลิลิตร)

นำสารแขวนลอย root exudates ที่ได้จากถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์ ไปเลี้ยงเชื้อรา GFP *A. flavus* ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร โดยนำทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 20 กรัม ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ หยดสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อรา GFP *A. flavus* ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมสารแขวนลอย root exudates ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำจานเลี้ยงเชื้อทั้งหมดไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 $^{\circ}$C) เป็นเวลานาน 5 วัน หลังจาก 5 วันทำการประเมินปริมาณการเจริญของเชื้อรา GFP *A. flavus* บนแต่ละจานเพาะเชื้อ โดยวิธี soil dilution technique (ปั่นผสมทราย 20 กรัม จากแต่ละจานเพาะเชื้อที่บ่มไว้ กับน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 200 มิลลิลิตร นาน 1 นาที แล้วทำการเจือจางสารผสมที่ปั่นจนถึงระดับความเข้มข้นที่ $10^{-4}$ และ $10^{-5}$ ตามลำดับ ดูดสารผสม 0.5 มิลลิลิตร (500 ไมโครลิตร) จากแต่ละความเข้มข้นหยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ M3S1B ซึ่งมีความเฉพาะเจาะจงต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* ประกอบด้วย 5.0 g peptone, 1.0 g $KH_2PO_4$, 0.5 g $MgSO_4.7H_2O$, 30.0 g NaCl, 20.0 g agar, 50.0 mg streptomycin sulfate, 50.0 g chlorotetracycline, 1.0 mg 2,6-dichloro-4-nitroaniline (added in 3 ml acetone), and 1 liter distilled water) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$C เป็นเวลา 5 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหาร ผลที่ได้บันทึกเป็นจำนวนโคโลนี (colonies forming unit) ต่อ กรัมดิน)

สารแขวนลอย root exudates อีกส่วนหนึ่งนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล กลูโคส ซูโครส และ ฟรุกโทส ที่ปลดปล่อยออกมาจากรากและหมุดของถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์ ด้วยเครื่องมือ HPLC ที่มีสภาวะดังนี้ mobile phase: Acetronotile:$H_2O$ (75:25); flow rate: 1.5 ml/min; inject volume: 25 µl; sensitivity: 1.0:E-07 RIU/mV; HPLC column: packed column, 5 µm, length 250 mm

ส่วนรากถั่วลิสงที่ย้อมสีไว้ นำมาหาความยาวรากทั้งหมด พื้นที่ผิวราก ปริมาตรราก และเส้นผ่าศูนย์กลางราก ด้วย WinRhizo program (V.4.0 B, REˊRENT INSTRUMENT INC. 4040 Blain St., Quc'bee (Quc'bee) G2B 5CB CANADA, Tel: (418) 840- 1347; Fax: (418) 840-1350.)

นอกจากนี้ ทำการปลูกถั่วลิสง 4 สายพันธุ์เหมือนกับพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองช่วงที่ 2 ในถังขนาดเล็กที่บรรจุทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 2 ต้นต่อถังปลูก จำนวน 4 ซ้ำการทดลอง และกำหนดให้มีชุดควบคุม(ทรายไม่มีการปลูกถั่วลิสง)ในการเปรียบเทียบ ให้น้ำทุกถังปลูกด้วยสารละลาย half Hoagland เมื่อถั่วอายุได้ 30 วันหลังปลูก (ระยะออกดอก) เก็บตัวอย่างทรายบริเวณรากถั่ว มาเลี้ยงเชื้อรา GFP *A. flavus* ในจานเลี้ยงเชื้อ โดยนำทราย 20 กรัม รวมกับสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา GFP *A. flavus* ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน แล้วประเมินจำนวนเชื้อรา *A. flavus* ด้วยวิธี soil dilution technique บันทึกผลที่ได้เป็นจำนวนโคโลนีเชื้อราต่อกรัมทราย

**ผลการทดลอง**

ผลการทดลองในปี 2544 ที่ได้ทำการทดลองที่มหาวิทยาลัยจอร์เจีย โดยใช้กล้อง mini-rhizotron สำรวจความหนาแน่นของประชากรเชื้อรา GFP *A. flavus* ด้วยแสง UV ที่เจริญอยู่ในบริเวณรากใต้ดิน แล้ววิเคราะห์การเรืองแสงสีเขียวของเชื้อรา ด้วย QuaCos program ผลปรากฏว่า บริเวณที่รากเจริญอยู่มีเชื้อราเจริญอยู่รอบๆ (ภาพ 2-3) ซึ่งถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC และ 511CC มีความหนาแน่นของเชื้อรามากกว่าสายพันธุ์ 329CC และ Georgia Green ตามลำดับ ถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC และ 511CC เป็นสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อสภาวะแห้งแล้ง และทนต่อสภาวะแห้งแล้ง ตามลำดับ แต่กลับพบว่า ในถั่ว 2 สายพันธุ์นี้มีการเจริญของเชื้อราที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตาราง 1) ส่วนในถั่วลิสงสายพันธุ์ 329CC พบว่ามีการเจริญของเชื้อราในกรรมวิธีที่ให้น้ำตามปกติมากกว่าในสภาวะขาดน้ำ ซึ่งให้ผลที่แตกต่างจากถั่วสายพันธุ์อื่น ที่มีการเจริญของเชื้อราในสภาวะแห้งแล้งมากกว่า นั่นอาจเป็นไปได้ว่าบริเวณรากของถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CCและ 511CC มีสารบางอย่างที่ส่งเสริมให้เชื้อราเจริญได้ดี อีกทั้งในสภาวะแห้งแล้งทำให้เชื้อราเจริญมากยิ่งขึ้น ยกเว้นถั่วลิสงสายพันธุ์ 329CC ซึ่งอาจไม่มีสารที่กระตุ้นการเจริญของเชื้อราเหมือนถั่วสายพันธุ์อื่น

ตาราง 1 ความหนาแน่นของประชากรเชื้อรา GFP *A. flavus* บริเวณราก ประเมินโดย QuaCos program

| สายพันธุ์ถั่วลิสง | ปริมาณเรืองแสงสีเขียวต่อภาพ | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|
| | สภาวะแห้งแล้ง | สภาวะน้ำปกติ | |
| 329CC | 9,284.35 | 10,078.20 | 9,681.28 bc |
| 419CC | 17,419.75 | 9,913.60 | 13,666.68 a |
| 511CC | 11,799.30 | 10,436.05 | 11,117.68 ab |
| Georgia Green | 10,624.07 | 4,768.93 | 7,696.50 c |
| ค่าเฉลี่ย | 12,392.39 a | 9,067.88 b | 10,730.14 |

อักษร a b c แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P=0.05

ตาราง 2 ความหนาแน่นของประชากรเชื้อรา GFP *A. flavus* บริเวณฝัก ประเมินโดย QuaCos program

| สายพันธุ์ถั่วลิสง | ปริมาณเรืองแสงสีเขียวต่อภาพ | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|
| | สภาวะแห้งแล้ง | สภาวะน้ำปกติ | |
| 329CC | 1,936.10 | 1,538.10 | 1,731.10 c |
| 419CC | 2,953.70 | 3,065.10 | 3,009.40 a |
| 511CC | 2,927.55 | 1,775.80 | 2,351.68 b |
| Georgia Green | 2,666.93 | 2,212.07 | 2,437.00 ab |
| ค่าเฉลี่ย | 2,617.01 a | 2,143.48 b | 2,380.24 |

อักษร a b c แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P=0.05

จากตาราง 2 ทำการสำรวจและวิเคราะห์ความหนาแน่นของเชื้อรา GFP *A. flavus* เช่นเดียวกับตาราง 1 ปรากฏว่า บริเวณที่ฝักเจริญมีเชื้อราเจริญอยู่รอบๆ ฝัก (ภาพ 4-5) ซึ่งถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC และพันธุ์ Georgia Green มีเชื้อเจริญมากกว่าสายพันธุ์อื่น และในสภาวะแห้งแล้งทำให้เชื้อรามีความหนาแน่นมากกว่าในสภาวะให้น้ำปกติ ยกเว้นถั่วสายพันธุ์ 419CC กลับมีเชื้อราเจริญบริเวณฝักน้อยกว่าในสภาวะปกติ แต่ก็แตกต่างกันน้อยมาก (ไม่ถึง4%) และเมื่อเปรียบเทียบกับตาราง 1 พบว่า บริเวณที่รากเจริญมีความหนาแน่นของเชื้อราในปริมาณที่มากกว่า บริเวณที่เกิดฝักอย่างเห็นได้ชัด

**จากตาราง 1 และ 2 ทำให้เกิดข้อสงสัยต่อไปอีกว่า ทำไมเชื้อราถึงมีการเจริญในบริเวณที่ราก และฝักเจริญ โดยเฉพาะบริเวณผิวราก ผิวฝักถั่ว และในถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์ก็มีความหนาแน่นของเชื้อราที่แตกต่างกัน จึงเกิดข้อสมมุติฐานขึ้นมาว่า บริเวณดังกล่าวอาจมีสารจำพวกคาร์บอนที่เป็นแหล่งอาหารในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ก็ได้จึงได้ทำการศึกษาต่อไปอีก**

ผลการทดลองในระหว่างปี 2545- 2546

การทดลองที่ 1

จากการวิเคราะห์สารแขวนลอย root exudates ที่ได้จากการแช่รากถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ด้วยเครื่องมือ HPLC ปรากฏว่า สารละลายที่ใช้แช่รากทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณน้ำตาล ที่ปลดปล่อยออกมาจากรากถั่วและฝักถั่วจริง (ดังตาราง 3) ซึ่งปริมาณน้ำตาล กลูโคส ฟรุกโทส และซูโครสที่ปลดปล่อยออกมามีปริมาณที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P= 0.05) เมื่อถั่วอายุตั้งแต่

20 วันหลังปลูก จนกระทั่งถึง 60 วันหลังปลูก และช่วงระยะเวลาที่ทำการแช่รากถั่วตัวอย่างในสารละลายชนิดต่างๆ ตั้งแต่ 30 นาที ถึง 24 ชั่วโมง ก็ได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่มีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด ในสารละลาย 3 ชนิดที่แตกต่างกัน ผลปรากฏว่า รากถั่วที่แช่ในน้ำ Deionized มีปริมาณน้ำตาล กลูโคส ฟรุกโทส และซูโครส ที่ปลดปล่อยออกมามากกว่าในสารละลาย full Hoagland และ half Hoagland ตามลำดับ (ดังตาราง 4)

ตาราง 3 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโทส ซูโครส ต่อต้นของถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ที่เก็บตัวอย่างเมื่ออายุต่างกัน 3 ระยะ และแช่ในสารละลายต่างกัน 3 ชนิด เป็นระยะเวลาต่างกัน 4 ระยะเวลา

| ชนิดน้ำตาล | วันหลังปลูก | | | ชนิดสารละลาย | | | ระยะเวลาแช่ราก | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (มิลลิกรัมต่อต้น) | 20 | 40 | 60 | Deionized water | half Hoagland | full Hoagland | 30 นาที | 60 นาที | 120 นาที | 24 ชั่วโมง |
| กลูโคส | 47.876 | 275.020 | 323.570 | 624.450 | 5.740 | 16.283 | 522.180 | 34.017 | 126.710 | 179.060 |
| ฟรุกโทส | 252.330 | 382.85 | 9252.8 | 9751.8 | 11.555 | 124.62 | 12504 | 74.265 | 269.75 | 336.21 |
| ซูโครส | 48.824 | 63.538 | 98.683 | 139.43 | 2.099 | 69.516 | 33.933 | 69.875 | 46.072 | 131.51 |

ตาราง 4 ผลทางสถิติของปริมาณน้ำตาล กลูโคส ฟรุกโทส และซูโครส ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างที่อายุต่างกัน 3 ระยะ แช่ในสารละลาย 3 ชนิด และระยะเวลาแช่ราก 4 ระยะเวลา

| กรรมวิธี | ปริมาณน้ำตาล (มิลลิกรัมต่อต้น) | | |
|---|---|---|---|
| | กลูโคส | ฟรุกโทส | ซูโครส |
| วันหลังจากปลูก | ns | ns | ns |
| ชนิดสารละลายที่ใช้แช่ | * | ns | ns |
| เวลาที่ใช้แช่รากถั่ว | ns | ns | ns |

ns ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ P= 0.05

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ P= 0.05

จากการทดลองนี้ ถึงแม้ว่าผลทางสถิติให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดที่ทำการวิเคราะห์เมื่อถั่วลิสงอายุได้ 60 วันหลังปลูก และแช่รากในน้ำ Deionized มีปริมาณน้ำตาลมากที่สุด อีกทั้งแช่รากที่ 24 ชั่วโมงก็มีปริมาณน้ำตาลมากเช่นกัน ดังนั้น จึงนำผลของการทดลองนี้ไปปรับใช้ในการทดลองช่วงที่ 2 โดยจะกำหนดวิธีการ คือ ทำการเก็บตัวอย่างต้นถั่วลิสงเมื่ออายุได้ 30 วันหลังปลูก** (flowering stage) ถือว่าเป็นช่วงที่ค่อนข้างวิกฤตสำหรับถั่วลิสง แล้วนำไปแช่ในน้ำ Deionized เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำสารแขวนลอย root exudates ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลต่อไป และจากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่ารากถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ที่ใช้ทดสอบนี้มีปริมาณน้ำตาลฟรุกโทส มากกว่าน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส ตามลำดับ

การทดลองที่ 2

เมื่อทำการปลูกทดสอบถั่วลิสง 4 สายพันธุ์ โดยใช้ผลการทดลองจากช่วงที่ 1 มาปรับใช้เพื่อหาปริมาณน้ำตาลที่ปลดปล่อยจากรากถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์ ผลที่ได้ดังนี้

ตาราง 5 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ปลดปล่อยจากรากถั่วลิสง 4 สายพันธุ์ ในสภาวะปกติและสภาวะเครียด

| สายพันธุ์ถั่ว / กรรมวิธี | ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (มิลลิกรัมต่อต้น) | | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| | 419CC | 511CC | Luhua 11 | ไทนาน 9 | |
| ไม่ใส่ PEG (ชุดควบคุม) | 15.667 | 8.394 | 6.244 | 85.250 | 28.888 |
| ใส่ PEG (สภาวะเครียด) | 3.486 | 48.350 | 34.360 | 20.251 | 26.611 |
| ค่าเฉลี่ย | 9.577 | 28.372 | 20.302 | 52.750 | 27.750 |

จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ถั่วลิสงทั้ง 4 สายพันธุ์ มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จากค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ตาราง 5) สามารถที่จะบ่งบอกได้ว่า ถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสมากกว่าถั่วสายพันธุ์ 511CC, Luhua 11 และ 419CC ตามลำดับ และเมื่อชักนำให้เกิดสภาวะเครียดด้วยสาร PEG เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ทำให้ถั่วลิสงสายพันธุ์ 511CC และ Luhua 11 มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ปลดปล่อยออกมาจากรากมากกว่าถั่วลิสงที่อยู่ในสภาวะปกติ แต่ถั่วสายพันธุ์ 419CC และไทนาน 9 กลับมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ปลดปล่อยออกมาในสภาวะเครียดน้อยกว่าสภาวะปกติ

** เหตุที่เก็บต้นถั่วที่อายุน้อยกว่า 60 วันหลังปลูก เนื่องจากต้องทำการวัดความยาวรากถั่วทั้งต้น ถ้าหากถั่วมีอายุมากเกินไปจะทำให้รากถั่วเจริญพันกันมากเกินไป และยากแก่การวัดด้วย WinRhizo program

ตาราง 6 ปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ปลดปล่อยจากรากถั่วลิสง 4 สายพันธุ์ ในสภาวะปกติและสภาวะเครียด

| สายพันธุ์ถั่ว / กรรมวิธี | ปริมาณน้ำตาลฟรุกโทส (มิลลิกรัมต่อต้น) | | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| | 419CC | 511CC | Luhua 11 | ไทนาน 9 | |
| ไม่ใส่ PEG (ชุดควบคุม) | 28.095 | 41.925 | 5.936 | 81.990 | 39.487 |
| ใส่ PEG (สภาวะเครียด) | 45.104 | 39.674 | 4.281 | 5.409 | 23.617 |
| ค่าเฉลี่ย | 36.600 | 40.799 | 5.109 | 43.700 | 31.552 |

ค่าเฉลี่ยน้ำตาลฟรุกโทสของถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งกรรมวิธีการชักนำให้เกิดสภาวะเครียดในต้นถั่วก็ไม่มีผลต่อการปลดปล่อยน้ำตาลจากราก ยกเว้นถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC ที่ปลดปล่อยน้ำตาลฟรุกโทสออกมามากเมื่อรากอยู่ในสภาวะเครียด และจากตาราง 6 พบว่าถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 มีการปลดปล่อยน้ำตาลฟรุกโทสออกมามากที่สุด และเมื่อเทียบกับตาราง 3 จะเห็นได้อีกว่า ถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ในช่วงการทดลองที่ 1 มีปริมาณน้ำตาลที่วิเคราะห์ได้ในปริมาณที่มากกว่า โดยเฉพาะน้ำตาลฟรุกโทส เหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากขณะที่เก็บตัวอย่างรากถั่วในช่วงการทดลองที่ 1 รากเกิดความเสียหาย ขาด และเกิดรอยแผล

ตาราง 7 ปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ปลดปล่อยจากรากถั่วลิสง 4 สายพันธุ์ ในสภาวะปกติและสภาวะเครียด

| สายพันธุ์ถั่ว / กรรมวิธี | ปริมาณน้ำตาลซูโครส (มิลลิกรัมต่อต้น) | | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| | 419CC | 511CC | Luhua 11 | ไทนาน 9 | |
| ไม่ใส่ PEG (ชุดควบคุม) | 12.653 | 0.000 | 27.154 | 26.262 | 16.517 |
| ใส่ PEG (สภาวะเครียด) | 73.375 | 42.906 | 36.592 | 43.128 | 48.750 |
| ค่าเฉลี่ย | 42.514 | 21.453 | 31.873 | 34.695 | 32.634 |

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ปริมาณน้ำตาลซูโครสจากถั่วลิสง 4 สายพันธุ์มีปริมาณที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ อีกทั้งในสภาวะปรกติและสภาวะเครียดก็มีปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน (ตาราง 7) และจากตารางก็เห็นได้ว่าถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC มีปริมาณน้ำตาลซูโครสมากกว่าถั่วสายพันธุ์อื่นๆ ในสภาวะเครียดที่ชักนำให้เกิดโดยสาร PEG 4000 ทำให้เกิดการปลดปล่อยน้ำตาลซูโครสจากรากของถั่วลิสงทั้ง 4 สายพันธุ์มากกว่าในสภาวะปกติ ซึ่งจะเห็นได้ชัด ในถั่วลิสงสายพันธุ์ 511CC ในสภาวะปกติไม่มีการปลดปล่อยน้ำตาลซูโครสออกมาเลย แต่เมื่อเกิดสภาวะเครียดกลับปลดปล่อยน้ำตาลกลูโคสออกมา นั่นแสดงให้เห็นว่าในสภาวะเครียดหรือพืชขาดน้ำของถั่วลิสงทำให้เกิดการปลดปล่อยหรือรั่วไหลของน้ำตาลซูโครสออกมามาก เนื่องมาจากเซลล์ของพืชเกิดความเสียหายในส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ จึงทำให้เกิดการรั่วไหลของน้ำตาลภายในเซลล์ออกมาภายนอกเซลล์

หลังจากที่นำสารแขวนลอย root exudates ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ แล้วนำสารเขวนลอยอีกส่วนหนึ่งไปเลี้ยงเชื้อรา GFP *A. flavus* ด้วยทรายในจานเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 5 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีของเชื้อราที่เจริญต่อทราย 1 กรัม พบว่า เชื้อรา *A. flavus* มีการเจริญในจำนวนที่ค่อนข้างมาก แต่ก็ยังมีจำนวนน้อยกว่าจำนวนสปอร์เชื้อราก่อนนำมาเลี้ยงด้วยสารแขวนลอย root exudates (เริ่มต้นที่ $6.05 \times 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) เหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากว่า สปอร์ที่นับเริ่มต้นมีทั้งสปอร์ที่ตายและมีชีวิตปนกัน ซึ่งสปอร์ที่มีชีวิตเท่านั้นที่สามารถเจริญได้ และเมื่อนำไปเลี้ยงด้วยน้ำตาลจากสารแขวนลอย ก็พบว่า ไม่ได้ทำให้จำนวนของเชื้อราเพิ่มขึ้น อาจเป็นเพราะสารแขวนลอยด์มีปริมาณน้ำตาลน้อยเกินไปหรือไม่เพียงพอที่เชื้อราจะใช้ในการเจริญ (ดังตาราง 8) และจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ ก็พบว่า สารแขวนลอย root exudates ของถั่วลิสงแต่ละพันธุ์ ทำให้เชื้อราเจริญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเชื้อมีการเจริญมากในสารแขวนลอยที่ได้จากถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC และพันธุ์ Luhua 11

ตาราง 8 การเจริญของเชื้อรา GFP *A. flavus* หลังจากที่เลี้ยงด้วยสารแขวนลอย root exudates ของถั่วลิสง 4 สายพันธุ์

| สายพันธุ์ถั่ว / กรรมวิธี | จำนวนเชื้อราที่เจริญ (โคโลนี$\times 10^4$ ต่อทราย 1 กรัม) | | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| | 419CC | 511CC | Luhua 11 | ไทนาน 9 | |
| ไม่ใส่ PEG (ชุดควบคุม) | 11.667 | 9.333 | 13.000 | 9.000 | 10.750 |
| ใส่ PEG (สภาวะเครียด) | 13.667 | 13.000 | 16.667 | 9.000 | 13.083 |
| ค่าเฉลี่ย | 12.667 ab | 11.167 bc | 14.833 a | 9.000 b | 11.917 |

อักษร a b c แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P=0.05

ด้วยเหตุนี้ จึงนำทรายที่ได้จากการปลูกถั่วลิสงตามสภาพธรรมชาติจริงๆ มาเลี้ยงเชื้อรา *A. flavus* ในจานเลี้ยงเชื้ออีกครั้ง พบว่า ทรายที่ปลูกถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC, Luhua 11, ไทนาน 9 และ 511CC มีเชื้อราเจริญในจำนวน $12.5x10^4$, $10.0x10^4$, $9.5x10^4$, $9.25x10^4$ โคโลนีต่อกรัมทราย ตามลำดับ เมื่อเทียบกับทรายที่ไม่มีถั่วลิสงปลูก (ชุดควบคุม) มีจำนวนเชื้อรา $5.75x10^4$ โคโลนีต่อกรัมทราย และจากการวิเคราะห์ทางสถิติ ทรายที่ปลูกถั่วลิสงทั้ง 4 สายพันธุ์มีปริมาณเชื้อเจริญได้ดีกว่าในทรายที่ไม่มีถั่วปลูก นั่นแสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *A. flavus* มีการเจริญได้ดีในทรายที่ปลูกถั่ว ซึ่งมีสารตั้งต้นสำหรับการเจริญ อาจได้แก่ น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโทส ซูโครส ที่ปลดปล่อยออกมาจากรากถั่วลิสง ตลอดจนสารอินทรีย์จำพวกเซลล์ผิวรากที่ตาย หลุดอยู่ในดิน

ความยาวรากถั่วลิสงทั้งหมดต่อต้น

นำรากที่ย้อมสีไว้มาวัดความยาวราก พื้นที่ผิวราก ปริมาตรราก และเส้นผ่าศูนย์กลางราก ด้วย WinRhizo program ปรากฏว่า ผลวิเคราะห์ทางสถิติพื้นที่ผิวราก ปริมาตรราก และเส้นผ่าศูนย์กลางรากของถั่วลิสงทั้ง 4 สายพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่สำหรับความยาวรากถั่วต่อต้นของถั่วลิสงทั้ง 4 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ ถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 มีความยาวรากมากกว่าถั่วลิสงสายพันธุ์ 511CC และ Luhua 11 ตามลำดับ ดังตาราง 9

ตาราง 9 ความยาวรากถั่วลิสง 4 สายพันธุ์ ที่ทำการวัดด้วย WinRhizo program

| สายพันธุ์ถั่ว / กรรมวิธี | ความยาวรากถั่วลิสง (เซนติเมตรต่อต้น) | | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| | 419CC | 511CC | Luhua 11 | ไทนาน 9 | |
| ไม่ใส่ PEG (ชุดควบคุม) | 6,507.2 | 5,270.7 | 5,532.7 | 7,306.6 | 6,154.3 |
| ใส่ PEG (สภาวะเครียด) | 6,573.2 | 5,291.6 | 4,100.6 | 7,606.9 | 5,893.1 |
| ค่าเฉลี่ย | 6,540.2 ab | 5,281.1 bc | 4,816.7 c | 7,456.8 a | 6,023.7 |

อักษร a b c แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P=0.05

**สรุปและวิจารณ์**

จากการทดลองทั้งหมดสามารถบ่งบอกได้ชัดเจนยิ่งขึ้นว่า บริเวณที่รากและฝักของถั่วลิสงเจริญอยู่ใต้ดิน (rhizosphere and geocarposphere) มีเชื้อรา *Aspergillus flavus* เจริญอยู่จริง ซึ่งสำรวจด้วยกล้อง mini-rhizotron และ QuaCos program โดยได้ประเมินจำนวนประชากรของเชื้อรา *A flavus* จากการเรืองแสงสีเขียวสว่างของเชื้อรา พบว่า ถั่วลิสงสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อสภาวะแห้งแล้งมีจำนวนเชื้อราเจริญมากกว่าถั่วลิสงสายพันธุ์ที่ทนต่อสภาวะแห้งแล้ง (Ingram *et al.*, 1999) และเมื่อทดสอบหาสารที่ปลดปล่อยออกมาจากรากถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์ในสภาพที่รากไม่เกิดความเสียหาย ก็พบว่ารากถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์มีการปลดปล่อยสารจำพวกน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโทส และซูโครสออกมาจริง (ตาราง 3)

จากตารางแสดงปริมาณน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด และความยาวรากถั่วลิสงต่อต้น (ตาราง 9) พบว่า ถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 และสายพันธุ์ 419CC ซึ่งมีความยาวรากต่อต้นมากที่สุด มีน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโทส และซูโครสปลดปล่อยออกมามากกว่าถั่วลิสงสายพันธุ์ 511CC และพันธุ์ Luhua 11 นั่นแสดงให้เห็นว่า ถั่วลิสงสายพันธุ์ที่มีความยาวของรากมาก มีการปลดปล่อย/รั่วไหลของน้ำตาลออกจากเซลล์มาก โดยเฉพาะเมื่ออยู่ในสภาวะเครียด (พืชขาดน้ำ) ยังส่งผลให้รากพืชปลดปล่อยน้ำตาลซูโครสออกมามาก (ตาราง 7) แต่สภาวะเครียดบางครั้งก็ไม่มีผลต่อการปลดปล่อยน้ำตาลฟรุกโทสของถั่วลิสง (ตาราง 6) ยกเว้นถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC ที่มีปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสปลดปล่อยออกมามาก ถึง 45.104 มิลลิกรัมต่อต้น แสดงให้เห็นชัดเจนว่า ถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC มีการปลดปล่อยน้ำตาลฟรุกโทสออกมาง่าย แม้ว่าจะอยู่ในสภาวะเครียดหรือไม่ก็ตาม แต่ก็ยังมีปริมาณน้ำตาลที่ปลดปล่อยออกมาน้อยกว่าถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 และนอกจากนี้สภาวะขาดน้ำยังส่งผลทำให้เกิดการปลดปล่อยน้ำตาลซูโครสออกมาในถั่วลิสงทุกสายพันธุ์ โดยเฉพาะถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC ซึ่งเป็นถั่วพันธุ์ที่อ่อนแอต่อสภาวะขาดน้ำ มีการปลดปล่อยน้ำตาลซูโครสออกมามากกว่าสายพันธุ์ 511CC ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำ เกือบ 50%

Hale and Griffin, (1975) ได้ทดสอบหาปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ปลดปล่อยออกจากฝักอ่อนถั่วลิสงที่ทำให้เกิดรอยแผลบริเวณผิวฝัก และไม่เกิดแผล พบว่าปริมาณน้ำตาลที่ปลดปล่อยจากถั่วทั้ง 2 พันธุ์จะแตกต่างกัน โดยฝักถั่วที่เกิดแผลจะมีปริมาณน้ำตาลซูโครสและฟรุกโทสปลดปล่อยมาก ซึ่งการที่ฝักถั่วเกิดแผลหรือเกิดความเสียหายเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมการเข้าทำลายจากเชื้อรา *A. flavus* (Ashworth *et al.*, 1965; McDonald and Harkness, 1964; Schroeder and Ashworth, 1965) ทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนของถั่วลิสงจากเชื้อรา *A. flavus* เมื่อนำสารแขวนลอย root exudates มาเลี้ยงเชื้อรา GFP *A. flavus* พบว่า ถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC และพันธุ์ Luhua 11 มีเชื้อรา *A. flavus* เจริญได้ดี เหตุที่เชื้อรา *A. flavus* เจริญได้ดีกว่าถั่วสายพันธุ์อื่น อาจเนื่องมาจากได้รับแหล่งอาหารน้ำตาลซูโครส และฟรุกโทสที่ปลดปล่อยจากรากถั่วในปริมาณที่มากกว่าอีก 2 สายพันธุ์

ได้มีการรายงานเกี่ยวกับความเสียหายที่เกิดขึ้นบริเวณรากถั่วลิสงและทำให้มีสารปลดปล่อยออกมาจากราก โดยเฉพาะรากแขนงและรากฝอยจะเป็นรากชุดที่มีการปลดปล่อยสารออกมาในปริมาณมากที่สุด (Schroth and Snyder, 1961; McDougall, 1968; McDougall and Rovira, 1970) ในบริเวณที่รากเจริญจะเป็นแหล่งหลักของการปลดปล่อยสารจำพวกคาร์บอน โดยเฉพาะส่วนของเซลล์ผิวรากที่ตาย/หลุด ซึ่งเป็นตัวส่งเสริมการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* เมื่อนำทรายที่ปลูกถั่วลิสงมาเลี้ยงเชื้อรา *A. flavus* จะพบว่า ในทรายที่ปลูกถั่วจะมีสารที่ปลดปล่อยจำพวกน้ำตาลและเซลล์ผิวรากที่ตาย/หลุดอยู่ในทราย ซึ่งจะเป็นแหล่งอาหารที่ส่งเสริมให้เชื้อรา *A. flavus* เจริญได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับทรายที่ไม่มีการปลูกถั่ว

การทดลองนี้สรุปได้ว่า ถั่วลิสงสายพันธุ์ 511CC ซึ่งเป็นถั่วสายพันธุ์ที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำและด้านทานต่อสารอะฟลาท็อกซินจะมีการปลดปล่อยน้ำตาลซูโครสออกมาในปริมาณที่น้อย แต่ถั่วลิสงสายพันธุ์ 419CC ซึ่งอ่อนแอต่อสภาวะแห้งแล้งและไม่ด้านทานต่อสารอะฟลาท็อกซิน จะมีน้ำตาลซูโครสปลดปล่อยออกมาในปริมาณที่มาก แสดงว่า แหล่งอาหารน้ำตาลที่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* คือ น้ำตาลซูโครส ในถั่วลิสงพันธุ์ Luhua 11 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ทนต่อสารอะฟลาท็อกซินก็มีการปลดปล่อยน้ำตาลซูโครสมากเช่นกัน ถึงแม้ว่าจะอยู่ในสภาวะปกติก็ตาม สำหรับถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทยแต่ยังไม่ได้ระบุชัดเจนว่าด้านทานต่อสารอะฟลาท็อกซินหรือไม่ จากการทดลองนี้สามารถบ่งบอกได้ว่าถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ปลดปล่อยน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโทส และซูโครสในปริมาณที่มาก ซึ่งจะเป็นปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้เป็นอย่างดี

## เอกสารอ้างอิง


Ashworth L. J., Schroeder H. W. and Langley B. C. (1965) Aflatoxins: environmental factors governing occurrence in Spanish peanuts. *Science* 148, 1228- 1229.

Hale, M. G., Griffin G. J. The effect of mechanical injury on exudation from immature and mature peanut fruits under axenic condition. *Soil Boil. Biochem.* 8, 225- 227.

Ingram, K. T., G. F. Patena, and C. C. Holbrook. 1999. Drought and temperature effect on aflatoxin resistance peanut. Paper presented to 1999 Multicrop Aflatoxin elimination workshop. 20- 22 October, 1999, Atlanta, GA, USA.

McDougall B. M. (1968) The exudation of $^{14}$C-labelled substances from roots of wheat seedlings. *Trans. Ninth Inter. Cong. Soil Sci.*, Adelaide, pp. 647- 685.

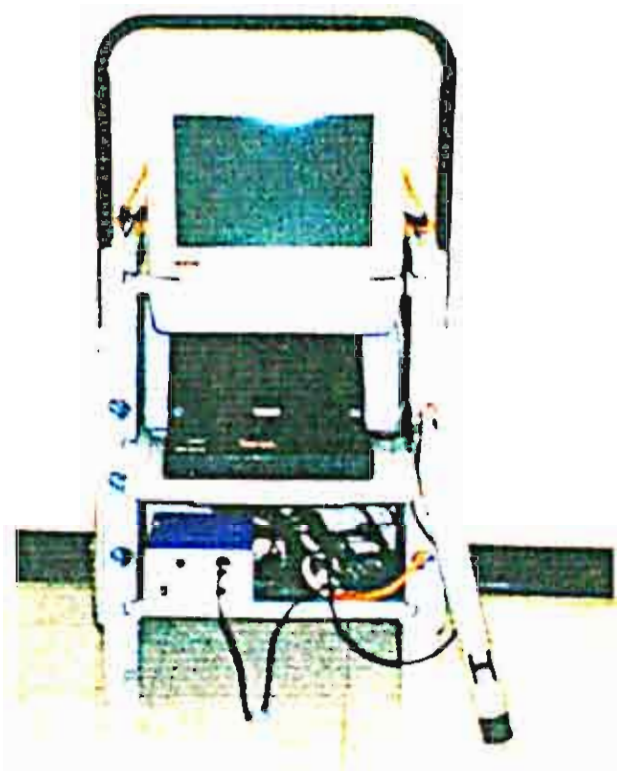
McDougall B. M. and Rovira A. D. (1970) Sites of exudation of $^{14}$C-labelled compounds from wheat roots. *New Phytol.* 69. 999- 1003.

McDonald D. and Harkness C. (1964) Growth of *A. flavus* and production of aflatoxin in ground nuts. Part IV. *Trop. Sci.* 6, 12- 27.

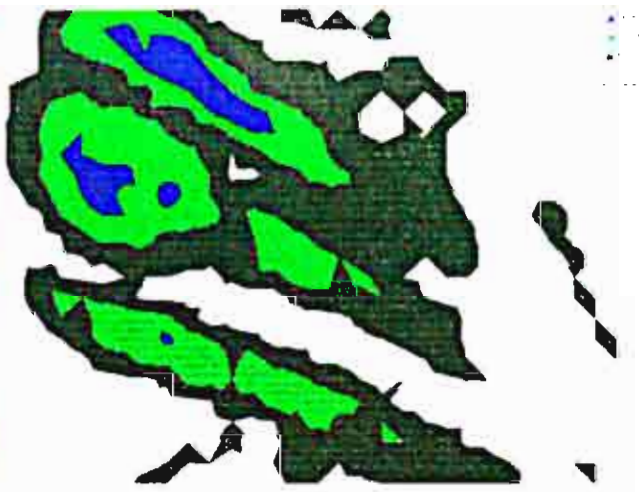
Schroeder H. W. and Ashworth L. J., Jr (1965) Aflatoxin in Spanish peanuts in relation to pod and kernel condition. *Phytopathology* 55, 464- 465.

Schroth M. N. and Snyder W. C. (1961) Effect of host exudates on chamydospore germination of the bean root rot fungus, *Fusarium solani f. phaseoli. Phytopathology* 51, 389- 393.

ภาคผนวก

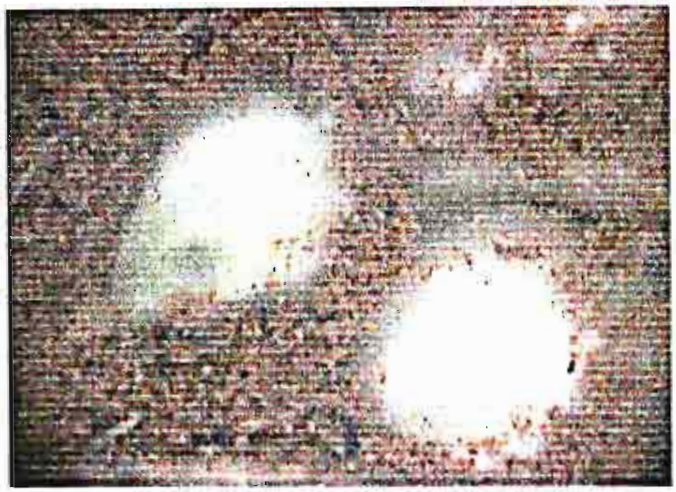



ภาพ 1 ระบบกล้อง mini-rhizotron ที่ใช้สำหรับการศึกษาราก

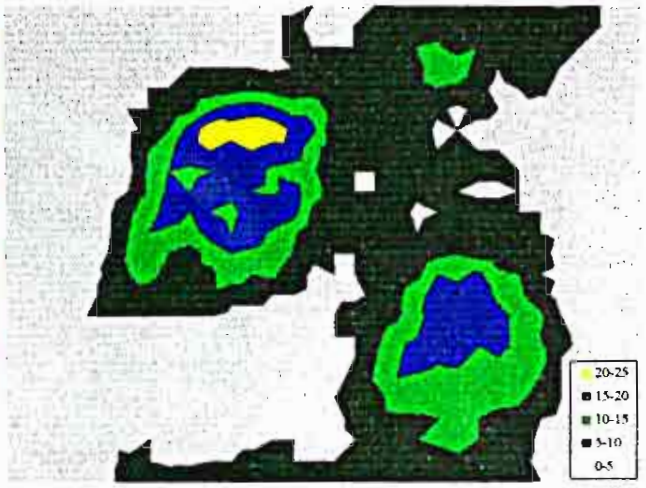


ภาพ 2 ภาพ 3

ภาพ 2-3 รากและหมุดถั่วลิสงที่สำรวจด้วยกล้อง mini-rhizotron โดยใช้แสงขาวและแสง UV แล้ววิเคราะห์ด้วย QuaCos program



ภาพ 4




ภาพ 5

ภาพ 4-5 ผักถั่วลิสงที่สำรวจด้วยกล้อง mini-rhizotron โดยใช้แสงขาว และแสง UV แล้ววิเคราะห์ด้วย QuaCos program

ภาพ 5 ถั่วลิสงปลูกในระบบ hydroponic ภายใต้โรงเรือนกระจก

ภาพ 6 ถั่วลิสงเกิดใบซ้ำเหี่ยว เมื่อชักนำให้เกิดสภาวะเครียดด้วยสาร poly- ethyleneglycol

ภาพ 7 การใช้ flatbed scanner และ WinRhizo software ในการวิเคราะห์ความยาวของราก ถั่วลิสง

mycopathologia

Founded in 1938

**SPECIAL ISSUE**

# Aflatoxin/Fumonisin Elimination and Fungal Genomics Workshops; Phoenix Arizona, October 23-26 2001

**GUEST EDITORS:**

Jane Robens & Ronald T. Riley

*For table of contents see p. I - XIV*

Kluwer Academic Publishers

# mycopathologia

**Editor-in-chief**
Arthur F. DiSalvo, P.O. Box 18220, Reno, NV 89511, USA; Phone: (775) 852 9047; Fax: (775) 852 9046; E-mail: afdisalvo@juno.com

**Emeritus Editor-in-chief**
John Willard Rippon, Aldergate Cottage, RR 1, Box 375, Sawyer, MI 49125, USA; E-mail: JWilRippon@aol.com

**Coordinating editors**
*Human and animal mycology:* Robert A. Fromtling, Regulatory Liaison International, Merck Research Laboratories, P.O. Box 2000 (RY33-208), Rahway, NJ 07065-0900, USA; Phone: (732) 594 4809; Fax: (732) 594 5235; E-mail: robert_fromtling@merck.com
*Plant mycology:* P.D. Bridge, School of Biological and Chemical Sciences, Birkbeck College, University of London, Malet St., London WC1E 7HX, UK; E-mail: p. bridge@hotmail.com
*Mycotoxicoses and mycotoxins:* G.A. Bean, Department of Cell Biology & Molecular Sciences, University of Maryland, College Park, MD 20742, USA; E-mail: gb9@umail.umd.edu; Phone: (301) 405 1592
*Molecular mycology:* Joseph Heitman, Department of Genetics, Duke University Medical Center, Durham, NC 27710, USA; Phone: (919) 684 2824; Fax: (919) 684 5458; E-mail: heitm001@mc.duke.edu
*Environmental mycology:* James Scott, Sporometrics, Inc., 253 College St. Suite 400, Toronto ON M5T1R5, Canada. E-mail: jscott@sporometrics.com; Fax: (416) 588 7654
*Book reviews:* Paul L. Fidel, Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, Louisiana State University Medical Center, 1901 Perdido St., New Orleans, LA 70112, USA; Phone: (504) 568 4066; Fax: (504) 568 4066; E-mail: pfidel@lsumc.edu
*Entomopathogenic Fungi:* L.H. Tiffany, Dept. of Botany, Iowa State University, Ames, IA 50011, USA; E-mail: jnystrom@iastate.edu

**Editorial board**
*Human and animal mycology*
L. Ajello, Emory University Eye Center, Ophthalmic Research (Room 3704 S), 1327 Clifton Road NE, Atlanta, GA 30322, USA; E-mail: Lajello@juno.com
E. Brummer, Dept. of Medicine, Santa Clara Valley Med. Center, 751 South Bascom Ave., San Jose, CA 95128, USA; E-mail: E.Brummer@juno.com
Y. Fukazawa, Dept. of Microbiology, Yamanashi Medical College, Tamaho-cho, Yamanashi 409-38, Japan; E-mail: yfuka@swallow.res.yamanashi-med.ac.jp
Norman L. Goodman, Department of Microbiology and Immunology, University of Kentucky, College of Medicine, Lexington, KY 40536, USA; E-mail: nlgood01@pop.uky.edu, Fax: 859-257-8994
M. Pfaller, Special Microbiology Laboratory, 273 MRC, University of Iowa College of Medicine, Iowa City, IA 52242, USA; E-mail: Michael-Pfaller@uiowa.edu
Luciano Polonelli, Istituto di Microbiologia, Università degli Studi di Parma, Viale Antonio Gramsci 14, I-43100 Parma, Italy; E-mail: lucpol@unipr.it
A. Restrepo M., Corporacion para Investigaciones Biologicas (CIB), Medellin, Colombia; E-mail: angelares@epm.net.co
Gioconda San-Blas, Venezuelan Institute for Scientific Research (IVIC), Center for Microbiology and Cell Biology, Caracas, Venezuela; E-mail gsanblas@pasteur.ivic.ve
J.M. Torres, Institut Municipal d'Investigacio Medica, Passeig Maritim 25-29, Barcelona 08003, Spain; E-mail: jmtorres@imim.es

*Plant mycology and crop protection*
Richard Baird, Entomology and Plant Pathology Department, Box 9655, Mississippi State University, MS 539762, USA. E-mail: rbaird@pss.msstate.edu
Hester Vismere, MRC, Promec, PO Box 19070, Tygerberg 7505, South Africa. E-mail: hester.vismer@mrc.ac.za; Fax: +27-21-9380260
Alan J. Philips, SABT, Faculdade de Ciencias, Universidade Nova de Lisboa, Quinta da Torre, 2829-516 Caparica, Portugal; E-mail: alp@mail.fct.unl.pt

*Mycotoxicoses and mycotoxins*
D. Bhatnagar, South Regional Research Center, P.O. Box 19687, New Orleans, LA 70179, USA; E-mail: dbhatnag@nola.srrc.usda.gov
M.F. Dutton, Dept. of Biochemistry, University of Natal, P.O. Box 375, 3200 Pietermaritzburg, Rep. of South Africa; E-mail: dutton@med.und.ac.za
W.M. Hagler, Jr, Mycotoxin Lab., Dept. of Poultry Science, North Carolina State University, Box 7608, Raleigh, NC 27540, USA; E-mail: winston_hagler@ncsu.edu
M.A. Klich, US Dept. of Agriculture, Southern Research Center, 1100 Robert E. Lee Blvd., New Orleans, LA70124, USA; E-mail: pmklich@nola.srrc.usda.gov
J.L. Richard, Romer Labs, Inc., 1301 Stylemaster Drive, Union, Missouri 63084, USA; E-mail: jrichard@romerlabs.com
Ronald T. Riley, Toxicology and Mycotoxins Research Unit, Russell Research Center, USDA-ARS, Athens, GA 30604-5677, USA; E-mail: rriley@ars.usda.gov

*Environmental mycology*
Sidney A. Crow, Dept. of Biology, Georgia State University, Atlanta, GA 30302-4010, USA; E-mail: biosac@panther.gsu.edu
James Scott, Sporometrics, Inc., 253 College St. Suite 400, Toronto ON M5T 1RS, Canada; Phone: (416) 409 3831; Fax: (416) 588 7654

© 2002 Kluwer Academic Publishers.

# mycopathologia

Volume 155 / 2002

Kluwer Academic Publishers
Dordrecht / Boston / London

**Identification of Putative Genes Relating to Drought Stress in Maize by Differential Display of mRNA** – Y.G. Cao[1], B.Z. Guo[2], R.D. Lee[1] and R.E. Lynch[2]. [1]University of Georgia, Coastal Plain Experiment Station, Tifton, GA; [2]USDA-ARS, Crop Protection and Management Research Unit, Tifton, GA 90

**Cloning and Sequencing of a Full-Length cDNA Encoding for Phospholipase D in Peanut** – B.Z. Guo[1], G. Xu[2], C.C. Holbrook[3] and R.E. Lynch[1]. [1]USDA-ARS, Crop Protection and Management Research Unit, Tifton; [2]University of Georgia, Coastal Plain Experiment Station, Tifton, GA; [3]USDA-ARS, Crop Genetics and Breeding Research Unit, Tifton, GA 91

**Identification of the Drought-Inducible Genes in Peanut by mRNA Differential Display** – G. Xu[1], B.Z. Guo[2] and R.E. Lynch[2]. [1]University of Georgia Coastal Plain Experiment Station, Tifton, GA; [2]USDA-ARS, Crop Protection and Management Research Unit, Tifton, GA 92

**Pre-Screening Inoculated Corn Ears for Aflatoxin Resistance Using Bright Greenish-Yellow Fluorescence** – S.H. Moore. Louisiana State University Agricultural Center, Alexandria, LA 93

**Plant Traits that Confer *Aspergillus* and Drought Resistance in Peanut Varieties** – J. Puntase[1], K. Ingram[2], C. Senthong[1], C. C. Holbrook[3]. [1]Chiang Mai University, Agronomy Department; [2]University of Georgia, Crop and Soil Sciences, Griffin, GA; [3]USDA-ARS, Tifton, GA 94

**Molecular Marker Assisted Selection for Resistance to Aflatoxin Production in Maize** – C. Paul, D. White and T. Rocheford. Department of Crop Sciences, University of Illinois, Urbana, IL 95

**SESSION 5:**
**Crop Resistance – Genetic Engineering**

**PLATFORM PRESENTATIONS** – ***Moderator: Phil Wakelyn, National Cotton Council***

**Development of Transgenic Peanut with Enhanced Resistance Against Preharvest Aflatoxin Contamination** – Arthur Weissinger[1], Minsheng Wu[1], Yan-Sheng Liu[1], Keith Ingram[2], K Rajasekaran[3] and T.E. Cleveland[3]. [1]North Carolina State University, Raleigh, NC; [2]University of Georgia, Griffin, GA; [3]USDA-ARS Southern Regional Research Laboratory, New Orleans, LA 97

**Transgenic Peanut for Preharvest Aflatoxin Reduction** – Peggy Ozias-Akins[1], Hongyu Yang[1], Evelyn Perry[1], Yoko Akasaka[1], Chen Niu[1], Corley Holbrook[2] and Robert Lynch[2]. [1]Department of Horticulture, University of Georgia, Tifton, GA; [2]USDA-ARS, Coastal Plain Experiment Station, Tifton, GA 98

**Antimicrobial Peptide Technology to Prevent Fungal and Bacterial Diseases of Crops** – Paul Zorner. Demegen Inc., Pittsburgh, PA 99

**Construction of Expression Cassettes to Confer Resistance to *Aspergillus flavus* in Cotton** – Caryl A. Chlan[1], Jeffrey Cary[2], Kanniah Rajasekaran[2] and Thomas E. Cleveland[2]. [1]University of Louisiana at Lafayette, LA; [2]USDA-ARS, SRRC, New Orleans, LA 100

# Plant Traits Confer *Aspergillus* and Drought Resistance in Peanut Varieties

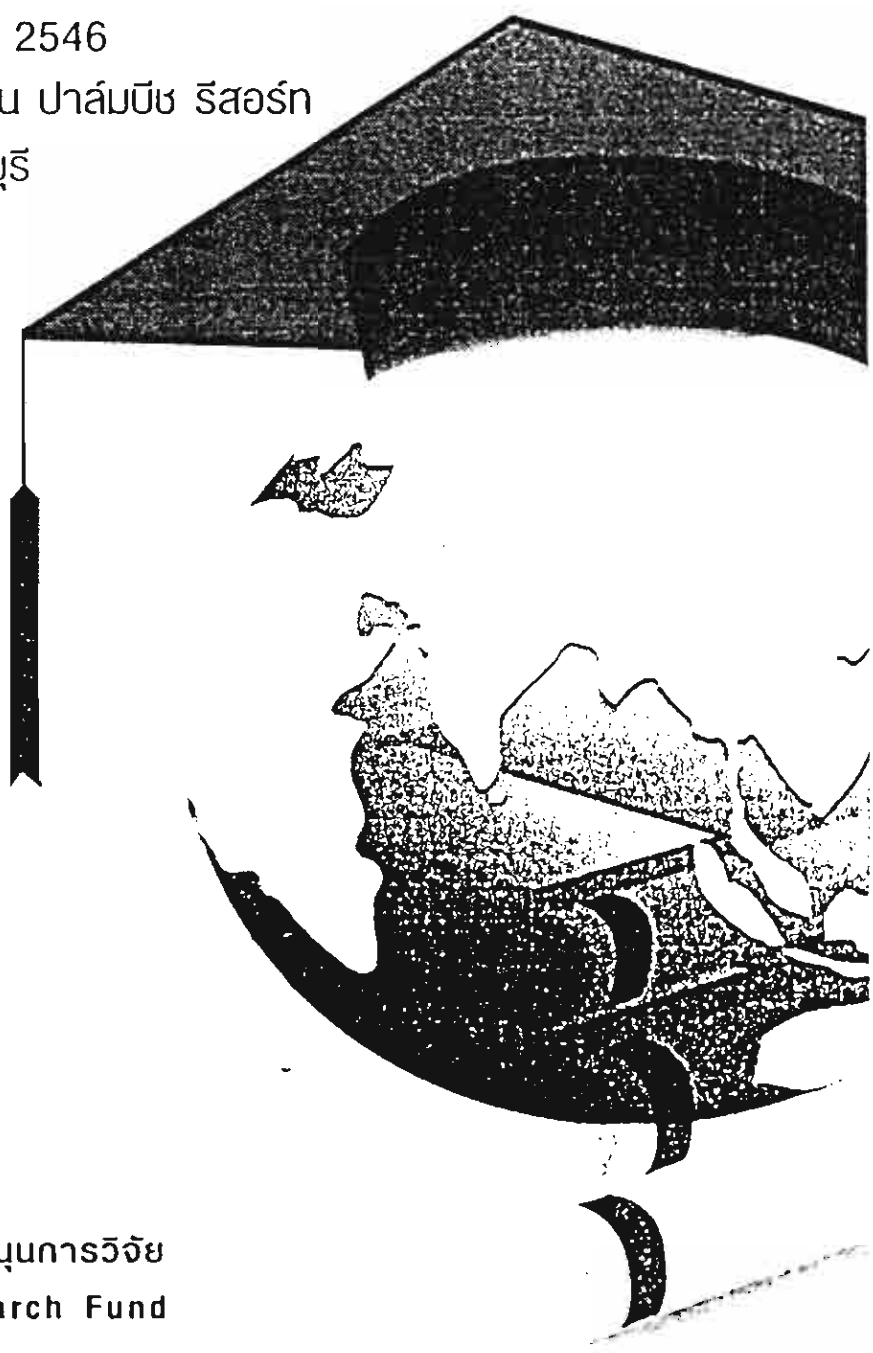
Janjira Puntase[1], Keith Ingram[2], Chuckree Senthong[1] and Corley Holbrook[3]
[1] *Chiangmai University, Agronomy Department, Thailand;* [2] *University of Georgia, Crop and Soil Sciences, Griffin, Ga:* [3] *USDA-ARS, Tifton, GA*

Peanuts (*Arachis hypogaea* L.) are susceptible to aflatoxin contamination when pods develop under drought conditions in the field. The objective of this research was to observe root and pod growth of peanut genotypes in response to water stress and *Aspergillus flavus* infection. Four peanut genotypes were grown in 200-L containers with sandy soil. Half of the containers had moisture blocks and thermocouples installed at 5, 25, and 75 cm depth. Soil moisture and temperature were monitored with a CR10X data logger. All containers were inoculated with GFP *A. flavus* cultured on cracked corn medium. Irrigation treatments were well watered (saturated twice a week) and water deficit (saturated twice during one week followed by two week without irrigation). After harvest, pods of each genotype were surface sterilized then cultured on petri dishes with M3S1B medium. Based on mainstem elongation and soil moisture extraction, genoype 329CC appeared to have the greatest drought tolerance, yet stress caused the greatest yield loss for this genotype. Based on pod weight, genotype 511CC was the most drought resistant and also had the lowest *A. flavus* infection in shells. Contrary to expectations, the infection was greater in well-watered than in water-stressed plants, except for Georgia Green, which also had the highest levels of seed infection. High infection of pod (exterior) and shell (interior) were not related to seed infection. Genetic difference in susceptibility to drought stress in peanut was related to difference in *A. flavus* infection.

# RGJ - Ph.D. Congress IV

# การประชุมวิชาการ
# โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก ครั้งที่ 4

25-27 เมษายน 2546
โรงแรมจอมเทียน ปาล์มบีช รีสอร์ท
เมืองพัทยา ชลบุรี



สกว
TRF
สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
The Thailand Research Fund

ISBN 974-9545-35-4

13:30 - 13:50 S2.07 Characterization of Resistance to Azuki Bean Weevil (*Callosobruchus chinensis*) in Rice Bean (*Vigna umbellata*)

## S4: เกษตรศาสตร์ (Agricultural Science)

**25 April 2003** **Venue: Oriental Palm I**

*Chairperson: Prof. Dr. Aran Patanothai*

13:50 - 14:00 Invited Lecture S4.L1 **Prof. Dr. John M. Labavitch**, "Pierce's Disease of Grapevines: Life or Death Decisions in the Xylem"

14:00 - 14:20 S4.01 Changes in Cell Wall Composition and Enzymes Activities in Husk Dehiscence and Pulp Softening of 'Monthong' Durian — Ms. Lampan Khumpoon

14:20 - 14:40 S4.02 Changes of Cell Wall Hydrolases in Relation to Finger Drop in 'Hom Thong' and 'Nam Wa' Bananas — Ms. Wachirava Imsabai

14:40 - 15:00 S4.03 Improved Efficacy of *Trichoderma harzianum* for Controlling Cucumber Damping Off by Using Mutant Strains — Mr. Warin Intana

15:00 - 15:20 Coffee Break

*Chairperson: Prof. Dr. Benjavan Rerkasem*

Invited Lectures

15:20 - 15:50 S4.L2 **Assoc. Prof. Dr. Tosapon Pornprom**, "Gibberellin's Tolerance in Hybrid Corn Varieties based on Decreasing Ammonia Accumulation"

15:50 - 16:20 S4.L3 **Dr. Unaroj Boonprakob**, "Genetic and Environmental Variance Components in Guava Fruit Qualities"

16:20 - 16:40 S4.04 Maximizing *Aspergillus flavus* Infection of Peanut — Ms. Janjira Puntase

16:40 - 17:00 S4.05 Effects of AM Fungal Species, Cultivar and Breeding at High Soil Fertility on Mycorrhizal Response of Maize — Mr. Roongroj Pitakdarthum

17:00 - 17:20 S4.06 Botanical Exploration in Doi Phu Kha National Park, Nan Province, Thailand — Mr. Prachaya Srisanga

## S5: สังคมศาสตร์ และมนุษยศาสตร์ (Social Science and Humanities)

**26 April 2003** **(Venue: Oriental Palm I)**

**Language and Philosophy**

*Chairpersons: Assoc. Prof. Dr. Chai Podhisita/Assoc. Prof. Dr. Soraj Hongladarom*

08:30 - 09:00 Invited Lecture S5.L1 **Prof. Dr. Teara Archwamety**, "Modus Tollens: Interaction between the Humanities and the Sciences"

09:00 - 09:20 S5.01 The Socio-Cultural Reflections from the Address Terms in Thai Country and City Song — Mr. Kriengkrai Waranaswad

09:20 - 09:40 S5.02 Variation of Vietnamese in the Southeast of Thailand — Mr. Chaiermchai Chaichompoo

09:40 - 10:00 S5.03 Literary Techniques in *Milindapanha* — Mr. Pisit Kobbun

10:20 - 10:40 Coffee Break

**Demography**

*Chairpersons: Prof. Dr. Samsonge Burusphat/Assoc. Prof. Dr. Suwalai Pramsarat*

10:40 - 11:00 S5.04 Effects of Family Background on Leaving of the Transition to Adulthood Experience of Hot-rod Hong Kong Youth — Ms. Jintana Jaturanpinyo

11:00 - 11:20 S5.05 Age Preference in Hong Kong: A Case Study — Bangkok Residents — Ms. Prasitamon Saowakon

## S4-O4

# Maximizing *Aspergillus flavus* Infection of Peanut

Janjira Puntase[a], Chuckree Senthong[a], Keith Ingram[b], Arthur Weissinger[c] and David Wilson[d]

[a] *Department of Agronomy, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand*
[b] *Department of Crop and Soil Sciences, University of Georgia, Griffin, GA, U.S.A.*
[c] *Department of Crop Science, North Carolina State University, Raleigh, NC, U.S.A.*
[d] *Department of Plant Pathology, University of Georgia, Tifton, GA, U.S.A.*

### Objective

To develop a method to maximize *A. flavus* infection of peanut pegs and using GFP *A. flavus*.

### Methods

329CC peanut genotype was grown in 20-L containers with four pod cuvettes attached to each container. Plants were placed in growth chambers with relatively high temperatures and moderate to severe levels of water deficit. The inoculation methods, using GFP *A. flavus* strains for the different cuvettes of each container were: (1) spores mixed with soil of cuvettes; (2) cracked corn inoculum applied to the surface of soil in cuvettes; (3) cracked corn inoculum mixed with soil of cuvettes; and (4) no inoculum. At 14 to 28 days after first flowering, half of the inoculated containers were sprayed with spores suspended in water on plant shoots. About 7 days after spraying, the flowers and pegs were observed with a UV (ultraviolet) illuminated microscope and plated on the M3S1B medium.

### Results

Maximum infection with GFP *A. flavus* was found by spraying the spore suspension to the flowers of peanut which have cracked corn inoculum applied to the surface of soil in cuvettes. Infection of ovules differed among flower samples. All flower surfaces were found to be infected at moderate to high frequency. The highest infection of pegs was found by spraying spore to the plant shoot, and there were significant differences between spraying and no spraying methods. By observing under UV microscope, it was found that there were fluorescing GFP *A. flavus* on the surface of the peanut flowers and fluorescence dots on the ovule of peanut pegs.

### Conclusion

The experiment suggested that peanut infection by GFP *A. flavus* can occur during flowering or during aerial peg formation. Fluorescing GFP *A. flavus* was found on the surface of flowers and some fluorescence dots on the ovule of peanut pegs. Spraying the spore suspension to peanut flower which have cracked corn inoculum applied to the soil surface was found to be the best method maximizing for *A. flavus* infection.

**Keywords:** GFP *Aspergillus flavus*, infection, peanut, peg, flower

### Selected References

1. Holbrook, C.C., M.E. Matheron, D.M. Wilson, W.E. Anderson, M.E. Will, and A.J. Norden. 1994. Development of a large-scale field system for screening peanut for resistance to preharvest aflatoxin contamination. *Peanut Sci.* 21, 20- 2.
2. Will, M.E., C.C. Holbrook, and D.M. Wilson. 1994. Evaluation of field inoculation techniques for screening peanut genotypes for reaction to preharvest *A. flavus* group infection and afltoxin contamination. *Peanut Sci.* 21, 122- 5.
3. Griffin, G.J., and K.H. Garren. 1976. Colonization of aerial peanut pegs by *Aspergillus flavus* and *A. niger* group fungi under field conditions. *Phytopathology.* 66, 1161-2.

## TRF Meso Groups in Crop Science

May 10, 2003

(2) Ecophysiology continued
Chair – ดร. วารี ชัยเทพ

1050-1120 2.7 The efficacy of artificial substrates on oviposition of two bruchid species (Coleoptera: Bruchidae) ชนิตา อัมระนันท์ KU

1120-1150 2.8 Comparative responses to boron in wheat and barley จำเนียร วงษ์ไม้ CMU

1150-1210 2.9 Do boron deficiency and toxicity responses correlate in wheat genotypes? สุพรรณิการ์ พันชนะ CMU

1210-1310 Lunch + Posters
Chair – ดร. พงษ์มณี ทองใบ

1310-1340 2.10 Response of upland and lowland rice cultivars to waterlogged and well-drained soil conditions เนตรนภา อินสลุด CMU

1340-1410 2.11 Boron responses in cowpea genotypes ทินกร ศรีวิชัย CMU

1410-1440 2.12 Boron deficiency in maize สิทธิชัย ลอดแก้ว CMU

1440-1510 Break + Posters

1510-1540 2.13 Some determinants of rice quality มานพ ลีสวัสดิ์วงศ์ CMU

1540-1620 2.14 A survey of tropical species for boron retranslocation สาวิกา กอบแสง CMU

1620-1650 Discussion: Future of crop science in Thailand
– ecophysiology
Chair - ศ.ดร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม
Discussants –วารี บรรยง เบญจวรรณ
Reporters – สุพรรณิการ์ อยุฮย์ มานพ

## KKU – KU – CMU

(3) Agroecology (Agronomy 2)
Chair – ผอ. เทวา เมาลานนท์

830-900 3.3 Plant traits that confer *aspergillus* and drought resistance in peanut varieties จันทร์จิรา พื้นดีะศรี CMU

900-920 3.4 การตอบสนองทางสรีรวิทยาของถั่วลิสงพันธุ์ต่าง ๆเมื่อกระทบกับสภาวะแห้งแล้งในระยะเวลาต่างกัน รัชนก มีแก้ว KKU

920-940 3.5 การวิเคราะห์แบบแผนโปรตีน และ allozymes ในใบถั่วลิสงภายใต้สภาวะขาดน้ำ ชุดิพงศ์ อรรคแสง KKU

940-1000 3.6 พันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะการทนแล้งของถั่วลิสง พัชริน ส่งศรี KKU

1000-1030 Break + Posters
Chair – ดร. สนั่น จอกลอย

1030-1050 3.7 Sudden death of longan in northern Thailand caused by *Phytophthora* พิกพ ล้ำยอง CMU

1050-1120 3.8 Ectomycorrhiza Fungi in Northern Thailand: Amanitas and some interesting hypogeous fungi รารุณี แสนหมี CMU

1120-1150 3.9 Biodiversity in rotational shifting cultivation system of Tee Cha village นริศ ยิ้มแย้ม CMU

1150-1220 3.10Farmers' management of rice germplasm กนก กุกษ์เกษม CMU

1220-1315 Lunch + Posters
Chair – รศ.ดร. มิ่งสรรพ์ ขาวสะอาด

1315-1345 3.11Economic impact of wild rice invasion อัครพงศ์ อั้นทอง อริยา เผ่าเครือง มิ่งสรรพ์ ขาวสะอาด CMU

1345-1415 3.12Integrated management of invasive wild rice จรรยา มณีโชติ DOA

## Agronomy PhD Programme CMU

1415-1445 3.13 An ethnographic study of rice germplasm management อโณทัย ศิรบรรจงกราน CMU

1445-1515 3.13 Farmers' management of highland rice for food security and rice *in situ* conservation วราพงษ์ บุญมา CMU

1515-1545 Break + Posters
Chair – ผศ.ดร. อรรถชัย จินตะเวช

1545-1615 3.14 การกำหนดฤดูปลูกที่เหมาะสมสำหรับการทดลองค่าสัมประสิทธิ์พันธุกรรมของสายพันธุ์ถั่วลิสงสำหรับใช้กับแบบจำลองการเจริญเติบโตของพืช สุกัญญา สุจริยา KKU

1615-1630 3.15 Generation mean analysis of specific leaf area in peanut พลัง สุริหาร KKU

1630-1650 3.16 การใช้แบบจำลองการเจริญเติบโตของถั่วลิสงในการคัดเลือกสถานที่ทดสอบพันธุ์ นิตยา ผกามาศ KKU

1650-1730 Discussion: Future of crop science in Thailand
- agroecology
Chair – ศ.ดร. อารันต์ พัฒโนทัย
Discussants – อารันต์ กนก เทวา อรรถชัย จรรยา
Reporters – นริศ ชนากานต์ พนมวัน

1730 Dinner - Faculty of Agriculture, CMU
Hosted by CMUPN*lab*

May 11, 2003 Future Direction for Crop Science In Thailand ห้องประชุมอาคารรวมวิจัย
Reports from sessions

900-920 • Genetic resource, genetics, plant breeding
920-940 • Ecophysiology
940-1000 • Agroecology
1000-1030 Break
1030-1130 General discussion

# กลไกทางสรีระเชิงนิเวศน์และพันธุกรรม ที่ควบคุมการใช้ธาตุอาหารในพืช

# Ecophysiological Processes and Genetic Controls Relating to Plant Nutrition

ANNUAL REVIEW 3
9-11 May 2003

Chiang Mai University

## WORKING PAPERS

Supported by
Thailand Research Fund

CMUPN*lab* Working Papers V

CMUPN*lab*

Page

Arbuscular mycorrhizal fungi in Macaranga denticulata and upland rice 75
*Somjit Youpensuk, Saisamorn Lumyong, Benjavan Rerkasem and Bernie Dell*

Sudden Death of Longan in Northern Thailand Caused by Phytophthora 81
*Pipob Lumyong and Saisamorn Lumyong*

Plant Traits that Confer Aspergillus and Drought Resistance in Peanut Varieties 85
*Janjira Puntase, Keith Ingram, Chuckree Senthong and Corley Holbrook*

A survey of tropical species for boron retranslocation 94
*Sawika Konsaeng and Benjavan Rerkasem*

Response of upland and lowland rice cultivars to different water soil conditions. 103
*Nednapa Insalud, Richard W. Bell and Benjavan Rerkasem*

Molecular diversity analysis in wild rice by RAPD 121
*Tonapha Pusadee, Sugunya Pitakrattananukul, Sansanee Jamjod and Benjavan Rerkasem*

Genetic diversity in on-farm population of rice 130
*Sunisa Niruntrayakul Sansanee Jamjod and Benjavan Rerkasem*

Endophytic bacteria in rice 146
*Panita Boonsit and Benjavan Rerkasem*

Boron Responses of F2-derived F3 Populations of Barley 155
*P. Boonchuay, S. Jamjod and B. Rerkasem*

**Plant Traits that Confer Aspergillus and Drought Resistance in Peanut Varieties**

Janjira Puntase[1], Keith Ingram[2], Chuckree Senthong[1] and Corley Holbrook[3]

[1] *Department of Agonomy, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University.*

[2] *Crops and Soil Science Department, University of Georgia, Griffin campus, USA.*

[3] *USDA, ARS, Tifton, GA, USA.*

**Abstracts**

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is susceptible to aflatoxin contamination when pods develop under drought conditions in the field. The objective of this research were to observe root and pod growth of peanut genotypes in response to water stress and *A. flavus* infection. Four peanut genotypes were grown in 200-L containers with sandy soil. Half of the containers had moisture blocks and thermocouples installed at 5, 25, and 75 cm depth. Soil moisture and temperature were monitored with a CR10X data logger. All containers were inoculated with GFP *A. flavus* cultured on cracked corn medium. Irrigation treatment were well watered (saturated twice a week) and water deficit (saturated twice during one week followed by two week without irrigation). After harvest, pods of each genotype were surface sterilized then cultured on petri dishes with M3S1B medium. Based on mainstem elongation and soil moisture extraction, genotype 329CC appeared to have the greatest drought tolerance, yet stress caused the greatest yield loss for this genotype. Based on pod weight, genotype 511CC was the most drought resistant and also had the lowest *A. flavus* infection in shells. Contrary expections, the infection was greater in well-watered than in stressed plants, except for Georgia Green, which also had the highest levels of seed infection. High infection of pod (exterior) and shell (interior) were not related to seed infection. Genetic difference in susceptibility to drought stress in peanut was related to difference in *A. flavus* infection.

**Key Words**: Peanut, water stress, GFP *Aspergillus flavus*, infection

**Inroduction**

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is susceptible to aflatoxin contamination when pods develop under drought condition in the field. Aflatoxin contamination occurs when peanuts are colonized by aflatoxigenic strains of fungi of the *Aspergillus flavus* group, a common occurrence in most countries where the crop is grown. Genetic difference in aflatoxin resistance have been found among peanut cultivars and field methods have been develop to screen peanut germplasm for aflatoxin resistance (Anderson et al., 1995). It's difficult to screen germplasm directly for aflatoxin resistance because *A. flavus* infection is highly variable. Duration of soil moisture stress influences the degree of *A. flavus* invasion and aflatoxin contamination in peanut (Azaizch et al., 1989; Mehan et al., 1988; Sander et al., 1985). And drought also is s major factor limiting the yield of this crop.

Plant breeders' approach of selecting genotypes for increased yield and stability in a drought- prone environment is limited by the variable nature of drought. Because yield is the most important traits of a genotype, it is also necessary to examine the relationship between potential and sensitivity of genotype in various patterns of drought. Screening of peanuts for resistance to the aflatoxin producing Aspergillus will require the use of drought stress conditions to gain a complete understanding of the genotypes potential defenses against invasion. One possible alternative is to use drought tolerance or drought escaping genotype. Ingeneral, moderate to high temperature (25°C – 30°C) favor Aspergillus growth, invasion of peanuts, and aflatoxin contamination (Jackson, 1965). And *A. flavus* infection of pegs, pods, tap and fibrous roots, and seeds differed among genotypes (Kisyombe et al., 1985).

Ingram et al.,(1999) showed that a mini- rhizotron can be use both to observe growth and development of peanut pod and infection of pods and roots with *A. flavus* that produces a green fluorescing protein. This research combines these resent technological advance and applies them to observing the contribution of root growth and function to drought resistance, the relationship between drought resistant and aflatoxin resistance.

The objectives of this study were to observe crop growth of peanut genotypes in response to water stress and *A. flavus* infection, to observe root growth of peanut genotype in response to water stress, and estimate the amount of *A. flavus* population on peanut genotypes in response to water stress.

**Materials and Methods**

Four peanut genotypes, which have core collection numbers 511CC (drought and aflatoxin resistant), 419CC (drought and aflatoxin susceptible), 329CC (aflatoxin resistant) and Georgia green (commercial variety) were grown in the 200 liter containers with sandy soil under green house condition at Georgia Envirotron, the University of Georgia. The experiment was comprised of 4 replications (containers with 4 plants per container) of four genotypes and two water regimes.

The containers were fitted mini- rhizotron observation tubes installed horizotally at 5, 25, 50 and 75 cm below the soil surface. Half of the containers had moisture blocks and thermocouples installed at 5, 25 and 75 cm depth. Each of these environmental parameters was recorded with a CR10X data logger and stored as hourly averages throughout the experiments.

We added spores of GFP *A. flavus* to autoclaved cracked corn (20% moisture) then incubated the mix at 30 °C for 7- 10 days. The GFP *A. flavus* was the transgenic fungi that contained gene for green fluorescent protein (GFP). This gene allows detection of genetically modified fungus. All containers were inoculated with cracked corn inoculum approximately 40 days after planting.

Irrigation treatments were irrigated to field capacity twice a week (well watered) and alternately irrigated twice during one week followed by two weeks without irrigation (water deficit). All containers were irrigated with half Hoagland's solution until harvesting time at 120 –130 days after planting.

Shoot growth were measured main stem length for each plant that observed at 14-days interval after started water treatment.

Mature pods were removed by hand from 120 –130 days old plants immediately after digging, placed in paper bags. After harvest, peanut pods from each container were processed to determine the extent of GFP *A. flavus* invasion. Pods of each genotype were soaked for 1 min in sterile water. Fifteen pods of each replication were sterile surface by dipping in 10% Clorox for 1 min and then rinsed twice in sterile water. After shelling by hand, 15 seeds and 15 half shells were plated on M3S1B medium *A. flavus- A. niger* group selective medium. The medium was modified from the 2,6- dichloro-4- nitroaniline – amended mediums (10 mg/l) develop by Bell and Crawford. M3S1B medium has

following composition: 5.0 g peptone, 10.0 g glucose, 1.0 g $KH_2PO_4$, 0.5 g $MgSO_4.7H_2O$, 30.0 g NaCl, 20.0 g agar, 50.0 mg streptomycin sulfate, 50.0 g chlorotetracycline, 1.0 mg 2,6-dichloro-4-nitroaniline (added in 3 ml acetone), and 1 liter distilled water. Antibiotics were added to cooled medium after autoclaving. Plates were incubated at 27 °C for 5 days. Results were recorded as the percent of infected seed and shell.

**Results and Discussion**

Under green house condition, water deficit was caused to yield loss of all genotypes, there have significant differences between well watered and water stress. Seeds of genotype 511CC was highest fresh pod weight (Table 1) so it mean this genotype was the most drought resistant and also had the lowest *A. flavus* infection in the shell.

The effects of soil moisture regimes on the recovery of *A. flavus* from shells and seeds of all genotypes are summarized on Table 3. Recovery of *A. flavus* from peanut pods harvested in the containers was relatively high, possibly because condition was optimum for Aspergillus activity. From the Table 3 showed that high infection of pod (exterior) and shell (interior) were not related to seed infection. Contrary to our expection, the shells and seeds from 511CC, 419 CC and 329CC genotypes subjected to prolonged well waters were the most highly infection of *A. flavus*, except for Georgia Green, which also had highest levels of seed infection under water stress.

The moisture and temperature of the geocarposphere has also been reported to influence Aspergillus activity within the soil. In these experiments, geocarposphere conditions (temperature and moisture) for each of the genotypes differed (Fig. 2). Based on main stem elongation and moist extract, genotype 329CC appeared to have the greatest drought tolerance (Fig. 3), yet stress caused the greatest yield loss for this genotype.

These observations indicated that drought stress condition and the associated the higher temperature (25 °C- 35 °C) favored Aspergillus colonized of shells and seeds and it had limited yield loss. And genetic difference in susceptibility to drought stress in peanut was related to difference in *A. flavus* infection.

**Acknowledgments**

The authors wish to thank the Royal Golden Jubilee Ph.D Program and the University of Georgia, Griffin campus, GA, USA.

**References**

Anderson, W.F., C.C. Holbrook, D.M. Wilson, and M.E. Matheron. 1985. Evaluation of preharvest aflatoxin contamination is serveral potentially resistant peanut genotypes. Peanut Sci. 22: 29-32.

Azaizch, H.A., R.E. Petti, O.D. Smith, and R.A. Taber. 1989. Reaction of peanut Genotypes under drought stress to A. flavus and A. paraciticus. Peanut Sci. 16: 109- 113.

Jackson, C.R. 1965. Peanut kernel infection and growth in vitro by four fungi at various temperatures. Photopatholpgy 55: 46-48.

Ingram, K.T., G.F. Patena, and C.C. Holbrook. 1999. Drought and temperature effects on Aflatoxin resistance peanut. Paper presented to 1999 Multicrop Aflatoxin elimination workshop, 20- 22 October 1999. Atlanta, GA, USA.

Kisyombe, C.T., M.K. Beute, and G.A. Payne. 1985. Field evaluation of peanut genotypes for resistance to infection by A. paraciticus. Peanut Sci. 12: 12-17.

Mehan, V.K., D.Mc. Donald and N. Ramakrishna. 1988. Effect of adding inoculum of A. flavus to pod zone soil on seed infection and aflatoxin contamination of peanut genotypes. Oleagineux 43: 21- 28.

Sanders, T.H., R.J. Cole, P.D. Blankenship, and R.A. Hill. 1985. Relationship of Environmental stress duration to A. flavus invasion and aflatoxin production in peanut. Peanut Sci. 12: 90- 93.

Table 1 Fresh pod weight of mature peanut pods grown under drought- stressed and well-watered conditions in Georgia Envirotron, GA, 2001

| Genotype | Irrigation treatments | Pod weight |
|---|---|---|
| | | g plant $^{-1}$ |
| 329CC | Stress | 22.6 |
| | Well- watered | 40.3 |
| 419CC | Stress | 32.1 |
| | Well- watered | 55.4 |
| 511CC | Stress | 42.9 |
| | Well- watered | 67.8 |
| Georgia Green | Stress | 39.4 |
| | Well- watered | 61.6 |

Table 2 Peanut infection by *A. flavus* grown under drought- stressed and well- watered Conditions in Georgia Envirotron, GA, 2001

| Genotype | Irrigation treatments | Seed | Shell | Pod |
|---|---|---|---|---|
| | | ----------% | | |
| 329CC | Stress | 2.9 | 100 | 93 |
| | Well- watered | 23.2 | 98 | 96 |
| 419CC | Stress | 8.1 | 96 | 100 |
| | Well- watered | 6.6 | 100 | 100 |
| 511CC | Stress | 14.1 | 71 | 78 |
| | Well- watered | 16.2 | 74 | 71 |
| Georgia Green | Stress | 45.6 | 97 | 100 |
| | Well- watered | 25.7 | 100 | 100 |

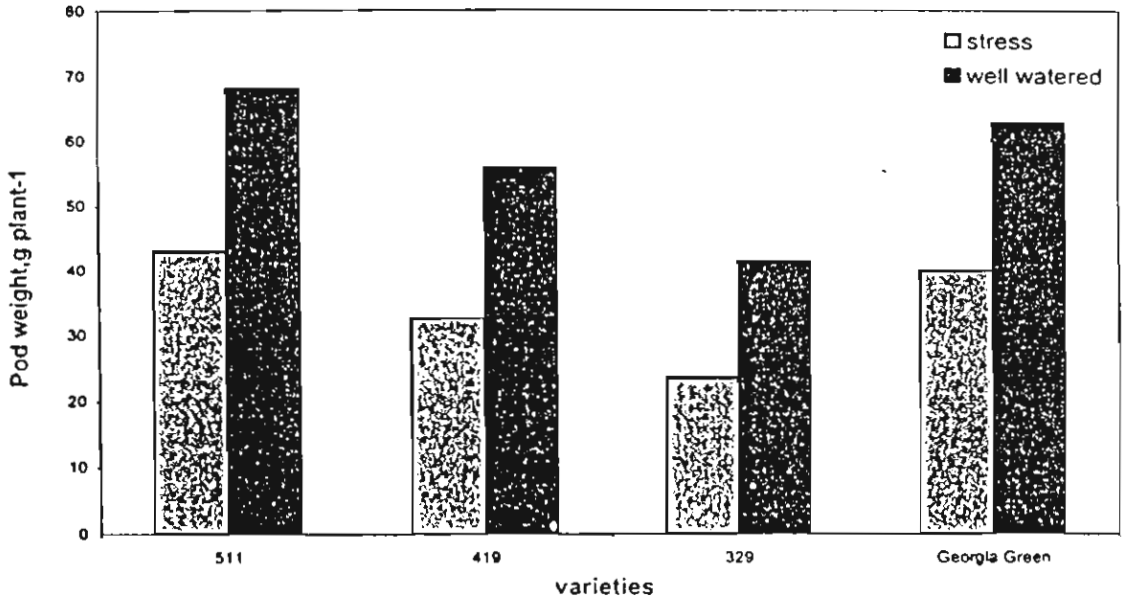



Fig. 1 Fresh mature pod weight for four peanut genotypes under different irrigation treatments

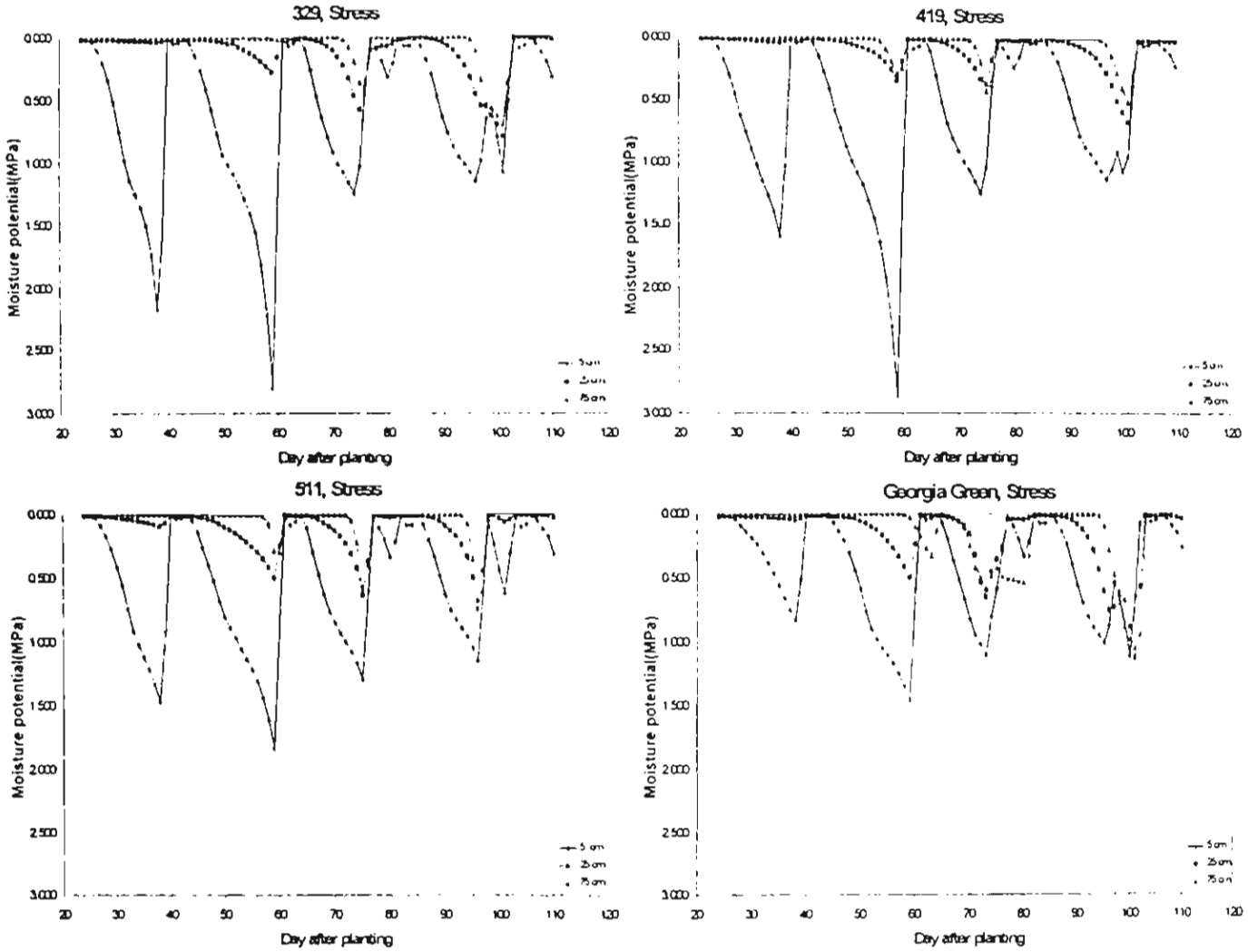



Fig.2 Soil moisture potential under water deficit treatments for four peanut genotypes

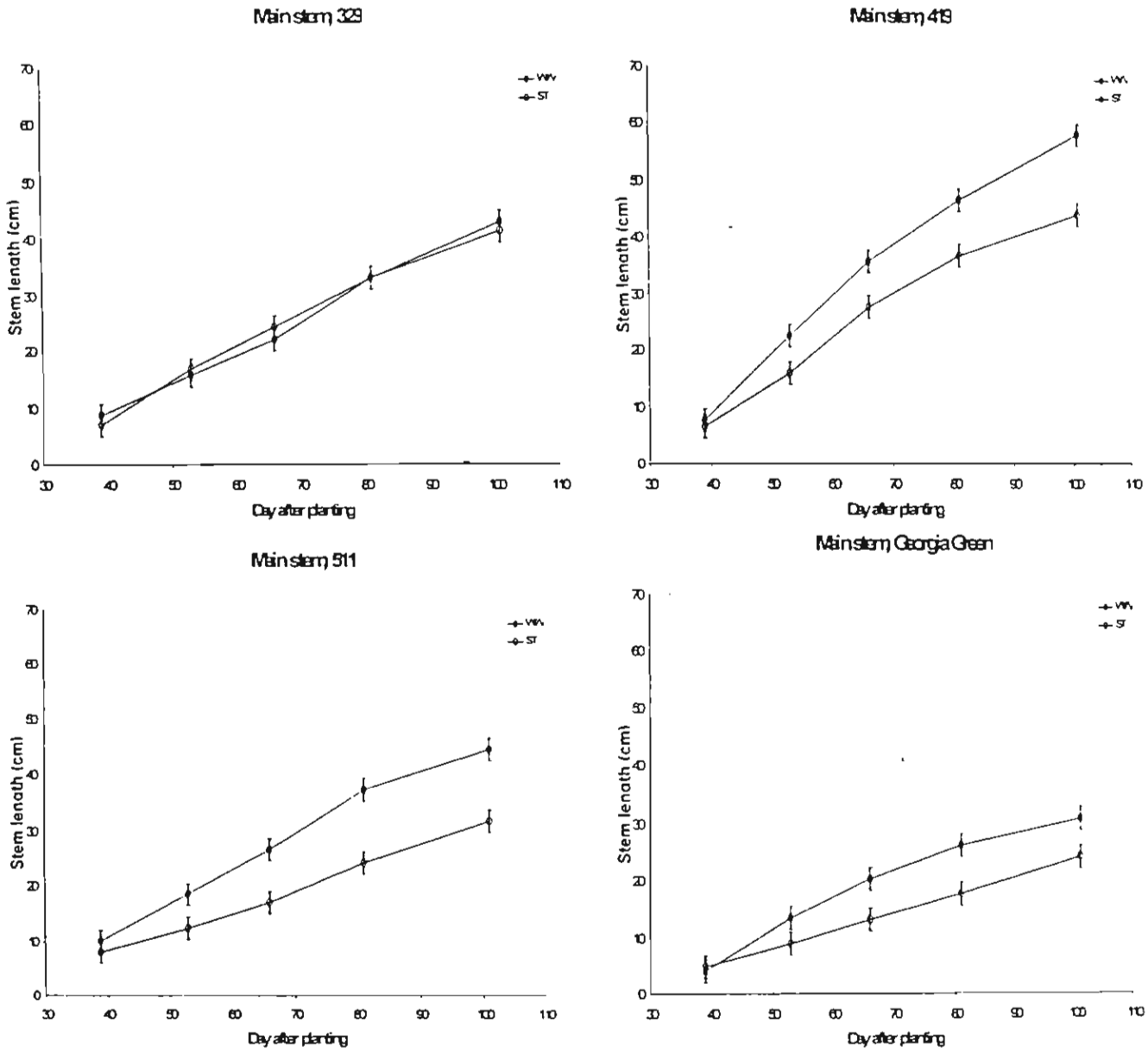


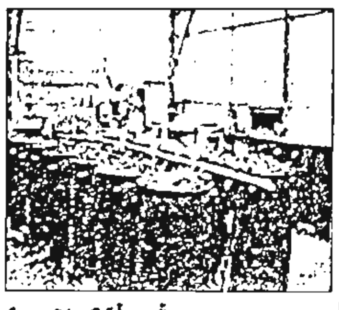

Fig.3 Main stem length for four peanut genotypes under well- watered treatment (•) and water deficit treatment (○)

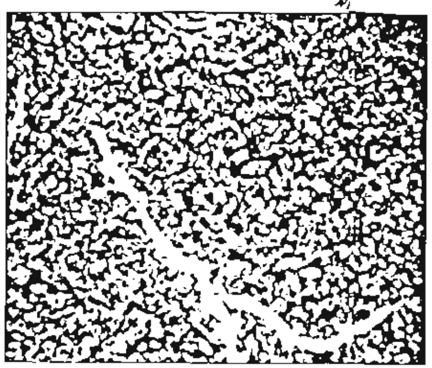
# ถั่วปลอด'อะฟลาท็อกซิน'

ถั่วลิสงเป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของไทย โดยผลผลิตแต่ละปีมีมูลค่าประมาณ 1,600 ล้านบาท ถือเป็นรายได้สำคัญของเกษตรกร แต่เนื่องจากถั่วลิสงเป็นพืชที่อ่อนแอง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา A. flavus ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการปนเปื้อนสารพิษ อะฟลาท็อกซิน โดยเฉพาะส่วนของฝักถั่วที่อยู่ใต้ดิน แต่อีกไม่นานเราจะมีถั่วลิสงสายพันธุ์ใหม่ที่ปลอดจากเชื้ออะฟลาท็อกซิน ที่จะเป็นประโยชน์ทั้งกับเกษตรกรและผู้บริโภคโดยตรง

ศ.ดร.จักรี เส้นทอง คณะพืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เจ้าของงานวิจัยเรื่อง "กลไกสร้างความต้านทานของสายพันธุ์ถั่วลิสงต่อการทำลายของเชื้อรา A. flavus และการเกิดสาร อะฟลาท็อกซิน" ซึ่งได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ให้ข้อมูลว่าทีมวิจัยใกล้จะสร้างสายพันธุ์ถั่วลิสงที่มีความต้านทานต่อเชื้อราที่ก่อให้เกิดสารอะฟลาทอกซินได้แล้ว โดยคาดว่าไม่น่าเกินเดือนมิถุนายนนี้เป็นอย่างช้า และหลังจากนั้นจะนำไปให้นักผสมพันธุ์พืชขยายผลให้เกษตรกรต่อไป

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีการวัดการเจริญเติบโตของรากถั่วลิสง ตลอดถึงการใช้สำรวจการเจริญเติบโตของฝักถั่ว และการเจริญของเชื้อราในบริเวณที่เกิดรากและฝักถั่ว เพื่อให้ทราบกลไกการเข้าทำลายของเชื้อดังกล่าวเพื่อเป็นแนวทางในการแก้ไข โดยได้ทดลองปลูกถั่วลิสงที่มหาวิทยาลัยจอร์เจีย ประเทศสหรัฐอเมริกาใน Green house และ Growth chamber ซึ่งได้นำเทคนิคของกล้อง mini-rhizotron ช่วยสำรวจการเจริญเติบโตของรากและฝักถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์และการเกิดเชื้อราในสภาวะขาดน้ำ ซึ่งได้แบ่งกรรมวิธีการให้น้ำ 2 กรรมวิธี คือ ให้น้ำในสภาวะปกติสัปดาห์ละ 2 ครั้ง และสภาวะขาดน้ำ คือสองสัปดาห์ให้น้ำ 1 ครั้ง





จากงานวิจัยพบว่า สภาวะขาดน้ำทำให้ผลผลิตลดลง และรากของถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตแตกต่างกัน การเข้าทำลายฝักถั่วลิสงจากเชื้อราที่อยู่ใต้ดินนั้นไม่แน่นอนเสมอไปที่จะเข้าทำลายในเมล็ดถั่ว แต่จะก่อให้เกิดเชื้อราที่เปลือกฝักและผิวห่อหุ้มเมล็ดเท่านั้น ไม่ว่าฝักถั่วจะอยู่ในสภาวะขาดน้ำหรือสภาวะน้ำปกติ การเข้าไปทำลายเมล็ดโดยอยู่ในส่วนของรังไข่ และ endosperm นั้นจะเริ่มตั้งแต่ระยะที่ถั่วเกิดดอก ซึ่งเกิดจากเชื้อราที่ติดไปกับละอองเกสรตัวผู้ (pollen grain) แล้วเจริญงอกลงไปผสมกับไข่ตัวเมีย การค้นพบครั้งนี้จะช่วยทำให้เกิดความเข้าใจว่าการติดเชื้อของถั่วลิสงจากเชื้อรานั้นสามารถเกิดได้ทั้งส่วนของต้นถั่วลิสงที่อยู่เหนือผิวดิน และส่วนที่อยู่ใต้ผิวดิน และการติดเชื้อของถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน อาจจะเนื่องมาจากรากและฝักถั่วมีการปลดปล่อยสารจำพวกน้ำตาล ได้แก่ กลูโคส ฟรักโทส ซูโครส ออกมาต่างกัน ซึ่งอาจมีผลต่อการต้านทานการติดเชื้อจากเชื้อรา นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราสามารถปลิวเข้าไปตกในดอกของถั่วลิสงได้ด้วย แต่โอกาสที่เกิดเช่นนี้มีน้อยมากเพียงแค่ 0-01% เท่านั้น ซึ่งไม่น่าวิตกกังวลแต่อย่างใด

ศ.ดร.จักรี กล่าวต่อว่า ทั้งนี้จากการทดลองพบว่าพันธุ์ถั่วลิสงที่ทนต่อสภาวะแล้ง จะมีรากลึกสามารถหาแหล่งน้ำเองได้ ส่งผลให้ฝักสมบูรณ์ ไม่เหี่ยว ไม่ทำให้เกิดแผลและรอยปริแตก ที่สำคัญคือเชื้อราไม่สามารถเข้าไปทำลายได้ แต่พันธุ์ที่ไม่ทนต่ออากาศแล้ง จะมีรากตื้น ทำให้ไม่สามารถหาแหล่งน้ำเองได้ ส่งผลให้เปลือกฝักเหี่ยว และปริแตกได้ เชื้อราก็เข้าไปทำลายได้ง่าย นอกจากนี้พบว่าถั่วลิสงที่ปลดปล่อยสารจำพวกน้ำตาลอย่างกลูโคสออกมาเชื้อราชอบและเข้าไปทำลาย แต่ขณะเดียวกันถั่วลิสงที่ปลดปล่อยสารแล็กโทส ฟรักโทส พบว่าเชื้อราไม่ชอบ ทำให้ถั่วไม่ได้รับอันตรายจากเชื้อรา ฉะนั้นสิ่งที่ต้องทำการศึกษาต่อไปก็คือต้องเร่งหาพันธุ์ที่ปล่อยสารที่เชื้อราไม่ชอบว่ามีปริมาณเท่าไหร่ แล้วนำไปวิเคราะห์ต่อไป ซึ่งคาดว่าในมิถุนายนนี้จะได้พันธุ์ที่ทนต่อสภาวะแล้ง ทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อราผสมกับพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง เพื่อจะให้นักปรับปรุงพันธุ์พืชนำไปศึกษาและคัดสรรพันธุ์ที่ดีต่อไป

ศ.ดร.จักรี กล่าวเพิ่มเติมว่า แม้ว่าในอนาคตจะมีสายพันธุ์ถั่วลิสงที่ต้านเชื้อราได้แล้วแต่ในส่วนของขั้นตอนการเก็บถั่วลิสงก็เป็นส่วนสำคัญที่เชื้อราจะเข้าไปทำลายได้ง่าย ซึ่งสิ่งที่เกษตรกรควรทำคือต้องหมั่นพลิกดินระหว่างเก็บเกี่ยวอย่าให้ฝักแตก มีรอยครูด หรือขีดข่วน เพราะจะเป็นช่องทางการเข้าทำลายของเชื้อรา และที่สำคัญอย่าให้ถั่วลิสงมีความชื้นเกิน 12-14% สนใจอยากทราบรายละเอียดเกี่ยวกับถั่วลิสงสายพันธุ์ปลอดเชื้อรานี้ติดตามได้ในงาน "ความรู้เพื่อชีวิต 10 ปี สกว." ที่ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ 19-23 กุมภาพันธ์นี้

*เด็กหญิงชาวจีนในเมืองกวางตุ้งสวมใส่ผ้าปิดปากอยู่ตลอดเวลา เพื่อป้องกันไวรัสโรคปอดอักเสบที่ยังไม่ทราบว่าเป็นสายพันธุ์ใด ไวรัสดังกล่าวได้คร่าชีวิตชาวจีนไปแล้ว 5 ศพ และทำให้ชาวจีนอีกนับร้อยต้องเข้าไปนอนรักษาตัวในโรงพยาบาล ชาวจีนต่างพากันเรียกร้องให้รัฐบาลกว่างตุ้งอนุมัติเพื่อใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากไวรัสดังกล่าว*

## ครีมลดสัดส่วนฝีมือนักวิจัยไทย

ปัจจุบันกระแสความต้องการของคนทั่วไปในเรื่องการลดสัดส่วนในส่วนต่างๆ ของร่างกาย ก็ถือว่าเป็นปัญหาใหญ่ของผู้หญิงไทยขณะนี้ ดร.พันธุ์ วีระจิตร กรรมการอำนวยการเครือบริษัทฯ ลดเอเซียนเตอร์ (ANC) จึงได้คิดค้นครีมลดสัดส่วน SlimSAFE ขึ้นมาเพื่อแก้ปัญหาเรื่องไขมันส่วนเกินให้กับสาวๆ ครีมดังกล่าวสกัดมาจากสารสกัดจากธรรมชาติ เช่น สัมกรีซิเนียที่สกัดสารพิษออกแล้ว และ

การพัฒนาครีมสูตร SlimSAFE เป็นการพัฒนาต่อเนื่องจากการพัฒนาสูตรที่ใช้รับประทานเพื่อลดไขมันส่วนเกิน ซึ่งใช้เวลาในการพัฒนามาหลายปี มีการทดสอบตามหลักวิทยาศาสตร์สากล มีการนำเสนอเป็นผลงานวิจัยในงานโครงการทางคลินิกระดับโลก โดยมีนักวิทยาศาสตร์หลายร้อยคนจากหลายสิบประเทศมาวิจารณ์ผลงานดังกล่าวจนเป็นที่ยอมรับ สำหรับประเทศไทยก็ได้มีการทดสอบใน 3 สถาบันวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ จนเป็นที่แน่ชัด

## โยกย้าย

ต่อจากหน้า 24

สวป.สภ.อ.น้ำค้ำ จ.ยโสธร เป็น สว.สส.สภ.อ. เดิมนคร จ.ยโสธร พ.ต.ท.คนวิช ชนาฤกษ์ สว.สส.สภ.อ. โนนสูง จ.นครราชสีมา เป็น สวป.สภ.อ.ด่านขุนทด จ.นครราชสีมา พ.ต.ท.อนุรักษ์ อินบัญชา สว.(สส.) ภ.จ.ชัยภูมิ เป็น สวป.สภ.อ.หนองบัวระเหว จ.ชัยภูมิ

พ.ต.ท.อภิชาติ สุทธิสิ สวป.สภ.อ.พิบูลมังสาหาร จ.อุบลราชธานี เป็น สวป.สภ.อ.เมืองอุบลราชธานี จ.อุบลราชธานี พ.ต.ท.อำนวย บุญกอบ พงส.(สบ 2) สภ.อ.คอนสาร จ.ชัยภูมิ เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.เกษตรสมบูรณ์ จ.ชัยภูมิ พ.ต.ท.อำนาจ เดียวตระกูล สวป.สภ.อ.ด่านขุนทด จ.นครราชสีมา เป็น สวป.สภ.กิ่ง อ.ศรีณรงค์ จ.สุรินทร์ พ.ต.ท.อิทธิพล ไพจิตร พงส.(สบ 2) สภ.อ.เมืองสุรินทร์ จ.สุรินทร์ เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.สังขะ จ.สุรินทร์ พ.ต.ต.ก้องเกียรติ ธานินทร์ศักดิ์ สวป.สภ.อ.เมืองสุรินทร์ จ.สุรินทร์ เป็น สว.สส.สภ.อ.เมืองสุรินทร์ จ.สุรินทร์ พ.ต.ต.สมฤทธิ์ สนธิ พงส.(สบ 2) สภ.ต.จานสะแกแสง จ.นครราชสีมา เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา พ.ต.ต.จรินทร์ จินดพละ พงส.(สบ 2) สภ.ต.จอหอ อ.เมือง จ.นครราชสีมา เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.ขามทะเลสอ จ.นครราชสีมา พ.ต.ต.เฉลิม อุ่นรา พงส.(สบ 2) สภ.อ.เกษตรสมบูรณ์

สภ.อ.เมืองสุรินทร์ จ.สุรินทร์ พ.ต.ต.นิคม นนต์เนรมิตร พงส.(สบ 2) สภ.อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.ปักธงชัย จ.นครราชสีมา พ.ต.ต.บุญธาน สมบูรณ์ สว.สส.สภ.อ.ด่านขุนทด จ.นครราชสีมา เป็น สว.จร.สภ.อ.บัวใหญ่ จ.นครราชสีมา พ.ต.ต.ประกอบ ภูมิวิชญะ พงส.(สบ 2) สภ.กิ่ง อ.โพธิ์ศรีสุวรรณ จ.ศรีสะเกษ เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.เทพสถิต จ.ชัยภูมิ พ.ต.ต.ประกิจ ทุมเสน พงส.(สบ 2) สภ.อ.ปทุมราชวงศา จ.อำนาจเจริญ เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.สำโรง จ.อุบลราชธานี พ.ต.ต.หญิง ปาจรีย์ แสวงทอง สว.(สปก.) ภ.จ.อุบลราชธานี เป็น สว.(ธร.กพ.) ภ.จ.อุบลราชธานี พ.ต.ต.เพลิงศักดิ์ รัตนาพันธุ์ พงส.(สบ 2) สภ.อ.ขามทะเลสอ จ.นครราชสีมา เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.เมืองนครราชสีมา จ.นครราชสีมา พ.ต.ต.พัฒนา แสนทองกร้ง พงส.(สบ 2) สภ.อ.หัวตะพาน จ.อำนาจเจริญ เป็น พงส.(สบ 2) สภ.กิ่ง อ.สีดา จ.นครราชสีมา พ.ต.ต.สุทธรักษ์ ธาระวังนี สว.จร.สภ.อ.บัวใหญ่ จ.นครราชสีมา เป็น สวป.สภ.อ.โนนแดง จ.นครราชสีมา พ.ต.ต.ไพบูลย์ เกลื่องสุทธา สว.สภ.ต.ตากูก กิ่ง อ.เขวาสินรินทร์ จ.สุรินทร์ เป็น สว.สภ.ต.กันทรอม อ.ขุขันธ์ จ.ศรีสะเกษ

พ.ต.ต.ภาคภูมิ คำวิไล สวป.สภ.อ.รัตนบุรี จ.สุรินทร์ เป็น สว.สส.สภ.อ.ศีขรภูมิ จ.สุรินทร์ พ.ต.ต.ชัย กาญจนา พงส.(สบ 2) สภ.อ.ชานุมาน จ.อำนาจ

พ.ต.ต.วีระเดช เกษมศรี พงส.(สบ 2) สภ.ต.วังตะเฆ่ อ.หนองบัวระเหว จ.ชัยภูมิ เป็น พงส.(สบ 2) สภ.ต.บ้านค่าย อ.เมือง จ.ชัยภูมิ พ.ต.ต.สนอ วรรณโคตร พงส.(สบ 2) สภ.อ.ห้วยราช จ.บุรีรัมย์ เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.เมืองบุรีรัมย์ จ.บุรีรัมย์ พ.ต.ต.ศิราวุธ ศรีมนาคุณตี สวป.สภ.อ.ประทาย จ.นครราชสีมา เป็น สวป.สภ.ต.โคกกระชาย อ.บ้านกรวด จ.บุรีรัมย์ พ.ต.ต.สายชล สง่าเขียว พงส.(สบ 2) สภ.อ.โพธิ์ไทร จ.อุบลราชธานี เป็น พงส.(สบ 2) สภ.ต.นาโพธิ์ อ.พิบูลมังสาหาร จ.อุบลราชธานี พ.ต.ต.สายรุ้ง ไปงาม สวป.สภ.อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี เป็น สวป.สภ.อ.พิบูลมังสาหาร จ.อุบลราชธานี พ.ต.ต.สืบตระกูล เทพปัญวงศ์ พงส.(สบ 2) สภ.อ.เนินสง่า จ.ชัยภูมิ เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.โชคชัย จ.นครราชสีมา พ.ต.ต.สุพจน์ เจริญสุขมินทร์ พงส.(สบ 2) สภ.อ.ปักธงชัย จ.นครราชสีมา เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา พ.ต.ต.สุทธ สุราวุธ พงส.(สบ 2) สภ.อ.ขุนหาญ จ.ศรีสะเกษ เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.ลำปลายมาศ จ.บุรีรัมย์ พ.ต.ต.สุรชัย บุญกก พงส.(สบ 2) สภ.อ.เมืองอำนาจเจริญ จ.อำนาจเจริญ เป็น พงส.(สบ 2) สภ.อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา พ.ต.ต.หญิง สุวรรณา เล็กรับทึก สว.งาน 3 กก.4 กก.ภ.3 เป็น สว.(สปก.) ภ.จ.ชัยภูมิ พ.ต.ต.อภิรพิ ทุตสุนช สวป.สภ.อ.เดชอุดม จ.อุบลราชธานี เป็น สว.จร.สภ.อ.เมือง

กก.สส.ภ.3 เป็น สว.(ธร.กพ.) ภ.จ.บุรีรัมย์ ร.ต.อ.เทพไชย จันทร์พวง รอง สวป.สภ.อ.สังขะ จ.สุรินทร์ เป็น สวป.สภ.อ.กาบเชิง จ.สุรินทร์ ร.ต.อ.เทวินทร์ กองพร รอง สว.สส.สภ.อ.เมืองอุบลราชธานี จ.อุบลราชธานี เป็น สวป.สภ.กิ่ง อ.สว่างวีระวงศ์ จ.อุบลราชธานี ร.ต.อ.ธีรพล ธมนา พงส.(สบ 1) สภ.อ.ประโคนชัย จ.บุรีรัมย์ เป็น สว.จร.สภ.อ.เมืองบุรีรัมย์ จ.บุรีรัมย์ ร.ต.อ.ธีระชัย ชำนาญหมอ พงส.(สบ 1) สภ.อ.เมืองนครราชสีมา จ.นครราชสีมา เป็น สว.สส.สภ.อ.เมืองนครราชสีมา จ.นครราชสีมา ร.ต.อ.พิชิต มิแสง พงส.(สบ 1) สภ.ต.โคกกรวด อ.เมือง จ.นครราชสีมา เป็น สว.งาน 1 กก.สปพ.ภ.3 ร.ต.อ.วังสรรค์ พนุพันธ์ รอง สวฝ.อก.สภ. (สง.ผกก.) ภ.จ.อุบลราชธานี เป็น สว.(นต.) ภ.จ.ศรีสะเกษ ร.ต.อ.วิฑูรย์ ปิ่งเก้น รอง สว.งาน 1 กก.สส.ภ.3 เป็น สว.สส.สภ.อ.จัตุรัส จ.ชัยภูมิ ร.ต.อ.วิโรจน์ พาลี รอง สวป.สภ.อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี เป็น สวป.สภ.ต.ช่องเม็ก อ.สิรินธร จ.อุบลราชธานี ร.ต.อ.วุฒิพงษ์ ภาครูป รอง สวป.สภ.ต.มะเริง อ.เมือง จ.นครราชสีมา เป็น สวป.สภ.อ.ชุมพลบุรี จ.สุรินทร์ ร.ต.อ.ศิวกร เหล่าบุตรี รอง สวป.สภ.อ.บ้านเขว้า จ.ชัยภูมิ เป็น สว.(สส.) ภ.จ.ชัยภูมิ ร.ต.อ.สันติ เหล่าประเสริฐ รอง สว.จร.สภ.ต.สีคิ้ว จ.นครราชสีมา เป็น สวป.สภ.ต.สีคิ้ว จ.นครราชสีมา