ความทนทานทางกายภาพของฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 ต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*

Phenotypic Tolerance of KU-Guard No.1 Guava to Root Knot Nematodes (Meloidogyne incognita)

อรพินท์ ทองอร่าม[1] สมชาย สุขะกูล[1] ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล[1] และ เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์[2]
Orapin Thongaram[1] , Somchai Sukhakul[1] , Chinarong Rattanakreetakul[1] and Kriengsak Thaipong[2]

Abstract

Phenotypic expression of guava cv. KU- Guard No.1 tolerance to root knot nematodes *Meloidogyne incognita*. The 4 month old guava seedlings 'KU- Guard No.1' and 'Paen Seethong' were inoculated with 400 second- stage juveniles (J2) of M. incognita per plant under the greenhouse condition. The whole plants were evaluated at 30 and 90 days and also the histological study of guava root tissues was investigated using microtome technique. The results revealed that at 90 days, gall sizes of 'KU- Guard No.1' were 0.19 mm., the growth of root system and the plant height after inoculated were 4 and 40.81 cm., the fresh weight was 5.07 g. while the growth of root system of 'Paen Seethong' was 2.89 and the plant height after inoculated was 34.03 cm., gall size was 0.32 mm. diameter and the fresh weight was 3.08 g. Histological structure of root tissues revealed the difference in the secondary growth stage of root in both cultivars. X-section of 'KU- Guard No.1' root showed higher density of xylem vessel cells than that of 'Paen Seethong'. Xylem vessel cells were very important for water - mineral transport and strengthening root tissues.This advantage of root tissue could better support growth and tolerance of 'KU-Guard No.1' to root knot nematodes.

Keywords: guava, 'KU- Guard No.1', *Meloidogyne incognita*, 'Paen Seethong', tolerant

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

[2] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
Department of Hortriculture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

รับเรื่อง : พฤศจิกายน 2555

* corresponding author: aqrscsk@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาลักษณะทางกายภาพที่แสดงออกถึงความทนทานต่อไส้เดือนฝอยรากปมของฝรั่งพันธุ์ KU- Guard No.1 โดยคัดเลือกต้นกล้าฝรั่งพันธุ์ KU- Guard No.1 และพันธุ์แป้นสีทอง (พันธุ์อ่อนแอ) อายุ 4 เดือน จากการเพาะเมล็ดและทำการใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอย *M. incognita* (J2) 400 ตัวต่อต้นในสภาพโรงเรือน ตรวจผลการทดลองที่อายุ 30 และ 90 วันหลังปลูกเชื้อ และนำรากของต้นฝรั่งที่อายุ 90 วันไปทำการตรวจเนื้อเยื่อรากเพื่อศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของฝรั่งทั้ง 2 สายพันธุ์ ผลปรากฏว่า ฝรั่ง KU- Guard No.1 มีค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่แตกต่างอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับพันธุ์แป้นสีทอง (พันธุ์อ่อนแอ) ได้แก่ ขนาดปม การเจริญของระบบราก ความสูงของต้น และน้ำหนักรากสดของฝรั่ง โดยฝรั่ง KU- Guard No.1 ที่อายุ 90 วัน มีขนาดเล็กเฉลี่ย 0.19 มิลลิเมตรและมีจำนวนปมมาก แต่มีการเจริญเติบโตดีสอดคล้องกับระบบรากที่เจริญได้ดีเฉลี่ยระดับ 4 ความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 40.81 ซม. และน้ำหนักรากสด 5.07 กรัม สำหรับฝรั่งแป้นสีทองที่อายุ 90 วัน ระบบรากเจริญปานกลางมีค่าเฉลี่ย 2.89 ความสูงมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ34.03 ซม. ขนาดปมมีค่าเฉลี่ย 0.32 มิลลิเมตร และมีน้ำหนักรากสด 3.08 กรัม เมื่อตรวจลักษณะทางกายวิภาคของเนื้อเยื่อราก พบความแตกต่างของเนื้อเยื่อรากฝรั่ง KU- Guard No.1 มีบริเวณรากในระยะการเจริญขั้นที่สองของพืช ซึ่งจะมีเซลล์ขนาดเล็กใหญ่เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ พบ xylem vessel ในบริเวณกลางรากและกระจายตัวออกตามแนวการเกิดของ cambium จำนวนมากกว่าในรากฝรั่งแป้นสีทอง ทำให้ฝรั่งพันธุ์ KU- Guard No.1 มีโครงสร้างรากแข็งแรงสามารถทนทานต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยได้ดี

คำนำ

ฝรั่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Psidium guajava* Linn. ชื่อสามัญว่า guava มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกาเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กปลูกได้เกือบทุกสภาพพื้นที่ทั่วโลก (Pommer and Murakami, 2009) นิยมบริโภคในรูปผลสดและแปรรูป เนื่องจากมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินซี ซึ่งมีปริมาณ 50-300 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักเนื้อผล 100 กรัม (Thaipong and Boonprakob, 2005) เมื่อเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในฝรั่งกับผลไม้เขตร้อน 9 ชนิด พบว่าฝรั่งมีปริมาณฟีโนลิคและวิตามินซีสูงที่สุด จากการรายงานของ Office of Agricultural Economics (2007) พบว่าพื้นที่ปลูกฝรั่งปี พ.ศ. 2550 มีประมาณ 41,411 ไร่ ลดลงจากปี พ.ศ. 2549 ถึง 11,757 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 22 สาเหตุหลักเนื่องจากสวนฝรั่งในเขตภาคกลางที่เป็นแหล่งผลิตใหญ่ได้รับความเสียหายจากน้ำท่วมและเกิดโรครากปมแพร่ระบาด เกษตรกรจึงปลูกพืชอื่นทดแทน โรครากปมของฝรั่งที่มีสาเหตุมาจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชตระกูล Meloidogyne จะมีลักษณะอาการ ต้นโทรม ใบเหลืองอมน้ำตาลทั้งเนื้อใบและก้านใบคล้ายอาการขาดธาตุอาหาร ใบม้วนห่อเข้าหาเส้นกลางใบ เมื่อถูกเข้าทำลายอย่างรุนแรงใบจะร่วงเกือบทุกยอด มีการรายงานอย่างต่อเนื่องถึงการศึกษาการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ซึ่งฝรั่งเป็นพืชชนิดหนึ่งที่ถูกเข้าทำลายเป็น host ที่เหมาะสมของไส้เดือนฝอยรากปมสกุล *Meloidogyne* sp. และมีโรคร่วม เช่น *Fusarium* sp. หรือไส้เดือนฝอยสกุลอื่นอย่าง *Hoplolaimus* sp. และ *Tylenchorhynchus* sp. (EL-Borai and Duncan, 2005) ในประเทศไทย Somchai (2008) ได้รายงานว่าไส้เดือนฝอยรากปมทำให้ระบบรากเสียหาย พืชสูญเสียความสามารถในการดูดน้ำ อาหารและแร่ธาตุ เกิดอาการต้นโทรม อายุต้นฝรั่งสั้นลงครึ่งหนึ่งของรุ่นที่ปลูก เกิดการระบาดกว้างขวางในสภาพดินทรายและดินเหนียว และจากการรายงานความเสียหายรวมทั้งแนวทางการป้องกัน ควบคุมโรครากปมจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืช พบว่ามีการรายงานความเสียหายของฝรั่งพันธุ์การค้าในประเทศอเมริกาใต้ที่เกิดจากโรครากปมโดยไส้เดือนฝอย *M.enterolobii* ได้มีการหาพันธุ์ต้านทานเพื่อการจัดการโรคโดยพบว่าฝรั่ง *P. cattaleyanum, P. friedrichsthalianum, P. guineensis* และ *Acca sellowiana* มีความทนทานต่อไส้เดือนฝอย และได้มีการใช้

ฝรั่ง *P. cattaleyanum* และ *P. friedrichsthalianum* ทาบกิ่งเข้ากับกิ่งพันธุ์การค้าจากการทดสอบทั้งหมด 38 accessions ภายใต้สภาพโรงเรือนจะพบว่ามี 26 accessions ที่ต้านทานต่อไส้เดือนฝอยรากปม (Carneiro et al., 2007a) Almeida et al. (2009) ได้จัดจำแนกพืชตระกูล Myrtaceae เพื่อหาความต้านทานไส้เดือนฝอย *M. enterolobii* โดยใช้พืช Araca และฝรั่งเป็นตัวแทนในการศึกษา พบว่ามีฝรั่ง 3 พันธุ์และ Eugenia 1 พันธุ์ที่ต้านทานไส้เดือนฝอยในสภาพโรงเรือน และ Thaipong et al. (2009) รายงานถึงงานวิจัยฝรั่งสายพันธุ์ใหม่รหัส HORT-R1 (KU- Guard No.1) ที่ได้จากการคัดเลือกรวบรวมพันธุ์ฝรั่งนำมาประเมินการเจริญเติบโตทนทานต่อสภาพดินเค็มและโรครากปม พบว่าฝรั่ง HORT-R1 มีความทนทานต่อดินเค็มและไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีทั้งในสภาพโรงเรือนและพื้นที่แพร่ระบาดในเขตดินเหนียว และดินทรายงานวิจัยนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ในการทดลองเพื่อศึกษาลักษณะทาง phenotype ด้านการเจริญเติบโตและเนื้อเยื่อรากพืชที่แสดงออกถึงความทนทานของฝรั่งพันธุ์ KU- Guard No.1 ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita.*

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ศึกษาลักษณะความทนทานที่แสดงออกทางกายภาพ (phenotype) ของฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* (ดัดแปลงมาจาก Alpizar et al., 2006; Hang et al., 2009)

นำเมล็ดฝรั่งพันธุ์ทนทานที่ได้จากการผสมเปิด KU-Guard No.1 และพันธุ์แป้นสีทอง (พันธุ์อ่อนแอ) 40 เมล็ดต่อพันธุ์ฆ่าเชื้อด้วย 95% แอลกฮอล์ 5 นาที ฆ่าเชื้อซ้ำด้วยโซเดียมไฮโปรคลอไรด์ 1% เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำฆ่าเชื้อ 2 นาที 2 ครั้ง นำไปเพาะลงบนกระบะทรายผสมขี้เถ้าแกลบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เมื่อเมล็ดงอกแตกใบเลี้ยง 2 ใบ ย้ายปลูกลงกระบะกว้างขนาด 27.5x35x10 ซม. โดยใช้วัสดุปลูกอัตรา 1:1:2 (ดินร่วน : ทราย : ขี้เถ้าแกลบ) ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ เมื่อต้นฝรั่งสูงประมาณ 15-20 ซม.อายุประมาณ 4 เดือน ปลูกเชื้อด้วยตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอย *M. incognita* ต้นละ 400 ตัว ตรวจผลการทดลองที่ระยะเวลา 30 และ 90 วัน มี 4 กรรมวิธี 3 ซ้ำการทดลอง ใน 1 ซ้ำการทดลองมี 3 ต้น แบ่งการตรวจผลออกเป็น 2 ส่วน คือ 1. ตรวจผลการแสดงออกของฝรั่งระดับเหนือดิน วัดความสูงก่อนและหลังการปลูกเชื้อ 2. ตรวจผลการแสดงออกของรากฝรั่งทั้งระบบ ตรวจนับปริมาณปม กลุ่มไข่ ขนาดปม น้ำหนักรากสด น้ำหนักรากแห้ง ประเมินความสมบูรณ์ของระบบรากแบบประยุกต์ตามมาตรฐานของ Schematic of root-knot nematode gall rating system (Hussey and Janssen, 2002) แต่เป็นการประเมินแบบแปรผลย้อนกลับดังนี้ 5= >75% พบปริมาณรากสมบูรณ์มีการแตกแขนงและรากขนอ่อนสมบูรณ์ 4= 51-75% รากแตกแขนงและรากขนอ่อนประมาณ 3 ใน 4 ส่วน 3= 25-50% รากแตกแขนงและรากขนอ่อนประมาณ 2 ใน 4 ส่วน 2 = < 25% รากแตกแขนงและรากขนอ่อนน้อยกว่า 2 ใน 4 ส่วนของ 1= รากแตกแขนงและรากขนอ่อนน้อยกว่า 1ใน 4 ส่วน 0 = รากกุดสั้นผุพังเสียหายทั้งระบบราก วางแผนการทดลองแบบสมบูรณ์ (CRD) และประเมินผลค่าเฉลี่ยทางสถิติโดยใช้โปรแกรม R เพื่อวิเคราะห์ลักษณะการแสดงทางด้าน phenotype

2. การตรวจเนื้อเยื่อรากของฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 (ดัดแปลงมาจาก Alpizar et al., 2006)

ใช้รากฝรั่งที่ผ่านการทดลองแล้ว 90 วัน นำมาแบ่งเป็น 4 ส่วน คือ 1. รากปกติติดบริเวณโคนต้น 2. รากปกติส่วนกลางระบบราก 3. รากปกติบริเวณปลายราก ยกเว้นส่วนของหมวกรากและ 4. บริเวณรากปม ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อที่ผิวของรากพืชที่ต้องการตรวจสอบ ตัดชิ้นส่วนของรากฝรั่งในแนวตามขวางให้มีขนาดของชิ้นส่วนประมาณ 0.5 – 1 ตร.ซม. นำตัวอย่างชิ้นส่วนเนื้อเยื่อรากที่ตัดแช่ในน้ำยา FAA (formaldehyde alcohol , acetic acid และน้ำฆ่าเชื้อ) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นไปผ่านการดึงน้ำออกจากเซลล์ใน ethanol series (30-95%) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และนำไปแช่เพื่อทำความสะอาดเซลล์ใน TBA series (tertiary butyl alcohol 50-100%) เป็นเวลา

12 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำไปรักษาสภาพเซลล์ใน embedding medium ที่ 60 องศาเซลเซียสข้ามคืน และฝังเนื้อเยื่อรากฝรั่งลงในพาราฟิน นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อรากฝรั่งที่ผ่านการรักษาสภาพแล้ว นำไปย้อมสีด้วย Safranin O และ Fast green ประเมินลักษณะของเนื้อเยื่อรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา ตรวจสภาพการย้อมสีราก รากสมบูรณ์ไม่ฉีกขาด จากนั้นปิดแผ่นสไลด์และยึดแผ่นสไลด์ให้ติดแน่นถาวร ตรวจลักษณะและส่วนประกอบของเนื้อเยื่อและเซลล์รากชั้น epidermis periderm และ vascular cambium ที่เกิดขึ้นของรากฝรั่ง

ผลการทดลอง

1. ลักษณะความทนทานของฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 ที่แสดงออกทางด้านกายภาพ (phenotype) ต่อไส้เดือนฝอย รากปม *Meloidogyne incognita*

ลักษณะทาง phenotype ของฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 และแป้นสีทองที่แสดงผลตอบสนองต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* มีความแตกต่างกันชัดเจนของขนาดปม ค่าเฉลี่ยความสมบูรณ์ของระบบรากและน้ำหนักรากสด โดยพบว่าฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 ที่ 30 วัน มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางปมเฉลี่ย 0.08 มิลลิเมตร พันธุ์แป้นสีทองมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางปมเฉลี่ย 0.12 มิลลิเมตร ที่ 90 วันฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 มีขนาดปม 0.19 มิลลิเมตร พันธุ์แป้นสีทองมีขนาดปม 0.32 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1 และตารางที่ 2) ค่าเฉลี่ยความสมบูรณ์ของระบบรากและน้ำหนักรากสดฝรั่งพันธุ์แป้นสีทองไม่ปลูกเชื้อเท่ากับ 2.67 และ 1.46 พันธุ์KU-Guard No.1เท่ากับ 4.33 และ 3.08 (ภาพที่ 1) ซึ่งไม่แตกต่างกับปลูกเชื้อ 90 วันเท่ากับ 4.00 และ 5.07 (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 2) แต่จะแตกต่างชัดเจนกับพันธุ์แป้นสีทองที่ปลูกเชื้อ 90 วัน แสดงค่าเฉลี่ยความสมบูรณ์ของระบบรากและน้ำหนักรากสดเท่ากับ 2.89 และ 3.08 (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 2) เมื่อตรวจผลความสูงของต้น ปริมาณการเกิดปม และกลุ่มไข่ แสดงผลแตกต่างไม่ชัดเจน คือพันธุ์ KU-Guard No.1 ที่ปลูกเชื้อ 90 วัน มีความสูง ปริมาณการเกิดปมและกลุ่มไข่เฉลี่ย 40.81 เซนติเมตร 333 ปม และ 240.33 กลุ่มไข่ KU-Guard No.1 ไม่ปลูกเชื้อ มีความสูง ปริมาณการเกิดปมและกลุ่มไข่เฉลี่ย 51.67 เซนติเมตร 0 ปม และ 0 กลุ่มไข่ (ตารางที่ 2) พันธุ์แป้นสีทองที่ปลูกเชื้อ 90 วัน มีความสูง ปริมาณการเกิดปมและกลุ่มไข่เฉลี่ย 34.03 เซนติเมตร 228 ปม และ 181.44 กลุ่มไข่ พันธุ์แป้นสีทองไม่ปลูกเชื้อ มีความสูง 38.70 เซนติเมตร และไม่พบการเกิดปม (ตารางที่ 2) ส่วนผลการทดลองที่แสดงให้เห็นความแตกต่างเด่นชัดอีก 1 ลักษณะ คือการแตกรากแขนงบริเวณเหนือและใต้ของรากปมเมื่อฝรั่งมีอายุมากขึ้น พันธุ์ KU-Guard No.1 ที่ 30 และ 90 วัน แตกรากแขนงเหนือและใต้ปมปกติ ฝรั่งพันธุ์แป้นสีทองที่ 30 วันแตกรากแขนงปกติ แต่ที่ 90 วัน แตกรากแขนงเหนือและใต้ปมน้อยมาก (ภาพที่ 2)

ตารางที่ 1: ลักษณะการเกิดโรคของฝรั่งที่อายุ 30 วันหลังการปลูกเชื้อด้วยไส้เดือนฝอย *M. incognita* จำนวน 400 ตัวต่อต้น โดย T1= พันธุ์แป้นสีทองปลูกเชื้อ T2= พันธุ์ 'KU-Guard No.1' ปลูกเชื้อ T3= พันธุ์แป้นสีทองไม่ปลูกเชื้อ T4= พันธุ์ 'KU-Guard No.1' ไม่ปลูกเชื้อ

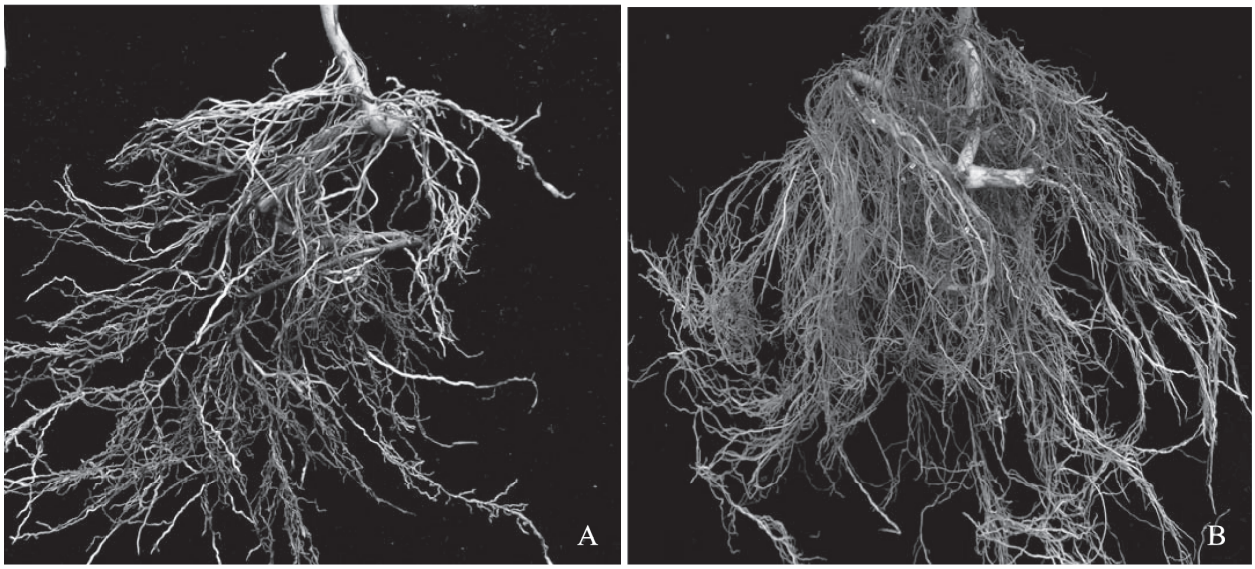
ลักษณะการเกิดโรคของฝรั่งที่อายุ 30 วัน หลังการปลูกเชื้อ									
กรรมวิธี	จำนวนปม[1/]	จำนวนกลุ่มไข่	อัตราการฟักตัวอ่อน	ความสมบูรณ์ระบบราก	ขนาดปม (mm.)	น้ำหนักรากสด (g)	น้ำหนักรากแห้ง (g)	ความสูงก่อนปลูกเชื้อ (cm.)	ความสูงหลังปลูกเชื้อ (cm.)
T1	13.77 b	13.67 b	139.47 b	2.56 c	0.12 a	1.35 b	0.66 b	12.71 ab	25.95
T2	50.33 a	47.22 a	161.67 a	5.00 a	0.08 b	2.39 a	1.50 a	16.39 a	30.72
T3	o b	0 b	0 c	3.67 b	0 c	0.90 b	0.60 b	10.33 b	26.67
T4	0 b	0 b	0 c	5.00 a	0 c	2.99 a	2.08 a	16.8 a	31.00
CV.	75.78	66.70	11.03	11.85	27.51	19.58	30.97	18.11	22.86

[1/] ค่าตัวอักษรที่กำกับในแนวตั้งเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย Duncan's New Multiple Range Test (*P=0.05*)

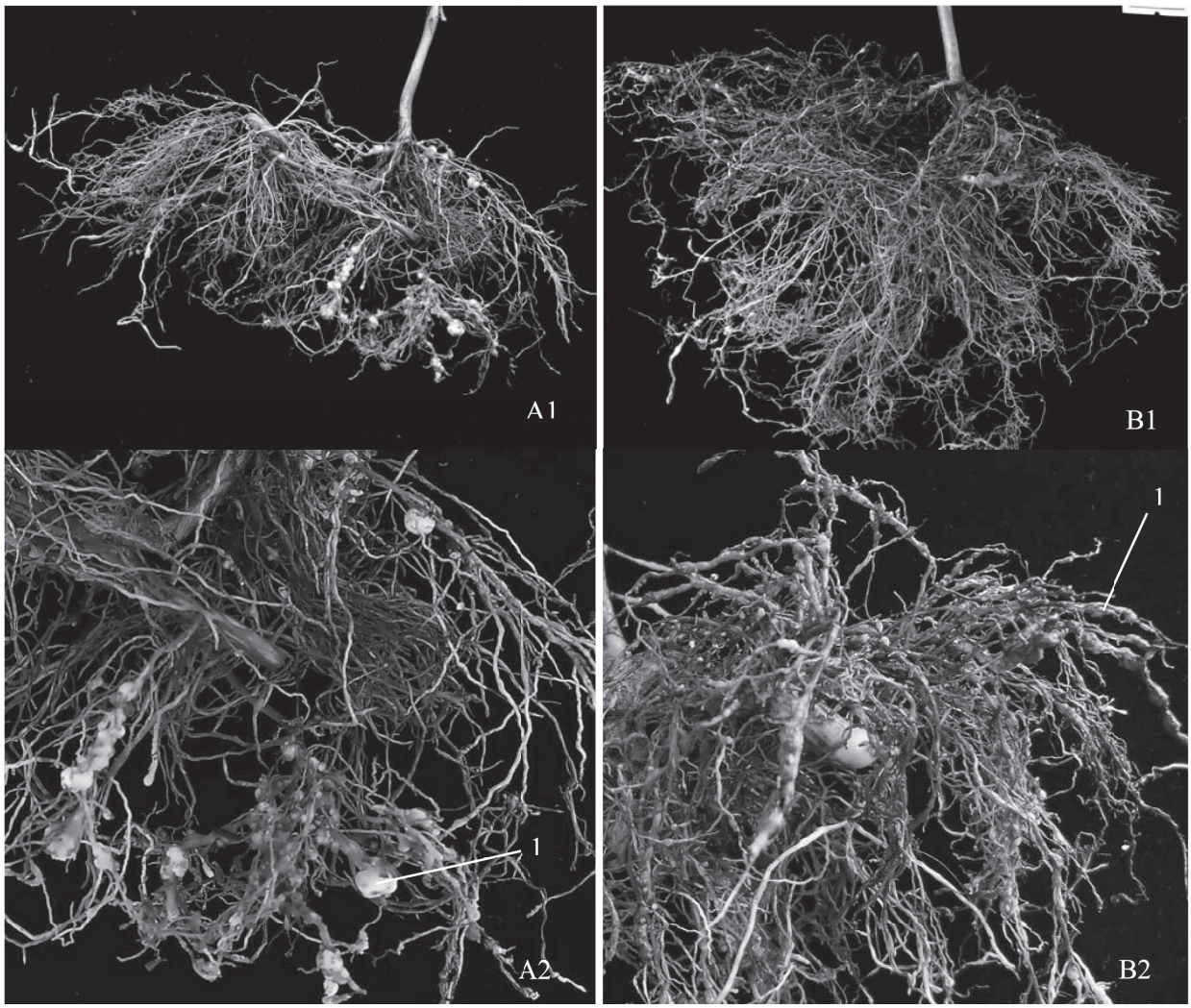
ตารางที่ 2: ลักษณะการเกิดโรคของฝรั่งที่อายุ 90 วันหลังการปลูกเชื้อด้วยไส้เดือนฝอย *M. incognita* จำนวน 400 ตัวต่อต้น โดย T1= พันธุ์แป้นสีทองปลูกเชื้อ T2= พันธุ์ 'KU-Guard No.1' ปลูกเชื้อT3= พันธุ์แป้นสีทองไม่ปลูกเชื้อ T4= พันธุ์ 'KU-Guard No.1' ไม่ปลูกเชื้อ

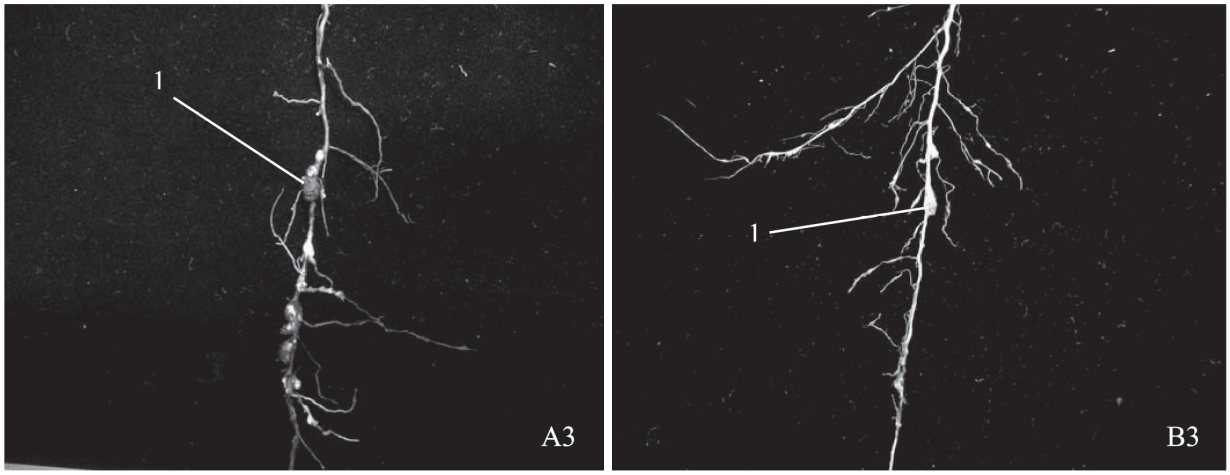
ลักษณะการเกิดโรคของฝรั่งที่อายุ 90 วัน หลังการปลูกเชื้อ									
กรรมวิธี	จำนวนปม[1/]	จำนวนกลุ่มไข่	อัตราการฟักตัวอ่อน	ความสมบูรณ์ระบบราก	ขนาดปม (mm.)	น้ำหนักรากสด (g)	น้ำหนักรากแห้ง(g)	ความสูงก่อนปลูกเชื้อ (cm.)	ความสูงหลังปลูกเชื้อ (cm.)
T1	228 a	181.44 a	61.03 a	2.89 bc	0.32 a	3.08 b	0.87 b	11.09 b	34.03 b
T2	333 a	240.33 a	69.67 a	4.00 ab	0.19 b	5.07 a	2.23 a	17.44 a	40.81 ab
T3	0 b	0 b	0 b	2.67 c	0 c	1.46 c	0.41 b	8.67 b	38.70 ab
T4	0 b	0 b	0 b	4.33 a	0 c	3.08 ab	1.68 a	17.93 a	51.67 a
CV.	41.9	38.57	31.95	17.53	23.13	21.66	23	13.16	17.13

[1/]ค่าตัวอักษรที่กำกับในแนวตั้งเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %โดย Duncan's New Multiple Range Test (*P=0.05*)



ภาพที่ 1: ระบบรากปกติของฝรั่งอายุ 90 วัน หลังปลูกเชื้อด้วยน้ำฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) A= พันธุ์แป้นสีทอง B= พันธุ์ 'KU-Guard No.1'





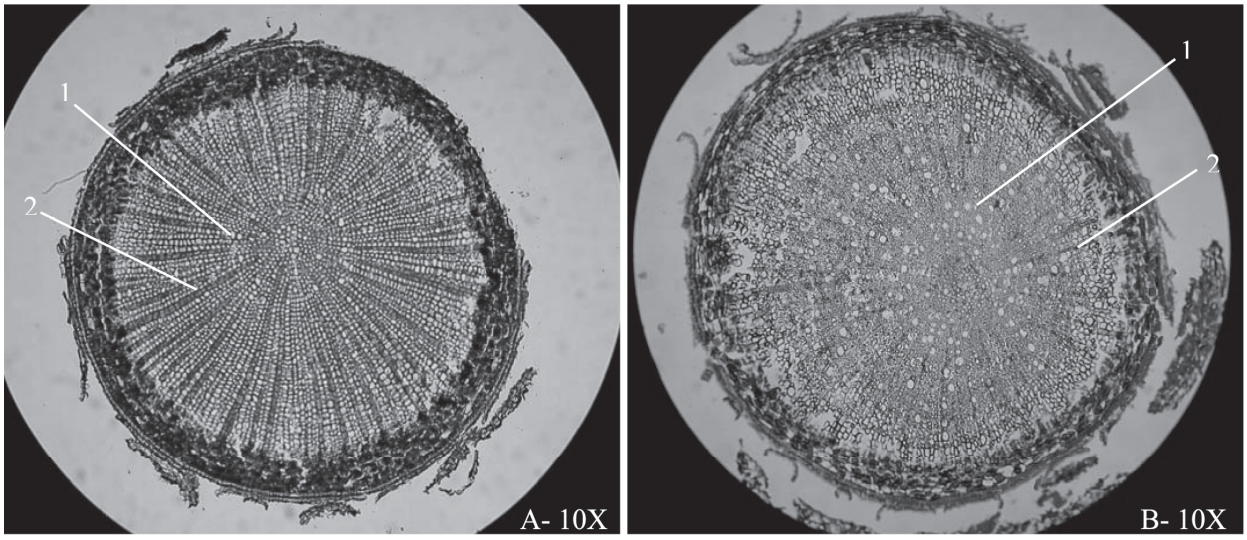
ภาพที่ 2: ระบบรากฝรั่งอายุ 90 วันหลังได้รับการปลูกเชื้อด้วยไส้เดือนฝอย *M. incognita* A= พันธุ์แป้นสีทอง B= พันธุ์ 'KU- Guard No.1' A2-B2 = ภาพขยายบริเวณรากปม A3-B3 = การแตกรากแขนงใต้ปม 1= root gall

2. การแสดงออกของเนื้อเยื่อรากฝรั่งต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *M. incognita*

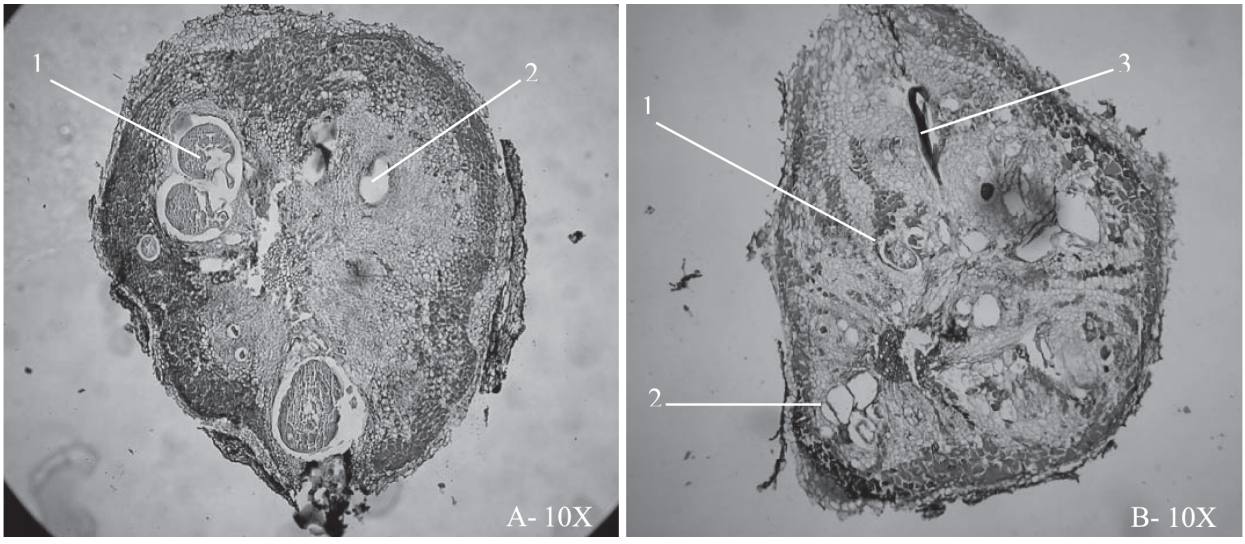
จากการศึกษาเนื้อเยื่อรากฝรั่งต้นปกติและต้นที่มีการปลูกเชื้อด้วยไส้เดือนฝอย *M. incognita* โดยการทำสไลด์เนื้อเยื่อพาราฟินและตัดด้วยเครื่อง microtome พบว่า จากรากแขนงขนาด 0.25-0.1 เซนติเมตรของพืชที่นำมาศึกษาเป็นการเจริญในขั้นที่สองของรากซึ่งจะพบได้ในพืชใบเลี้ยงคู่และจิมโนสเปิร์ม เนื้อเยื่อรากฝรั่งพันธุ์แป้นสีทองต้นปกติเป็นการเจริญในขั้นที่สองของราก (Poowadol, 2000) จากเนื้อเยื่อรากจะพบเซลล์ epidermis มีลักษณะเป็นเซลล์ชั้นเดียวเรียงตัวต่อเนื่อง ซึ่งจะอยู่ในชั้นนอกสุด ถัดจากชั้น epidermis จะพบเนื้อเยื่อชั้น periderm เป็นเนื้อเยื่อที่มีหน้าที่ป้องกันเนื้อเยื่อภายในต่อมาส่วนของการเกิด vascular cambium ที่เรียกว่าเป็นการเจริญขั้นที่สอง ตั้งแต่บริเวณจากกึ่งกลางเนื้อเยื่อรากถึงชั้น periderm เซลล์เรียงตัวเป็นระเบียบแต่ละเซลล์มีขนาดใกล้เคียงกัน รูปร่างหลายเหลี่ยมด้านเท่าและพบเซลล์กลวงขนาดใหญ่รูปร่างคล้ายหลายเหลี่ยมที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์ปกติ ซึ่งจะพบชัดเจนบริเวณรอบกึ่งกลางเนื้อเยื่อรากและมีการกระจายตัวออกไปรอบ ๆ ตามแนวการเกิดของ cambium ซึ่งจะมีเนื้อเยื่อ xylem vessel โดย xylem vessel ในรากฝรั่งแป้นสีทองจะพบน้อยกว่าในรากฝรั่ง KU-Guard No.1 และเซลล์ parenchyma ray เรียงตัวเป็นระเบียบตามแนวระนาบกับเนื้อเยื่อรูปร่างเซลล์ มีลักษณะคล้ายสี่เหลี่ยม ภายในเซลล์มีลักษณะคล้ายเม็ดแป้งหรือสารรงควัตถุอยู่ภายในจึงติดสีเข้มชัดเจน (ภาพที่ 3: A)

ส่วนเนื้อเยื่อรากฝรั่ง KU-Guard No.1 ต้นปกติจะพบเซลล์ epidermis มีลักษณะเป็นเซลล์ชั้นเดียวเรียงตัวต่อเนื่องซึ่งจะอยู่ในชั้นนอกสุด ถัดจากชั้น epidermis จะพบเนื้อเยื่อชั้น periderm เป็นเนื้อเยื่อที่มีหน้าที่ป้องกันเนื้อเยื่อภายในซึ่งมีแหล่งกำเนิดมาจาก cork cambium (Poowadol, 2000) ส่วนกลางเซลล์พืชจะเป็นเนื้อเยื่อการเจริญในขั้นที่สองที่เรียกว่าการเกิด vascular cambium จะมีการเจริญของ secondary xylem และ phloem พบเซลล์กลวงขนาดใหญ่รูปร่างคล้ายวงกลมแทรกตัวอยู่ระหว่างเซลล์ปกติแต่จะพบมากบริเวณใกล้แกนกลางเนื้อเยื่อและกระจายตัวออกไปรอบ ๆ ตามแนวการเกิดของ cambium เซลล์ที่พบนั้นเรียกว่า xylem vessel มีหน้าที่สำคัญในการลำเลียงน้ำแร่ธาตุ และโครงสร้างเนื้อเยื่อรากที่แข็งแรงส่วนการเรียงตัวของเซลล์ในเนื้อเยื่อรากฝรั่ง KU-GUARD จะเรียงตัวไม่เป็นระเบียบมีเซลล์ขนาดเล็กใหญ่ปะปนกันและพบ parenchyma ray ตามแนวตัดขวางของเนื้อเยื่อรากซึ่งมีรูปร่างเซลล์เป็นสี่เหลี่ยมเรียงต่อกันและภายในเซลล์

parenchyma ray จะมีสีเข้มมีลักษณะคล้ายเม็ดแป้งอยู่ภายในเซลล์ (ภาพที่ 3: B) แต่ในเนื้อเยื่อรากปมของฝรั่งทั้ง 2 พันธุ์ไม่พบความแตกต่างของเนื้อเยื่อ ไส้เดือนฝอยสามารถสร้างเซลล์ยักษ์ (giant cell) ได้ทั้งสองพันธุ์ พบการเจริญในระยะตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอยเพศเมียในรากปม parenchyma ray, vessel member และเซลล์ในการเจริญขั้นที่สองเรียงตัวไม่ระเบียบ เซลล์เปลี่ยนแปลงรูปร่าง บางเซลล์ถูกรวมทำให้เกิดเซลล์ยักษ์บริเวณส่วนหัวและรอบๆ ตัวไส้เดือนฝอยเพศเมีย (ภาพที่ 4: A-B)



ภาพที่ 3: เนื้อเยื่อรากฝรั่งปกติ A= พันธุ์แป้นสีทอง B= พันธุ์ 'KU- Guard No.1' 1= xylem vessel 2= parenchyma ray



ภาพที่ 4: เนื้อเยื่อรากฝรั่งที่ได้รับการปลูกเชื้อ ด้วยไส้เดือนฝอย *M. incognita* A= พันธุ์แป้นสีทอง B= พันธุ์'KU- Guard No.1' 1= ไส้เดือน ฝอยรากปมเพศเมียตัวเต็มวัย 2= เซลล์ยักษ์ (giant cell) 3= ตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปม

วิจารณ์

พืชพันธุ์ทนทาน (Tolerant cultivar) คือพืชที่สามารถเกิดโรคได้เท่ากับหรือมากกว่าพันธุ์อ่อนแอ (Sus ceptible cultivar) แต่สามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตเป็นปกติหรือใกล้เคียงปกติ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าการเจริญทางด้านความสูง ปริมาณปมและกลุ่มไข่ของฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 ไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์แป้นสีทอง อาจเป็นผลมาจากการผสมเปิดของเมล็ดพันธุ์ฝรั่งและอายุของต้นตอฝรั่งที่นำมาศึกษา Metinee (2010) ได้รายงานไว้ ถึงฝรั่งสายพันธุ์ใหม่ที่เหมาะสมในการสร้างสายพันธุ์ทนทานไส้เดือนฝอย คือ พันธุ์ โอกินาวา(HORT-R1) และพันธุ์ 'Xa'li' โดยมีลักษณะพันธุกรรมในเชิงปริมาณ แต่สามารถเกิดความแปรปรวนต่อความทนทานไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งเมล็ดฝรั่งที่ได้จากการผสมเปิดตามธรรมชาติมีโอกาสที่จะเกิดความแปรปรวนขึ้นได้ และมีรายงานศึกษาการเจริญเติบโตของต้นกล้าฝรั่ง *Psidium Friedrichsthalianum* ไว้ว่ามีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น และระบบรากในช่วงอายุ 90 วันขึ้นไปของต้นกล้าเพาะเมล็ด (Sánchez-Urdaneta et al., 2010) สอดคล้องกับการทดลองที่ต้นตอฝรั่งมีอายุอยู่ในช่วงการเจริญเติบโต ซึ่ง Khanokwan (2010) ได้รายงานไว้ว่า อายุของต้นตอฝรั่งพันธุ์โอกินาวา (HORT-R1) จากการเพาะเมล็ดมีผลน้อยต่อการแสดงออกของความทนทาน และเมื่อวัดขนาดปมฝรั่ง KU-Guard No.1 มีขนาดปมเล็กกว่ามีระบบรากที่มากกว่า การแตกรากแขนงและรากใต้ปมเจริญได้ตามปกติ ระบบการลำเลียงดี พืชมี xylem vessel จำนวนมาก รวมทั้งมีโครงสร้างเนื้อเยื่อรากที่แข็งแรง ทำให้รากปมที่เกิดขึ้นขัดขวางการลำเลียงน้ำ แร่ธาตุ และ hormone ได้เพียงบางส่วน ส่วนฝรั่งพันธุ์แป้นสีทองมีโครงสร้างเนื้อเยื่อรากอ่อนแอและระบบรากที่ไม่สมบูรณ์ การแตกรากแขนงน้อย ปริมาณปมและกลุ่มไข่ที่ตรวจนับได้น้อยกว่า แต่ขนาดปมมีขนาดใหญ่เกิดปมเดี่ยวๆและปมต่อเนื่องชัดเจน จึงทำให้น้ำแร่ธาตุ และ hormone ที่จำเป็นต่อการแตกรากใหม่ถูกดึงไปใช้บริเวณรากปมเพิ่มสูงขึ้น สอดคล้องกับ Somchai et al. (2009) ได้รายงานว่า ความต้านทานของรากกิ่งตอนฝรั่ง 4 สายพันธุ์ในสภาพแปลงทดลองพันธุ์ TH 16 (KU-Guard No.1) มีความต้านทานปานกลาง ระดับการเกิดโรครากปมเฉลี่ย 2.25 แต่ในสภาพโรงเรือนทดลอง TH 16 มีความต้านทานระดับต่ำมีระดับการเกิดปม 4.00 เส้นผ่าศูนย์กลางรากปมมีขนาด 0.92 มม. ฝรั่งแป้นสีทองปม 1.26 มม. แต่ในสภาพแปลงผลิตของเกษตรกรในจังหวัดเพชรบุรีฝรั่งพันธุ์ TH 16 มีความต้านทานสูงระดับการเกิดโรครากปมเฉลี่ย 0.75 แต่มีความแตกต่างจากของ Metinee (2010) ที่ได้รายงานไว้ว่า ฝรั่งพันธุ์ไทย, HORT-R1, 'Xa'li' และ อินเดีย มีจำนวนปมและกลุ่มไข่น้อยจากฝรั่งทั้งหมด 8 พันธุ์ (ลูกผสมตัวเอง) อายุ 11 เดือนที่ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ และสอดคล้องกับ Carneiro et al. (2007b) ได้ทำการคัดเลือกฝรั่ง 4 สายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อไส้เดือนฝอย *M. mayaguensis* และเป็นต้นตอทาบกิ่งกับพันธุ์การค้า พบว่า *P. friedrichsthalianum* และ *P. cattleyanum* มีน้ำหนักรากและการแตกรากใหม่สมบูรณ์ดีกว่าสายพันธุ์อื่นที่ทดสอบ Rahman et al. (2008) พบฝรั่ง 3 พันธุ์มีความต้านทานโดย *P. littoralle* var. *longipes* มีการแตกรากใหม่อยู่ในเกณฑ์ดีน้ำหนักรากเท่ากับ 7.90 กรัม และมีกลุ่มไข่ ปริมาณปมน้อยที่สุด การทดสอบคัดเลือกพันธุ์ แสดงให้เห็นความแตกต่างที่แสดงออกทางกายภาพของฝรั่งทั้งสองสายพันธุ์จึงนำไปสู่การศึกษาเนื้อเยื่อราก โดยเนื้อเยื่อรากฝรั่งที่ศึกษามีลักษณะเป็นการเจริญขั้นที่สองของรากพืช และพบข้อแตกต่างของ vessel member ในเนื้อเยื่อรากฝรั่งทั้ง 2 สายพันธุ์จึงมีผลต่อการเจริญเติบโตและการแตกรากใหม่ Tiemjai (1999) ได้รายงานไว้ว่า การเจริญขั้นสองของรากพบมากในพืชใบเลี้ยงคู่และจิมโนสเปิร์ม เกิดขึ้นโดยเกิดการแบ่งตัวของ cambium ซึ่งเกิดมาจาก procambium ที่ไม่ได้เปลี่ยนสภาพไปและอยู่ระหว่าง primary phloem และ primary xylem จากนั้น cambium ที่อยู่รอบ phloem จึงเกิดการแบ่งตัวก่อนและเกิด secondary xylem ซึ่งมี vessel member เป็นเนื้อเยื่อหนึ่งใน xylem มีหน้าที่ในการลำเลียงน้ำและเกลือแร่พร้อมทั้งมี fiber-tracheid และ libriform fiber ทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงหรืออาจจะเก็บสะสมอาหารได้มากขึ้น ต่อมา cambium จะถูกดันออกไปด้านนอกแบ่งตัวแบบขนานเกิดเป็น secondary phloem และ xylem ทำให้รากกว้างขึ้นมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นและดันชั้น cortex ออกไปทางด้านนอกติดกับชั้น epidermis

ทำให้เกิดเป็นลักษณะวงปีของรากเมื่ออายุมากขึ้น จึงส่งผลให้ต้นฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 ที่พบจำนวนของ xylem vessel มากกว่าพันธุ์แป้นสีทอง 3 เท่า มีการเจริญทางด้านความสูงได้ดีและระบบรากมีความสมบูรณ์อย่างเห็นได้ชัด รวมทั้งขนาดปมที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายมีขนาดเล็กกว่าอาจจะเป็นผลมาจาก fiber ทั้งสองชนิดที่ทำให้รากฝรั่ง KU-Guard No.1 มีความแข็งแรงและเหนียวกว่ารากฝรั่งแป้นสีทองขนาดปมที่ขยายได้อย่างจำกัด จึงเกิดปมเดี่ยวขนาดเล็ก ๆ และอาจจะเกิดหรือไม่เกิดปมต่อเนื่อง (figer-like gall) ได้ทั้งสองลักษณะ นอกเหนือจาก vessel member ที่ช่วยในการเจริญเติบโต พืชจะมีโครงสร้างเนื้อเยื่อเซลล์อื่น ๆ ที่ช่วยในการป้องกันตัวเองเพื่อลดหรือยับยั้งเชื้อก่อโรคให้ต้นพืชเติบโตได้ตามปกติ โดยจะมีเซลล์ vessel parenchyma, tylose, gum resin และสารอื่นๆเข้ามาเกี่ยวข้อง ในปี 1986 Kim. et al. ได้รายงานลักษณะการเกิด syncytia ที่เกิดจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *Hetrodera glycines* ในพืชอาศัย พบว่าในพืชอาศัยบางชนิด syncytia จะเกิดในชั้นของ vascular bundle หรือบริเวณชั้น cortex แต่ไม่เกิดใน phloem และ xylem เกิดบริเวณรอบ ๆ ท่อลำเลียงแทน เป็นเพราะผนังเซลล์ของท่อลำเลียงน้ำแร่ธาตุหนา และสารอาหารมีการเปลี่ยนแปลงต่ำอาจจะเป็นลักษณะทางพันธุกรรมของพืชที่ทำให้ความรุนแรงในการเข้าทำลายน้อยลง Sun et al. (2006) ได้ศึกษาการป้องกันตัวเองของพืชเมื่อถูกเชื้อเข้าทำลาย โดยพบว่าพืชจะสร้าง tyloses ในเซลล์ xylem vessel ซึ่งสิ่งแวดล้อมจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงและการพัฒนาของ tyloses และพบว่าในบริเวณยอด tyloses จะพัฒนาได้รวดเร็วไปมีผลต่อการเคลื่อนที่ของเชื้อโรคและการซ่อมแซมแผลของพืช แต่ tylose จะถูกยับยั้งกระบวนการเกิดขึ้นเมื่อไส้เดือนฝอยเข้าทำลายพร้อมกับเชื้อรา *Fusarium* spp. เพราะเชื้อราจะเข้าทำลาย vascular tissue ในส่วนของ xylem elements (Karssen and Moens, 2006) นอกจากนี้มีรายงานถึง gum resin ซึ่งเป็นสารจากพืชชนิดหนึ่งที่สร้างเพื่อวัตถุประสงค์คล้ายคลึงกับ tylose โดย Rajput et al. (2009) ได้ศึกษา gum resin ที่สร้างใน xylem ของสะเดาที่ตอบสนองต่อการเข้าทำลายของเชื้อราที่ลำต้น โดยพบว่าเส้นใยเชื้อราจะเจริญเข้าสู่ท่อ xylem vessel และ parenchyma ต้นพืชจะสร้างสารจำพวก gum ออกมายับยั้งการเจริญของเส้นใย พืชตระกูลสะเดาถ้ามีการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค เซลล์ parenchyma และ xylem จะแสดงอาการชัดเจนและการสะสมแป้ง โปรตีน ไขมัน ในเซลล์ parenchyma จะลดลง มีการสะสมสารในกลุ่ม phenolics สูงขึ้น อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าเซลล์เนื้อเยื่อรากพืชทุกเซลล์มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของต้นพืชเพื่อการเจริญเติบโต โดยเฉพาะพืชที่ประสบปัญหาโรครากปมถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายราก Rahman (2003) ได้รายงานไว้ ในการควบคุมโรครากปมจากไส้เดือนฝอย ถ้าระบบรากมีความแข็งแรงจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตและลดผลกระทบจากไส้เดือนฝอยช่วยเสริมสร้างความทนทานให้กับพืชได้

สรุป

ฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 ที่ 30 และ 90 วัน หลังจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* เกิดโรครากปมมากเช่นเดียวกับพันธุ์แป้นสีทอง แต่จะแสดงให้เห็นถึงความทนทาน(Tolerant cultivar) ทางกายภาพที่ระดับเหนือดินและความสมบูรณ์ของระบบรากได้ดีกว่าฝรั่งพันธุ์แป้นสีทอง(Susceptible cultivar) ฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 ที่ปลูกเชื้อมีการเจริญของระบบรากในระดับ 4 ส่วนฝรั่งพันธุ์แป้นสีทองการเจริญของระบบรากในระดับ 2 และลักษณะทางกายวิภาคของเนื้อเยื่อรากเป็นการเจริญขั้นที่สองของพืช โดยฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 มีการเรียงตัวของเซลล์ไม่เป็นระเบียบ ขนาดเซลล์มีขนาดเล็กใหญ่ปะปนกันในเนื้อเยื่อและพบจำนวน xylem vessel จำนวนมากกว่าฝรั่งแป้นสีทอง ดังนั้นจากการเจริญทางกายภาพที่แสดงออกของฝรั่งพันธุ์ KU-Guard No.1 มีความทนทานต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม โดยไส้เดือนฝอยสามารถเข้าสู่รากพืชเจริญครบชีพจักรได้ แต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการแตกแขนงราก การเจริญเติบโตของต้นฝรั่งเป็นปกติ จึงเหมาะสมที่จะนำไปปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อสร้างพันธุ์ต้านทานโรคไส้เดือนฝอยรากปม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ภาควิชาโรคพืชและภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่สนับสนุนห้องปฏิบัติการเครื่องมือ การทดลองและโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Almeida, E. J. de., S. J. M. dos and Martins 2009. Resistance of guava and araca to *Meloidogyne mayaguensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 44(4): 421-423.

Alpizar, E., H. Etienne and B. Bertrand. 2006. Intermediate resistance to *Meloidogyne exigua* root- knot nematode in *Coffea arabica*. **Crop Protection** 26: 903-910.

Carneiro, R. M. D. C. B. G., Gomes and R. G., Carneiro. 2007a. Management strategies of *Meloidogyne mayaguensis* the major root-knot nematodes parasitizing guava in Brazil. **Genéticose Biotecnologia**: 70 849-979.

_____, P. A. Cirotto., A. P. Quintanilha., D. B. Silva and R. G. Carneiro. 2007b. Resistance to *Meloidogyne mayaguensis* in *Psidium* spp.accessions and their grafting compatibility with *P. guajava* cv. paluma. **Fitopatologia Brasileira** 32(4): 281-284.

El-Borai, F. E. and L. W. Duncan. 2005. Nematode parasites of subtropical and topical fruit tree crops, pp. 467-492. *In* M. Luc., R. A. Sikora and J. Bridge, eds. **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. chapter 12.CABI Publishing, UK.

Hang, YE., J. Ke-gong., L. Guo-jie., W. Wen-jun. and Z. Li-xin. 2009. Resistance mechanisms of *Prunus* rootstocks to root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Journal of Fruits** 64(5): 295-303.

Hussey, R. S. and G. J. W. Janssen. 2002. Root-knot nematode: *Meloidogyne* species, pp. 43-70. *In* J. L. Starr, R. Cock and J. Bridge, eds. **Plant Resistance to Parasittic Nematode**. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Karssen, G. and M. Moens. 2006. Effects of Meloidogyne on host susceptibility, pp. 87 *In* Perry, R. and M. Moens., eds. **Plant Nematology**. CABI Publishing, UK.

Khanokwam J. 2010. Guava “cv. Okinawa” tolerance to root-knot nematode. Special problem Plant Pathology, B.S. Kasetsart University. (in Thai).

Kim, Y. H, K. S. Kim and R. D. Riggs. 1986. Morphological characteristics of Syncytia in susceptible host Infected by the soybean cyst nematode. **Cytology and Histology** 76: 913-917.

Metinee, P. 2010. **An inheritance of root- knot nematode tolerance trait in guava (Psidium guajava L.).**M.S. Thesis, Kasetsart University. (in Thai).

Office of Agricultural Economics. 2007. **Guava surveys reports 2007**. 31 p. (in Thai).

Pommer, C. V and K. R. N. Murakami. 2009. Breeding guava (*Psidium guajava* L.), pp. 83-120. *In* Jain, S. M. and P. M. Priyadarshan., eds. **Breeding Plantation Tree Crop**. Springer Science, USA.

Poowadol, P. 2000. **Structure plant tissue**.Thai watana panich Publishing, Bangkok. 57 p. (in Thai).

Rajput, K. S., G. V. Sanghi., R. D. Koyani and K. S. Kao. 2009. Anatomical changes in the stems of *Azadirachta indica* (Meliaceae) infected by pathogenic fungi. **J.IAWA** 30(1): 27-36.

Rahman, L. 2003. Root knot diseases and its control. **NSW Agriculture: Agfact AB** (1): 1-10.

Rahman, M. Abd., Y. Najah and M. B. Kmikalsum. 2008. Preliminary screening for *Meloidogyne Incognita* resistence in selected Psidium species. **Journal Tropical Agriculture and Food Science** 36(2):197- 204.

Sánchez-Urdaneta, A. B., C. Colmenares., D. Esparza., M. Marin and Z. Viloria. 2010. Root growth and Development of 'Cas' guava (*Psidium friedrichsthalianum* berg-nied.) seedlings during nursery Stage, pp.369-374. *In* Rohde. W. and G. Fermin., eds. **Proceeding of The Second International Symposium on Guava and Other Myrtaceae.** ISHS, Acta Hort. 849.

Somchai, S. 2008. **Controls plant parasitic nematode**. Deparment of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University. 80p. (in Thai).

_____, U. Boonprakob., N. Farungsang., A. Khun-in and S. Chuewongsakun. 2009. **Report of research project 2009 KU**. 13p. (in Thai).

Sun, Q., T. L. Rost and M. A. Matthews. 2006. Pruning- induced tylose deverelopment in stems of current- year shoot of Vitis vinifera (Vitaceae). **American Journal of Botany** 93(11): 1567–1576.

Thaipong, K. and U. Boonprakob. 2005. Genetic and environmental variance components in guava fruit qualities. **Sci Hort**, 104: 37- 47.

_____, S. Sukhakul and U. Boonprakob. 2009. HORT-D1: A new fresh fruit consumption guava and HORT-R1: A root-knot nematode tolerant rootstock guava. **Khon Kaen AGR. J.** 37: 67-70.

Tiemjai, K. 1999. **Plant anatomy**. Kasetsart University Publishing, Bangkok. 308p. (in Thai).