

ความเกี่ยวข้องของราในการแข่งขันเพื่อก่อโรคบนผลลองกองหลังการเก็บเกี่ยว
Fungi Involved in Competitive Disease on Postharvest Longkong

นवलวรรณ ฟาร์รุงsang^{1,3} อุดม ฟาร์รุงsang² และ ญาณี มั่นอัน¹
Nuanwan Farungsang^{1,3}, Udom Farungsang² and Yanee Munon¹

Abstract

Shelf-life as well as long-distance export destination of longkong (*Lansium domesticum*) commodity has been troubled by problematic fruit abscission and fruit rot after harvest. Postharvest physiological effort has been put in order to cope with these problems. A high frequency of postharvest pathogens, *Phomopsis* spp. were detected in contrast to a very low level of either *Colletotrichum* spp. (*gloeosporioides* group) or *Lasiodiplodia* sp. bearing with healthy longkong fruit peel tissue. This experiment, we investigated the connection between colonization of healthy tissue and pathogenicity of these fungi in the commodity of southern part of Thailand. Longkong fruit peel (3x3 mm²) separated from healthy and diseased tissue were determined via tissue transplanting technique using potato carrot agar supplemented with 300-ppm amoxicillin. The results demonstrated that species of *Colletotrichum* were detected mainly, while, *Lasiodiplodia* sp. was found only in association with advance margin of diseased tissue. *Phomopsis* spp., whereas, were predominant on healthy tissue. Additionally, isolation of *Phomopsis* spp. from diseased tissue was noticeably reduced in the samples with high level of *Colletotrichum* spp. and *Lasiodiplodia* sp. It was indicated that *Colletotrichum* spp. and *Lasiodiplodia* sp. were significant pathogens causing postharvest fruit rot on longkong. *Phomopsis* spp. occupied a relatively high ratio of fruit surface, however, they were comparatively poor competitors for pathogenicity.

Keywords: fruit drop, fruit rot, *Lansium domesticum*, postharvest disease

บทคัดย่อ

ผลหลุดร่วงและโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวเป็นอุปสรรคต่ออายุการเก็บรักษารวมทั้งการส่งออกผลิตผลลองกองไปยังที่ห่างไกล กำลังสมองและทรัพยากรมากมายได้ทุ่มเทลงไปในการศึกษาทางด้านสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อแก้ปัญหาที่ *Phomopsis* spp. เป็นสาเหตุโรคหลังเก็บเกี่ยวที่มีความถี่ในการตรวจพบสูง ตรงข้ามกับ *Colletotrichum* spp. (*gloeosporioides* group) หรือ *Lasiodiplodia* sp. ซึ่งมีความถี่ของการตรวจพบต่ำมากในเนื้อเยื่อเปลือกของผลลองกองที่ไม่ปรากฏอาการของโรค การทดลองนี้ คณะผู้วิจัยได้ทำการสำรวจความสัมพันธ์ระหว่างราที่ตรวจพบในเนื้อเยื่อปกติกับราที่ตรวจพบในเนื้อเยื่อที่เป็นโรคในผลิตผลลองกองจากภาคใต้ของประเทศไทย โดยการนำเนื้อเยื่อเปลือกของผล (3x3 mm²) จากส่วนที่ไม่ปรากฏอาการของโรคและจากส่วนที่เป็นโรคมาทำการตรวจหาราด้วย tissue transplanting technique โดยใช้อาหาร potato carrot agar ที่เติม amoxicillin อัตรา 300 ppm ผลการทดลองแสดงว่า *Colletotrichum* spp. มีความถี่ของการตรวจพบส่วนใหญ่ในเนื้อเยื่อเป็นโรค ส่วน *Lasiodiplodia* sp. ตรวจพบเฉพาะในเนื้อเยื่อเป็นโรคเท่านั้น สำหรับ *Phomopsis* spp. มีความถี่ของการตรวจพบในเนื้อเยื่อปกติสูงกว่าเนื้อเยื่อเป็นโรค นอกจากนี้ ยังพบว่าความถี่ของการตรวจพบ *Phomopsis* spp. ในเนื้อเยื่อเป็นโรคลดลงอย่างมีนัยสำคัญในตัวอย่างที่มีการตรวจพบ *Colletotrichum* spp. และ *Lasiodiplodia* sp. สูง เป็นการชี้ให้เห็นว่า *Colletotrichum* spp. และ *Lasiodiplodia* sp. เป็นสาเหตุที่สำคัญของโรคผลเน่าของลองกองหลังการเก็บเกี่ยว *Phomopsis* spp. เป็นราที่ครอบครองพื้นที่ผิวของผลลองกองด้วยสัดส่วนที่สูงกว่ามาก แต่มีความสามารถในการแข่งขันต่ำกว่าในการทำให้เกิดโรคเมื่อเทียบกับ *Colletotrichum* spp. และ *Lasiodiplodia* sp.

คำสำคัญ: ผลหลุดร่วง ผลเน่า ลองกอง โรคหลังเก็บเกี่ยว

¹ ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

¹ Central Laboratory and Greenhouse Complex, Faculty of Agriculture at Kamphaengsaen, Kasetsart University, Nakhon Pathom, 73140

² ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

² Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaengsaen, Kasetsart University, Nakhon Pathom, 73140

³ ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

³ Postharvest Technology Innovation Center, Kasetsart University, Nakhon Pathom, 73140

คำนำ

ผลของเป็นไม้ผลประจำถิ่นของไทยที่มีศักยภาพด้านการส่งออกสูง การหลุดร่วงของผลและโรคผลเน่าเป็นปัญหาหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญและเป็นอุปสรรคอย่างยิ่งต่อการเก็บรักษาผลิตผลตลอดจนการส่งออกของผลไปยังปลายทางที่ห่างไกล งานวิจัยที่ผ่านมา แม้จะมีการตรวจพบการเจริญของราหลายสกุลบนผลของผลที่หลุดร่วงหลังการเก็บเกี่ยวไม่ว่าจะปรากฏอาการของโรคผลเน่าหรือไม่ก็ตาม แต่ยังไม่สามารถพิสูจน์ได้แน่ชัดว่าราสกุลใดเป็นสาเหตุที่สำคัญของโรครวมทั้งปัญหาการหลุดร่วง (นวลวรรณ และคณะ, 2557; อรวรรณ, 2558) ในขณะที่ราสาเหตุโรคพืชหลายสกุลโดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Phomopsis* spp. มีความถี่ของการตรวจพบสูงมาก (ประมาณ 45-88%) ในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆของผลของผลแก่ที่ไม่ปรากฏอาการของโรค ตรงข้ามกับรา *Colletotrichum gloeosporioides* group, *Lasiodiplodia* sp. และ *Phyllosticta* spp. ซึ่งมีความถี่ของการตรวจพบต่ำกว่าอย่างชัดเจน (ประมาณ 0-15%) ในเนื้อเยื่อส่วนเดียวกัน (นวลวรรณ และคณะ, 2559) รายงานนี้เป็นการพิสูจน์สมมุติฐานความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ของการตรวจพบกับนัยสำคัญของการเป็นสาเหตุของโรคผลเน่าของราที่ตรวจพบบนผลของผลหลังการเก็บเกี่ยว

อุปกรณ์และวิธีการ

ผลิตผลที่ใช้ในการวิจัย: ซ่อผลของผลแก่อายุประมาณ 14 สัปดาห์หลังดอกบาน จากแหล่งผลิตภาคใต้ของประเทศไทย สุ่มตัวอย่างจากตลาด ครั้งละ 1 ตัวอย่าง แต่ละครึ่งห่างกัน 1 สัปดาห์ จำนวนผลิตผลที่ใช้ในการทดลองคือครั้งละ 2 กิโลกรัม วางผลิตผลในสภาพอุณหภูมิห้อง (28-30 °C)

การสุ่มเนื้อเยื่อผลเพื่อตรวจหารา: สุ่มผลิตผลที่ไม่ปรากฏอาการของโรคจากซ่อหลังจากได้รับตัวอย่างประมาณ 24-48 ชั่วโมง และทำการสุ่มเนื้อเยื่อเปลือกขนาด 3x3 mm² จากบริเวณโดยรอบผล ผลละ 1 ชิ้น สำหรับผลเป็นโรค สุ่มผลที่มีอาการแผลสีน้ำตาลบริเวณรอบผล ซึ่งปรากฏให้เห็นหลังจากได้รับตัวอย่าง 5 วัน ทำการเลือกผลจำนวน 1 ผล/ผล หลังจากนั้นสุ่มเนื้อเยื่อเปลือกขนาด 3x3 mm² จำนวน 1 ชิ้น จากบริเวณ advance margin ของโรค จำนวนตัวอย่างที่ใช้ในแต่ละการทดลองคือ 20 ผล

การแยกราโดย tissue transplanting technique: นำเนื้อเยื่อที่สุ่ม มาผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวโดยการแช่ใน 1% NaOCl โดยใช้ความเร็ว 110 rpm. ด้วยเครื่อง Orbital Shaker, OS-20, Boeco, Germany เป็นเวลา 5 นาที ล้าง 2 ครั้งด้วยน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้ว สะเด็ดน้ำโดยการวางใน Petri dish ที่ฆ่าเชื้อแล้วและวางเรียงในสภาพปลอดเชื้อ หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อเปลือกแต่ละชิ้นวางบนอาหาร potato carrot agar ที่เติม amoxicillin 300 ppm. ใน Petri dish ขนาด 60x15 mm² incubate ในสภาพอุณหภูมิ 26-28°C และให้แสงด้วย fluorescent lamp ร่วมกับ near ultraviolet lamp เป็นเวลา 12 ชั่วโมง/วัน ติดตามการพัฒนาและจำแนกสกุลของราโดยใช้ colonial characteristic ร่วมกับ fruiting structures ของราที่ศึกษาด้วย stereo microscope และ compound microscope

ผล

ในสภาพอุณหภูมิห้อง (28-30°C) อาการผลเน่ามักเริ่มปรากฏบนผลของผลหลังจากสุ่มตัวอย่างจากตลาดเป็นเวลา 5 วัน ราที่แยกได้จากผลของผลที่สุ่มตัวอย่างมาศึกษาส่วนใหญ่คือ คือ *Colletotrichum* spp. ในกลุ่ม *gloeosporioides* group, *Lasiodiplodia* sp. และ *Phomopsis* spp. โดยตรวจพบรา *Colletotrichum* spp. ในเนื้อเยื่อ advance margin ของโรคมากกว่าเนื้อเยื่อปกติอย่างชัดเจน พบรา *Lasiodiplodia* sp. เฉพาะจากเนื้อเยื่อ advance margin ของโรค (ไม่พบบนเนื้อเยื่อปกติ) ขณะที่รา *Phomopsis* spp. มีแนวโน้มการตรวจพบในเนื้อเยื่อปกติสูงกว่าเนื้อเยื่อ advance margin ของโรค (Table 1, Fig. 1) การตรวจไม่พบรามีโอกาสสูงในเนื้อเยื่อเปลือกที่ไม่ปรากฏอาการของโรค

วิจารณ์ผล

ราที่ตรวจพบบนผลของผลที่สุ่มตัวอย่างมาศึกษาเป็นราในกลุ่มสาเหตุโรคหลังเก็บเกี่ยวที่สำคัญของไม้ผลเขตร้อน โดยมีร้อยละของการตรวจพบ *Phomopsis* spp. สูงที่สุด (Table 1) ร้อยละของการตรวจพบรา *Colletotrichum* spp. หรือ *Lasiodiplodia* sp. ในเนื้อเยื่อ advance margin ของโรคที่สูงกว่าในเนื้อเยื่อปกติ แสดงให้เห็นว่าราทั้งสองสกุลเป็นสาเหตุที่สำคัญของโรคผลเน่าหลังเก็บเกี่ยวของผลของผล ตรงข้ามกับร้อยละของการตรวจพบรา *Phomopsis* spp. ที่ลดลงอย่างชัดเจนในสถานการณ์ที่เนื้อเยื่อ advance margin ของโรคมีร้อยละของการตรวจพบรา *Colletotrichum* spp. หรือ *Lasiodiplodia* sp. สูงขึ้นเมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ (Sample 1, 2, และ 4) (Table 1, Fig. 1) นอกจากนี้ ร้อยละของการตรวจพบรา

Phomopsis spp. มีความใกล้เคียงกันเมื่อร้อยละของการตรวจพบรา *Colletotrichum* spp. หรือ *Lasiodiplodia* sp. ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเนื้อเยื่อ advance margin ของโรคกับเนื้อเยื่อปกติของผลลองกอง (Sample 3) (Fig. 1)

ผลการวิจัยดังกล่าว แสดงให้เห็นถึงการครอบครองพื้นที่ภายในเปลือกของผลลองกองโดยรา *Colletotrichum* spp., *Lasiodiplodia* sp. และ *Phomopsis* spp. ก่อนที่อาการของโรคผลเน่าจะปรากฏดังที่ได้มีการพิสูจน์และรายงานไว้ (Prusky and Lichter, 2007; Prusky et al., 2013) สำหรับงานวิจัยครั้งนี้ *Phomopsis* spp. มีสัดส่วนการครอบครองพื้นที่บนผลลองกองสูงกว่า แต่มีความสามารถหรือการแข่งขันในการก่อให้เกิดโรคต่ำกว่ารา *Colletotrichum* spp. และ *Lasiodiplodia* sp. และเป็นสาเหตุของโรคผลเน่าของลองกองในสถานการณ์ที่ปราศจากการแข่งขันของรา *Colletotrichum* spp. และ *Lasiodiplodia* sp. อนึ่ง หากพิจารณาอย่างละเอียดปฏิบัติการผสมผักระหว่างร้อยละของการตรวจพบรา *Phomopsis* spp. ในเนื้อเยื่อ advance margin ของโรค กับเนื้อเยื่อเปลือกของผลที่ไม่ปรากฏอาการของโรค (Table 1) น่าจะเป็นข้อมูลที่สนับสนุนการครอบครองพื้นที่ผิวของผลลองกองของราสกุลนี้โดยไม่ปรากฏอาการของโรคผลเน่า (endophytic colonization) นอกจากนี้ การตรวจไม่พบรา *Lasiodiplodia* sp. ในเนื้อเยื่อปกติโดยรอบผล ยังสอดคล้องกับผลการทดลองที่เคยรายงานไว้ (นวลวรรณ และคณะ, 2559)

Table 1 Fungi in association with healthy and diseased longkong fruit obtained from Southern part of Thailand

| Source [®] of fruit peel | Detection of fungus* (%) | | | | |
|-----------------------------------|--------------------------|------|------|------|------|
| | Coll | Lasi | Phom | Myce | None |
| Sample 1: Healthy | 5 | 0 | 65 | 5 | 25 |
| Diseased | 25 | 25 | 45 | 10 | 0 |
| Sample 2: Healthy | 0 | 0 | 80 | 20 | 0 |
| Diseased | 15 | 45 | 25 | 10 | 5 |
| Sample 3: Healthy | 5 | 0 | 70 | 25 | 5 |
| Diseased | 5 | 0 | 60 | 30 | 5 |
| Sample 4: Healthy | 0 | 0 | 50 | 10 | 40 |
| Diseased | 20 | 30 | 15 | 50 | 5 |

[®] Samples 1-3 were obtained from Surattani province (informed by the vender), sample 4 was obtained from a plantation located at Rangae district, Naratiwat province by the grower.

* Fungi detected on transplanted longkong fruit peel:
 Coll *Colletotrichum* spp. (*gloriosporioides* group),
 Lasi *Lasiodiplodia* sp.,
 Phom *Phomopsis* spp.,
 Myce Un-identified mycelium,
 None No fungal development was detected

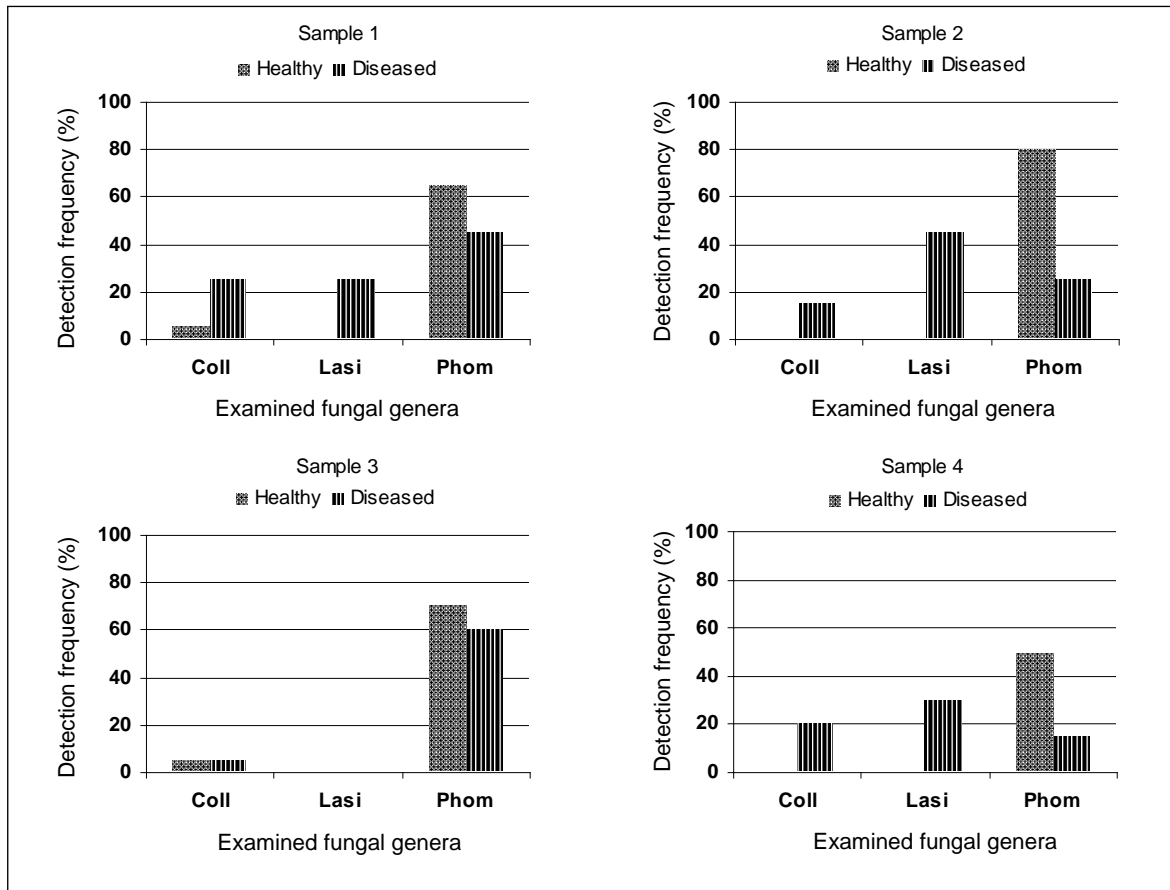


Figure 1 Percentages of *Colletotrichum* spp. (Coll), *Lasiodiplodia* sp. (Lasi), and *Phomopsis* spp. (Phom) detected bearing with healthy and diseased fruit peel of postharvest longkong.

สรุป

การตรวจพบรา *Colletotrichum* spp. (*gloriosioides* group), *Lasiodiplodia* sp. และ *Phomopsis* spp. ในเนื้อเยื่อปกติเป็นการยืนยันการวางรากฐาน quiescent infection ของราเหล่านี้ภายในเนื้อเยื่อเปลือกของผลลองกอง โดยรา *Colletotrichum* spp. และ *Lasiodiplodia* sp. เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคผลเน่าของลองกองหลังการเก็บเกี่ยว ในขณะที่ *Phomopsis* spp. เป็น latent infection อยู่ทั่วไปบนผลลองกอง และทำให้ลองกองเป็นโรคในสถานการณ์ที่ปราศจากการแข่งขันของรา *Colletotrichum* spp. และ *Lasiodiplodia* sp.

เอกสารอ้างอิง

นวลวรรณ พ้ารุ่งแสง, อุดม พ้ารุ่งแสง, อรวรรณ ปลื้มจิตร, ญาณิ มั่นอัน และ ศันสนีย์ ศิลปสุนทร. 2557. ราที่ตรวจพบบนผลลองกองที่หลุดร่วงจากพวงหลังการเก็บเกี่ยว: ตัวอย่างจากจันทบุรี. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 45(3/1พิเศษ):261-264.

นวลวรรณ พ้ารุ่งแสง, อุดม พ้ารุ่งแสง, จริ่งแท้ ศิริพานิช และ ญาณิ มั่นอัน. 2559. ราที่แอบแฝงบนผลลองกองหลังการเก็บเกี่ยว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 47(3 พิเศษ):245-248.

อรวรรณ ปลื้มจิตร. 2558. ผลของสารป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการผลิตเอทิลีนและการหลุดร่วงของผลลองกองหลังการเก็บเกี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Prusky, D. and A. Lichter 2007. Activation of quiescent infections by postharvest pathogens during transition from the biotrophic to necrotrophic stage. *FFMS Microbiol Lett.* 268:1-8.

Prusky, D. and A. Lichter 2008. Mechanisms modulating fungal attack in post-harvest pathogen interactions and their control. *Eur J Plant Pathol.* 121:281-289.

Prusky, D., N. Alkan, T. Mengiste and R. Fluhr. 2013. Quiescent and necrotrophic lifestyle choice during postharvest disease development. *Annu. Rew. Phytopathol.* 51:155-176.