Agricultural Sci. J. 41 : 1 (Suppl.) : 322-324 (2010) ว. วิทย. กษ. 41 : 1 (พิเศษ) : 322-324 (2553)

ความหลากหลายของเชื้อราในผลลำไยสด

Diversity of Moulds in Fresh Longan

ปิยะณัฐ ช่างเงิน[1,2], **อุราภรณ์ สอาดสุด**[1,2,3], **วสุ ปฐมอารีย์**[1], **ปริญญา จันทรศรี**[3] **และ เอกชัย ชูเกียรติโรจน์**[4]
Piyanat Chang-ngern[1,2], Uraporn Sardsud[1,2,3], Wasu Pathom-aree[1], Parinya Chantrasri[3] and Ekachai Chukeatirote[4]

Abstract

The objective of this study was to determine the diversity of moulds on harvested fresh longan for dried product preparation. Initially, fresh longan were collected from Chiang Mai in July 2007; the fungi were then isolated from pericarp, fruit, seed and stem-end by tissue transplanting technique and mould identification was performed based on morphological characteristics. A total of 121 isolates were obtained in which 83 isolates (68.59%) were from pericarp; 32 (26.45%) from fruit; and 6 (4.96%) from seed and stem-end, respectively. The mycobiota was dominated by *Lasiodiplodia* (30.60%), *Aspergillus* (14.10%), *Penicillium* (11.00%), *Xylaria* (14.10%), *Fusarium* (5.00%), *Rhizopus* (4.5%), *Pestalotiopsis* (4.5%) and *Trichoderma* (3.50%). Besides, unidentified fungi were also present and accounted for 11.60%.

Key word: longan, fungi, mould, diversity

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในผลลำไยสดที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมลำไยอบแห้ง ในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2550 ผู้วิจัยได้เก็บตัวอย่างผลลำไยสดจากโรงงานอบลำไยในจังหวัดเชียงใหม่ และแยกเชื้อราด้วยวิธี tissue transplanting โดยใช้ชิ้นส่วนของเปลือก เนื้อ เมล็ดและส่วนขั้วผล จากการทดลอง พบว่า สามารถแยกเชื้อราได้จำนวน 121 ไอโซเลต โดย 83 ไอโซเลต (68.59%) แยกได้จากเปลือก 32 ไอโซเลต (26.45%) จากเนื้อ และ 6 ไอโซเลต (4.96%) จากเมล็ดและขั้วผล และเมื่อทำการตรวจสอบลักษณะสัณฐานของโคโลนี และสปอร์ พบว่า เชื้อราที่แยกได้จัดอยู่ในจีนัส *Lasiodiplodia* (30.60%), *Aspergillus* (14.10%), *Penicillium* (11.00%), *Xylaria* (14.10%), *Fusarium* (5.00%), *Rhizopus* (4.5%), *Pestalotiopsis* (4.5%) และ *Trichoderma* (3.50%) นอกจากนี้ มีเชื้อราคิดเป็นร้อยละ 11.60 ที่ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้ด้วยวิธีดังกล่าว ผู้วิจัยกำลังศึกษาหาลำดับของ 18S rRNA genes เพื่อระบุชนิดของเชื้อที่ไม่สามารถจำแนกได้ด้วยวิธีการข้างต้น

คำสำคัญ ลำไย, เชื้อรา, ความหลากหลาย

คำนำ

ลำไย จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย แหล่งผลิตลำไยที่ใหญ่ที่สุดคืออยู่ทางภาคเหนือของประเทศไทย เช่นจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดลำพูน ผลิตผลที่ได้นอกจากจะเป็นที่นิยมบริโภคภายในประเทศแล้วยังเป็นสินค้าที่ส่งออกไปยังต่างประเทศในรูปของลำไยสด ลำไยอบแห้ง ลำไยกระป๋องและลำไยแช่แข็ง โดยมีแนวโน้มในการส่งออกเพิ่มขึ้นซึ่งในปี 2551

ประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกลำไยสดถึง168,286 ตันหรือคิดเป็นมูลค่ากว่า26,132 ล้านบาท (สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์, 2551) แต่การส่งออกลำไยไปต่างประเทศนั้นมักพบปัญหาลำไยเน่าเสียซึ่งอาจเป็นผลมาจากเชื้อรา ซึ่งติดมากับผลลำไยตั้งแต่ระยะติดช่อดอก (ธิดา,2535) หรือในระหว่างการเก็บเกี่ยว ดังนั้นการวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาเชื้อราที่ติดมากับผลลำไยหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งอาจเป็นสาเหตุในการทำให้ผลลำไยเน่าเสียระหว่างการส่งออก รวมทั้งหาแนวทางการป้องกันความเสียหายที่เกิดขึ้นจากเชื้อรา

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200
[1] Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200
[2] สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200
[2] Postharvest Technology Research Institute, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200
[3] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่
[3] Posthavest Technology Innovation Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200
[4] สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จ.เชียงราย 57100
[4] School of Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai 57100

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างลำไยสดที่นำมาทำการตรวจหาเชื้อทำการสุ่มจากลำไยสดที่เตรียมไว้สำหรับทำการอบแห้งในช่วงเดือนกรกฎาคม 2550 จากโรงงานอบแห้งลำไยในจังหวัดเชียงใหม่จากนั้นลำไยที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างมาฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวเพื่อกำจัดเชื้อราพวก epiphytes ด้วย ethanol 75% 1 นาที และ Clorox 5% 5 นาที จากนั้นทำการแยกเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting จากส่วนเปลือก เนื้อ เมล็ด และส่วนขั้วผล บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactic acid- Potato Dextrose ager (PDA-LA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-7 วัน นำเชื้อราที่ได้จากการแยกไปจำแนกด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยา และอนุชีววิทยาโดยใช้ยีนในตำแหน่ง28S rRNA และ 18S rRNA การหาลำดับเบสของ 28S rDNA (LSU) โดย OPERON primer LROR (5'-ACCCGCTGAACTTAAGC -3') และLR5 (5'TCCTGAGGGAAACTTCG -3') (Vilgalys et al., 1994) สำหรับเบสในตำแหน่ง ITS จะใช้ universal primer ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') และ ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC -3') (OPERON) (White et al., 1990) ในการเพิ่มปริมาณนิวคลีโอไทด์ Genomic DNA สร้าง Phyloginic Tree โดยใช้ Maximum Parsimony (MP) ร่วมกับ Neighber Joining (NJ) จะทำการ alignment ช่องว่าง(gap)และเบสในตำแน่งที่ขาดหายไปแบบเบสต่อเบส เปรียบเทียบและให้นำหนักใน transition และ transversion รวมไปถึงการrandom- addition sequence (Jewoon et al., 2002)

ผล

ผลจากการแยกเชื้อราจากตัวอย่างลำไยที่เตรียมเข้าเตาอบในช่วงเดือน กรกฎาคม 2550 ของจังหวัดเชียงใหม่ ด้วยวิธี tissue transplanting สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 121 ไอโซเลท จากนั้นนำเชื้อราที่ได้ไปทำการตรวจสอบลักษณะสัณฐานของโคโลนี และสปอร์เป็นเชื้อที่อยู่ในจีนัส *Aspergillus* (14.05%), *Penicillium* (10.74%), *Fusarium* (4.95%), *Rhizopus* (4.13%) และ *Trichoderma* (3.30%)สำหรับเชื้อที่ไม่สามารถจำแนกได้โดยวิธีทางสันฐานวิทยานั้นได้นำไปจัดจำแนกโดยวิธีทางอณูชีววิทยาจากตำแหน่ง ITS1 ITS2 5.8 gene และ 28S rDNA พบเป็นเชื้อในจีนัส *Lasiodiplodia* (30.57%), *Xylaria* (14.05%), *pestalotiopsis* (4.13%) และ *Trichoderma* (3.30%) นอกจากนี้ มีเชื้อราคิดเป็นร้อยละ 7.37 ที่ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้ด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น (Figure 1)

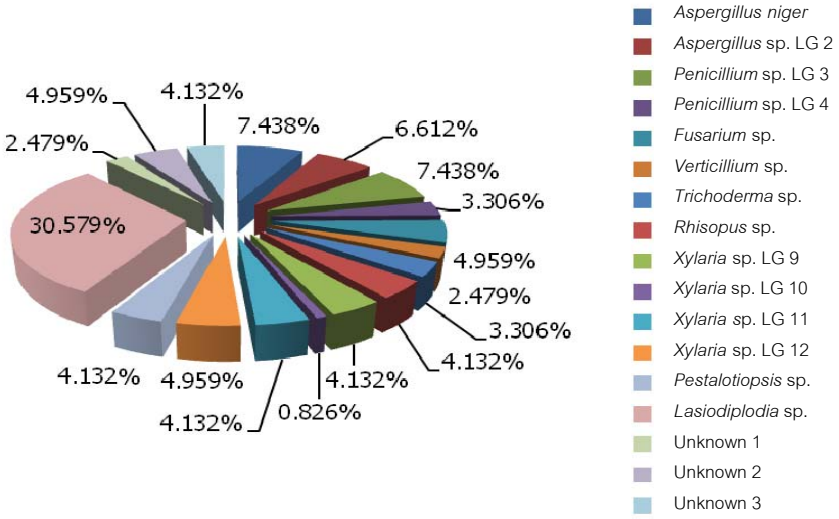

Figure 1 Percentage and species of fungi founded on fresh Longan fruit after morphological and molecular identification.

เชื้อจากผลลำไยได้ทั้งหมด 121 ไอโซเลต สามารถแยกได้จากส่วนเปลือกลำไย 83 ไอโซเลต (68.59%) ส่วนเนื้อ 32 ไอโซเลต (26.45%) และจากส่วนเมล็ดรวมขั้วผล 6 ไอโซเลต (4.96%) เมื่อแยกชนิดของเชื้อตามตำแหน่งที่ตรวจพบเชื้อจะได้ผลตามที่แสดงใน Figure 2

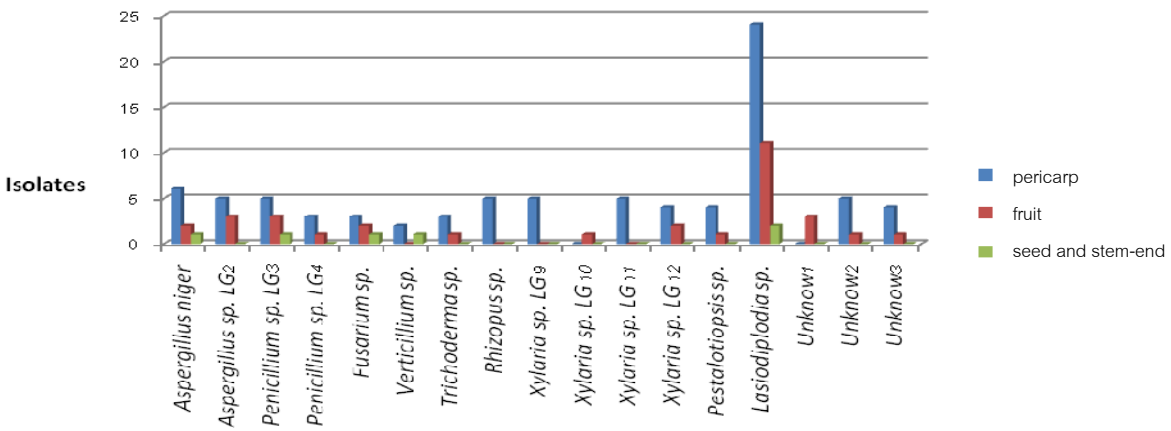

Figure 2 Species of fungi that isolated from pericarp, fruit, seed and stem-end

วิจารณ์และสรุป

เชื้อราที่ตรวจพบจากลำไยสดมากที่สุดคือเชื้อในจีนัส *Lasiodiplodia* (30.57%) รองลงมาคือจีนัส *Aspergillus* (14.05%), *Xylaria* (13.10%), *Penicillium* (10.74%), *Fusarium* (4.95%), *Pestalotiopsis* (4.13%), *Rhizopus* (4.13%) และ *Trichoderma* (3.30%) ตามลำดับ โดยบริเวณที่ตรวจพบเชื้อรามากที่สุดคือส่วนเปลือก รองลงมาคือส่วนเนื้อผล ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของธิดา (2535) ที่พบเชื้อ *Aspergillus niger, Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Pestalotiopsis* sp. ในดอกลำไยที่ร่วง และยังพบเชื้อดังกล่าวในผลลำไยร่วง แต่ในผลลำไยร่วงนั้นพบเชื้อ *Pestalotiopsis* sp. และ *Fusarium* sp. มากที่สุด ต่อมาในศักดิ์มนตรี (2537) ได้รายงานว่าพบ *Pestalotiopsis* sp. ที่ขั้วดอกมากที่สุดรองลงมาคือ *Curvoralia* sp. และ *Pestalotiopsis theobromae* งานวิจัยของ Suwannakood (2007); พบว่าเชื้อ *Lasiodiplodia* sp. และ *Pestalotiopsis* sp. ที่แยกจากส่วนเปลือก และขั้วผลของลำไยสดแล้วนำไปทดสอบ pathogenicity ต่อผลลำไยนั้นแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Lasiodiplodia* sp. และ *Pestalotiopsis* sp. มีความสามารถในการงอกเข้าไปในเนื้อผล และขั้วผลโดยตรง นอกจากนั้นแล้ว Sardsud et al., (1998) ได้รายงานเช่นกันว่า *Lasiodiplodia theobromae* และ *Pestalotiopsis* sp.จัดเป็นเชื้อราพวก endophytic สำหรับลำไยส่วนเชื้อราในจีนัส Xylaria จัดเป็นเชื้อก่อโรคในพืชอีกทั้งยังเป็นเชื้อในกลุ่ม endophytic ในพืชหลายชนิด

คำขอบคุณ

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และโครงการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ความหลากหลายทางชีวภาพ

เอกสารอ้างอิง

ธิดา ไชยวังศรี, 2535. โรคของผลลำไยพันธุ์ดอก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 134 หน้า.

สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์ กระทรวงพาณิชย์, 2551. รายงานปริมาณและมูลค่าการส่งออกลำไยอบแห้ง แยกรายประเทศ ปี 2547-2551. [ระบบออนไลน์].แหล่งที่มา http://agri.dit.go.th. (28 ตุลาคม 2551).

ศักดิ์มนตรี นาชัยเวียง, 2537. เชื้อราในช่อดอกและขั้วผลของลำไยพันธ์ดอ. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 110 หน้า.

Jeewon R., E. Liew and K.D. Hyde, 2002. Phylogenetic relationship of *Pestalotiopsis* and allied genera inferred form ribosomal DNA seqence and morphological charecters. Molecular Phylogenetica and Evolution. 25: 378-392.

Sardsud, V., C. Sittigul, U. Sardsud, and P. Chantrasri, 1998. Endophytic fungi in longan. ACIAR Proceedings. 81:147-152.

Suwanakood, P. (2007). Development of Fungal Fruit Rot Disease no Fruit Peel and Stem-End of Postharvested Longan(*Dimocarpus longan* Lour.) CV. DAW. Ph.D. THESIS. CHIANG MAI UNIVERSITY: 74

Vilgalys, R., J. S. Hopple, and D. S. Hibbett, 1994. Phylogenetic implications of generic concepts in fungal taxonomy: The impact of molecular systematic studies. Mycologica Helvetica. 6:73-91.

Whalley, A.J.S. (1996). The *Xylariaceous* way of life. Mycological Research.100: 897-922.

White T.J., T.D. Bruns., S. Lee and J. Taylor, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. San Diego: In: Innis M.A., D.H. Gelfland., J.J. Sninsky and T.J. White (Eds.). PCR protocols: a guide to methods and applications Academic Press.