บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การสำรวจและศึกษาอาการโรคผลลายของลำไย

1.1 การสำรวจโรคผลลายของลำไย

จากการสำรวจโรคผลลายของลำไย ในแหล่งปลูกลำไยของจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และจันทบุรีโดยเฉพาะพื้นที่ที่เคยมีการระบาดรุนแรงมาก่อน สวนที่พบการระบาดในจังหวัดเชียงใหม่ คือ สวนลำไยอำเภอพร้าว จากการสำรวจ สวนที่ 1 เมื่อวันที่ 21 ธันวาคม 2545 เป็นลำไยพันธุ์ดอ จำนวน 400 ต้น พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 50% และสวนที่ 2 วันที่ 29 มกราคม 2546 เป็นลำไยพันธุ์ดอ จำนวน 250 ต้น พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 60% และอำเภอฮอด จากการสำรวจ เมื่อวันที่ 26 ธันวาคม 2545 ลำไยพันธุ์ดอ จำนวน 215 ต้น พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 10% ส่วนในจังหวัดลำพูน พบที่อำเภอป่าซาง จากการสำรวจสวนที่ 1 เมื่อวันที่ 15 กรกฎาคม 2545 เป็นลำไยพันธุ์ดอ จำนวน 300 ต้น พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 20-30% สวนที่ 2 จำนวน 40 ต้น พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 100% และจังหวัดจันทบุรี พบการระบาดที่อำเภอสอยดาว และโป่งน้ำร้อน จากการสำรวจสวนที่ 1 เมื่อวันที่ 2 เมษายน 2545 เป็นลำไยพันธุ์ดอ จำนวน 200 ต้น พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 50% สวนที่ 2 เมื่อวันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2546 เป็นลำไยพันธุ์ดอ จำนวน 200 ต้น พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 90% (ตารางที่ 3) จึงเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาศึกษาต่อ

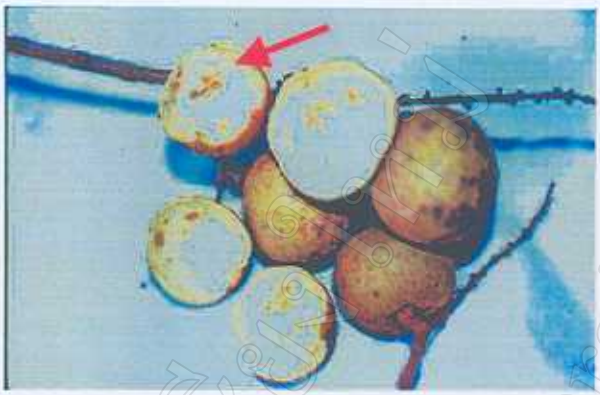
1.2 การศึกษาอาการผลลายของลำไย

นำตัวอย่างอาการผลลายจากสวนที่มีการระบาดของโรคในข้อ 1.1 มาบันทึกอาการ พบว่าที่ผิวของผลลำไยมีจุดสีดำ ขนาด 1-2 มิลลิเมตร บางจุดมีขนาดใหญ่เป็นปื้น กระจายอยู่ทั่วผล ทำให้ลำไยมีสีลายกระ ขาดคุณภาพที่จะนำไปจำหน่าย เมื่อแกะดูข้างในผล พบว่ามีมีปื้นสีดำเกิดขึ้นบริเวณผิวเปลือกด้านใน (ภาพที่ 5) บางผลมีอาการผลแตก (ภาพที่ 6) และมีเส้นใยของเชื้อราปกคลุม จึงได้นำมาแยกเชื้อสาเหตุต่อ

นอกจากนี้ การสังเกตความหนาของเปลือกยังพบว่า ลำไยผลปกติ ผลลาย และผลแตก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 99% โดยผลปกติมีเปลือกหนาที่สุด 0.92 มิลลิเมตร และผลแตกมีความหนาน้อยที่สุด คือ 0.52 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 พื้นที่การระบาดของโรคผลลาย และเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคของลำไยพันธุ์ดอ

ลำดับสวน	วัน เดือน ปี	สถานที่	จำนวนต้นที่สำรวจ	การเป็นโรค (%)/ช่อ	หมายเหตุ
1	2 เม.ย. 45	อ.โป่งน้ำร้อน จ.จันทบุรี	200	50	เป็นสวนที่ปลูกใหม่ อายุประมาณ 3 ปี
2	15 ก.ค. 45	อ.ป่าซาง จ.ลำพูน	300	20-30	ผลที่ลายจะแสดงอาการก้นเขียวร่วมด้วย
3	15 ก.ค. 45	อ.ป่าซาง จ.ลำพูน	40	100	ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เลย
4	21 ธ.ค. 45	อ.พร้าว จ.เชียงใหม่	400	50	
5	26 ธ.ค. 45	อ.ฮอด จ.เชียงใหม่	215	10	
6	29 ม.ค. 46	อ.พร้าว จ.เชียงใหม่	250	60	
7	1 ก.พ. 46	อ.โป่งน้ำร้อน จ.จันทบุรี	200	90	ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เลย เจ้าของสวนมีการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อรา carbendazim และ mancozeb เป็นระยะๆ แต่ก็ไม่สามารถควบคุมโรคได้



ภาพที่ 5 ผลลำไยที่แกะเปลือกมีจุดสีดำเกิดขึ้นที่ผิวเปลือกด้านใน

ภาพที่ 6 ลักษณะอาการผลแตกของลำไย

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบความหนาของเปลือกลำไยผลปกติ ผลลาย และผลแตก

ลักษณะผล*	ความหนาของเปลือก (มิลลิเมตร)**
ปกติ	0.92 a***
ผลลาย	0.59 b
ผลแตก	0.52 c
LSD (p = 0.01)	0.07
CV(%)	13.71

* ผลปกติเก็บตัวอย่างมาจากสวนที่มีการตัดแต่งทรงพุ่มโปร่ง ผลลาย และผลแตกเก็บตัวอย่างมาจากสวนที่ไม่มีการตัดแต่งกิ่ง

** ค่าเฉลี่ยความหนาของเปลือกลำไยจาก 10 ซ้ำ ๆ ละ 25 ผล

*** ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference (LSD)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

1.3 การแยกเชื้อสาเหตุของโรคผลลาย

จากการแยกเชื้อสาเหตุโรคผลลาย พบเชื้อราทั้งหมด 5 isolate คือ *Pestalotiopsis* sp. และเชื้อที่ไม่ทราบชนิด อีก 4 isolate (ภาพที่ 7-11) เมื่อนำเชื้อทั้ง 5 isolate มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับลำไย เพื่อหาเชื้อสาเหตุที่แท้จริงพบว่าเชื้อรา isolate ที่ 5 (unknown 5) สามารถทำให้เกิดโรคกับลำไย โดยเกิดอาการผลลายเป็นปื้นสีดำ (ภาพที่ 12) บางผลเกิดอาการผลแตก (ภาพที่ 13) และมีเส้นใยของเชื้อราคลุม โดยอาการดังกล่าวเกิดภายใน 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ (inoculation)

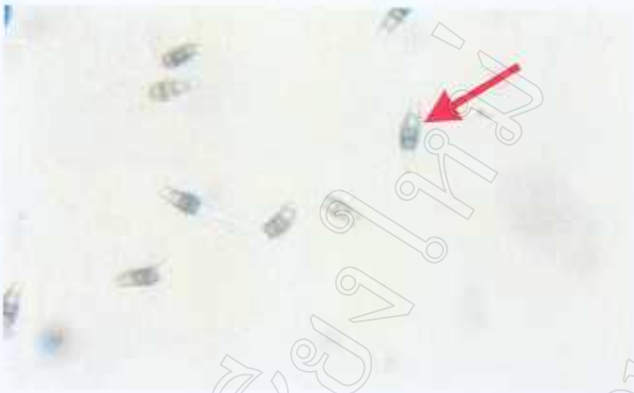
เชื้อสาเหตุของโรค คือ unknown 5 พบว่า ลักษณะเส้นใยเริ่มแรกจะมีสีขาว เส้นใยเจริญอย่างรวดเร็วเมื่ออายุได้ 2 วัน เชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) ต่อมาโคโลนีของเชื้อรา เปลี่ยนสีเข้มขึ้นจนเป็นสีดำ เมื่อตรวจดูลักษณะของเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope โดยทำสไลด์ชั่วคราว พบเส้นใยสีเข้มมีผนังกั้น แตกแขนงเป็นมุมฉาก (ภาพที่ 11) และไม่สร้างสปอร์หลังจากการชักนำให้สร้างสปอร์(induced sporulation) โดยวิธีการต่าง ๆ เช่น การเลี้ยบเชื้อราบนอาหาร WA (Water Agar) การเลี้ยงภายใต้แสง UV การขูดเส้นใย การใช้เข็มเขี่ยลนไฟแล้วกรีดบริเวณ colony culture ของเชื้อรา และ การเลี้ยงในอาหาร PDA ที่ผสมเปลือก หรือใบลำไยลงไปด้วย

ส่วนลักษณะเส้นใยของเชื้อ *Pestalotiopsis* sp. มีสีขาว conidia มีสีเข้ม ส่วนใหญ่มีประมาณ 3 เซล และมีรยางค์ (appendage) (ภาพที่ 7)

เชื้อรา isolate ที่ 2 (unknown 2) ลักษณะเส้นใยมีสีขาว ผอมบาง มีผนังกั้น แตกแขนงเป็นมุมฉาก และไม่มีการสร้างสปอร์ (ภาพที่ 8)

เชื้อรา isolate ที่ 3 (unknown 3) ลักษณะเส้นใยมีสีเข้ม มีผนังกั้น แตกแขนงเป็นมุมฉากและไม่มีการสร้างสปอร์เช่นกัน (ภาพที่ 9)

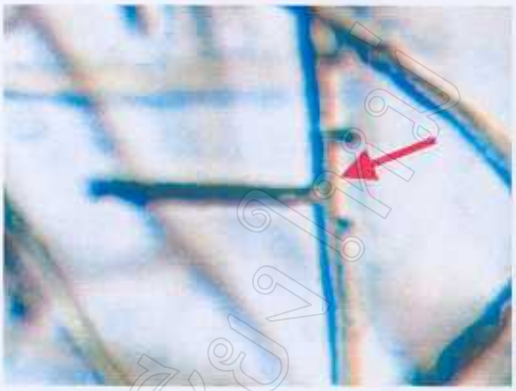
เชื้อรา isolate ที่ 4 (unknown 4) ลักษณะเส้นใยมีสีเข้ม มี ascospore ใน ascus (ภาพที่ 10)



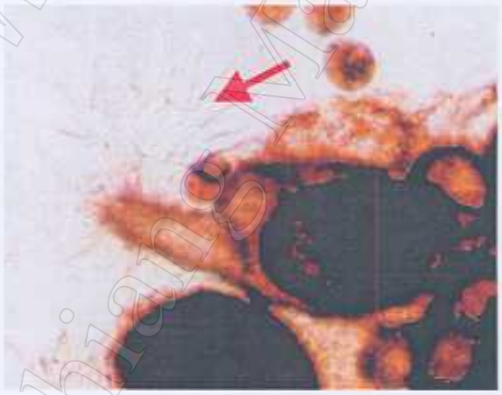
ภาพที่ 7 ลักษณะ conidia ของเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. (40X)

ภาพที่ 8 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา unknown 2 (40X)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

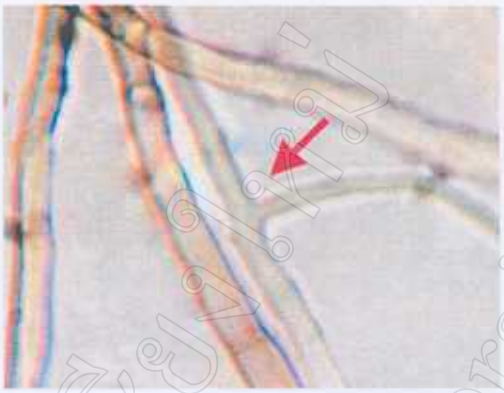


ภาพที่ 9 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา unknown 3 (40X)



ภาพที่ 10 ลักษณะ ascospore ใน ascus ของเชื้อรา unknown 4 (40X)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



ภาพที่ 11 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา unknown 5

ภาพที่ 12 อาการเป็นปื้นสีดำของผลลำไยหลังจากปลูกเชื้อรา unknown 5 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาพที่ 13 อาการผลแตกของลำไยหลังจากปลูกเชื้อ unknown 5 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง (ขวา) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ซ้าย)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

2. การศึกษาปัจจัยที่ทำให้เกิดอาการผลลายของลำไย

การทดลองที่ 1 พ่นสารชีวภาพ 3 ชนิด คือ สารอินทรีย์สกัด บูมอัพ พลัส และ น้ำสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ จำนวน 5 ครั้ง กับลำไยที่ออกผลตรงตามฤดู พบว่าต้นที่ 1 ซึ่งเป็นลำไยพันธุ์สีชมพู มีสีผิวคล้ำเมื่อพ่นด้วยสารชีวภาพทั้ง 3 ชนิด ส่วนต้นที่ 2 เป็นลำไยพันธุ์แห้ว เมื่อพ่นสารชีวภาพทั้ง 3 ชนิดแล้ว ไม่ทำให้สีผิวของลำไยผิดปกติแต่อย่างใด ต้นที่ 3 เป็นลำไยพันธุ์ดอ พบว่า น้ำสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ ทำให้ลำไยมีสีเข้มกว่าชุดควบคุม ส่วนสารอินทรีย์สกัด และบูมอัพพลัส ไม่ทำให้สีผิวผิดปกติ แต่เมื่อแกะเปลือกดูพบจุดสีดำขนาด 1-2 มิลลิเมตร ที่ผิวเปลือกด้านใน และต้นที่ 4 เป็นลำไยพันธุ์สีชมพู เมื่อฉีดพ่นด้วยบูมอัพ พลัส และ น้ำสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ ทำให้ลำไยมีสีผิวคล้ำขึ้น ส่วนสารอินทรีย์สกัดไม่ทำให้สีผิวผิดปกติ (ตารางที่ 5) และจากการวัดขนาดผลพบว่า ต้นที่ 1 สารอินทรีย์สกัด และ บูมอัพ พลัส ทำให้ขนาดผลมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 99% ต้นที่ 2 พบว่าสารชีวภาพทั้ง 3 ชนิดทำให้ขนาดผลใหญ่ขึ้น และแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนต้นที่ 3 และต้นที่ 4 พบว่าขนาดผลไม่แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 6)

การทดลองที่ 2 (แปลงที่ 1) เป็นลำไยในฤดู จากการฉีดพ่นสารชีวภาพ และสารกำจัดเชื้อรา 22 กรรมวิธี จำนวน 2 ครั้ง พบว่า น้ำสกัดหอยชีวภาพเชอรี่, ซัคคารีน, น้ำสกัดชีวภาพจากพืช, โพลีซัคคาไรด์ + แมนโคเซบ ทำให้ลำไยมีสีผิวคล้ำ (ตารางที่ 7) และจากการวัดขนาดผลพบว่า สารชีวภาพ ที่ฉีดพ่นแล้วทำให้ขนาดผลมีขนาดเท่ากับชุดควบคุม คือ ซัคคารีน, น้ำสกัดชีวภาพจากพืช, บูมอัพ พลัส, บูมอัพ พลัส + แมนโคเซบ, ไดฟีโนโคนาโซล, สารสกัดจากสาหร่ายทะเล, น้ำสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ + แมนโคเซบ, ไซโปรโคนาโซล และซัลเฟอร์ ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 8)

การทดลองที่ 3 (แปลงที่ 2) เป็นลำไยในฤดู จากการฉีดพ่นสารชีวภาพ และสารกำจัดเชื้อรา ในระยะติดผล จนถึงระยะเก็บเกี่ยว จำนวน 9 ครั้ง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ น้ำสกัดชีวภาพหอยเชอรี่ และโพลีซัคคาไรด์ ทำให้ลำไยมีสีผิวคล้ำ (ภาพที่ 14-15) และจากการวัดขนาดผลพบว่า กรรมวิธีที่ฉีดพ่นแล้ว ทำให้ลำไยมีขนาดผลมีใหญ่กว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ ซัคคารีน, น้ำสกัดชีวภาพจากพืช, สารสกัดจากสาหร่ายทะเล, น้ำสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ, น้ำสกัดหอยชีวภาพเชอรี่+ แมนโคเซบ, น้ำสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ+แมนโคเซบ และไดฟีโนโคนาโซล (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 5 ลักษณะอาการของผลลำไยพันธุ์ต่างๆ หลังได้รับการพ่นฉีดสารครั้งสุดท้าย

กรรมวิธี (treatment)	สารที่ใช้พ่น	ลักษณะอาการที่พบบนผลลำไย เมื่อเปรียบเทียบกับช่อที่ไม่พ่นสาร (untreated)			
		ต้นที่1 พันธุ์ชมพู	ต้นที่ 2 พันธุ์แห้ว	ต้นที่ 3 พันธุ์ดอ	ต้นที่4 พันธุ์ชมพู
T 1	สารอินทรีย์สกัด	สีผิวคล้ำ	สีไม่แตกต่างกับชุดควบคุม (control)	สีไม่แตกต่างกับชุดควบคุม แต่มีจุดสีดำขนาด 1-2 มม.เมื่อแกะดูพบอาการในผิวเปลือกด้านใน	สีไม่แตกต่างกับชุดควบคุม (control)
T 2	บูมอัพ พลัส	สีผิวคล้ำ	สีไม่แตกต่างกับชุดควบคุม (control)	สีไม่แตกต่างกับชุดควบคุม แต่มีจุดสีดำขนาด 1-2 มม.เมื่อแกะดูพบอาการในผิวเปลือกด้านใน	ผิวมีสีคล้ำ พบแผลเป็นปื้นสีน้ำตาล เมื่อแกะดูพบแผลด้านในผิวเปลือก และพบมาก
T 3	สารสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ	สีผิวคล้ำ	สีไม่แตกต่างกับชุดควบคุม (control)	สีเข้มกว่าcontrol เล็กน้อย มีจุดสีดำขนาด 1-2 มม.	ผิวมีสีคล้ำ พบแผลเป็นปื้นสีน้ำตาล เมื่อแกะดูพบแผลด้านในผิวเปลือก และพบมาก
T 4	ชุดควบคุม (control)	สีคล้ำเล็กน้อย	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ	สีคล้ำ พบอาการเป็นจุดสีดำ

ตารางที่ 6 ขนาดผลของลำไยพันธุ์ต่าง ๆ ที่ระยะเก็บเกี่ยวหลังได้รับการฉีดพ่นด้วยสารชนิดต่าง ๆ

กรรมวิธี (treatment)	สารที่ใช้พ่น	ขนาดของผลลำไย (มิลลิเมตร)*			
		ต้นที่ 1 พันธุ์ชมพู	ต้นที่ 2 พันธุ์แห้ว	ต้นที่ 3 พันธุ์ดอ	ต้นที่ 4 พันธุ์ดอ
1	สารอินทรีย์สกัด	23.63 a**	25.14 a	23.44 a	23.35 a
2	บูม อัพ พลัส	23.85 a	25.17 a	23.72 a	22.89 a
3	สารสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ	22.19 b	25.49 a	24.30 a	22.76 a
4	ชุดควบคุม (control)	22.27 b	23.12 b	23.63 a	23.33 a
LSD (p = 0.01)		1.02	1.79	2.43	0.69
CV(%)		3.64	5.94	8.45	2.46

* ค่าเฉลี่ย จาก 10 ซ้ำๆ ละ50 ผล

** ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference (LSD)

ตารางที่ 7 ลักษณะอาการของผลลำไยพันธุ์ดอหลังได้รับการพ่นสารชนิดต่าง ๆ ครั้งสุดท้าย ซึ่งได้จากแปลงทดลองในระยะเวลาต่างกัน

กรรมวิธี (treatment)	สารที่ใช้พ่น	ลักษณะอาการที่พบบนผลลำไยเมื่อเปรียบเทียบกับช่อที่ไม่พ่นสาร(untreated)	
		การทดลองที่ 2 (แปลงที่ 1)*	การทดลองที่ 3 (แปลงที่ 2)**
T 1	น้ำสกัดชีวภาพหอยเชอรี่	สีผิวคล้ำ	สีผิวคล้ำ
T 2	ซัคคารีน	สีผิวคล้ำ	สีผิวปกติ
T 3	น้ำสกัดชีวภาพจากพืช	สีผิวคล้ำ	สีผิวปกติ
T 4	โพลีซัคคาไรด์	สีผิวคล้ำ	สีผิวคล้ำ
T 5	บูมอัพ พลัส	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 6	สารสกัดจากสาหร่ายทะเล	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 7	สารอินทรีย์สกัด	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 8	สารสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 9	ซัลเฟอร์	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 10	น้ำ	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 11	T1 + แมนโคเซบ	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 12	T2 + แมนโคเซบ	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 13	T3 + แมนโคเซบ	สีผิวคล้ำเล็กน้อย	สีผิวปกติ
T 14	T4 + แมนโคเซบ	สีผิวคล้ำมาก	สีผิวคล้ำเล็กน้อย
T 15	T5 + แมนโคเซบ	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 16	T6 + แมนโคเซบ	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 17	T7 + แมนโคเซบ	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 18	T8 + แมนโคเซบ	สีผิวคล้ำ	สีผิวปกติ
T 19	แมนโคเซบ	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 20	อะซ็อกซีสโตรบิน	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 21	ไดฟีโนโคนาโซล	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ
T 22	ไซโปรโคนาโซล	สีผิวปกติ	สีผิวปกติ

* แปลงที่ 1 เริ่มทดลองวันที่ 9 มิถุนายน 2545 เก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ 11 กรกฎาคม 2545

** แปลงที่ 2 เริ่มทดลองวันที่ 14 มิถุนายน 2545 เก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ 12 สิงหาคม 2545

ตารางที่ 8 ขนาดผลของลำไยพันธุ์ดอที่ระยะเก็บเกี่ยวหลังได้รับการฉีดพ่นสารชนิดต่าง ๆ ซึ่งได้จากแปลงทดลองในระยะเวลาต่างกัน

กรรมวิธี (treatment)	สารที่ใช้พ่น	ขนาดของผลลำไย (มิลลิเมตร)*	
		การทดลองที่ 2 (แปลงที่ 1)***	การทดลองที่ 3 (แปลงที่ 2)****
T 1	น้ำสกัดชีวภาพหอยเชอรี่	23.52 efgh**	21.84 ef
T 2	ซัคคารีน	25.32 ab	23.55 abc
T 3	น้ำสกัดชีวภาพจากพืช	25.05 bcd	24.88 a
T 4	โพลีซัคคาไรด์	22.86 fgh	22.32 cde
T 5	บูม อัพ พลัส	25.42 a	22.90 bcde
T 6	สารสกัดจากสาหร่ายทะเล	24.53 abcde	23.93 ab
T 7	สารอินทรีย์สกัด	22.81 fgh	21.82 ef
T 8	สารสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ	23.53 efgh	23.46 abcd
T 9	ซัลเฟอร์	23.98 abcdefg	19.98 g
T 10	น้ำ	25.24 abc	22.94 bcde
T 11	T1 + แมนโคเซบ	23.87 bcdefg	23.53 abc
T 12	T2 + แมนโคเซบ	23.28 efgh	19.93 g
T 13	T3 + แมนโคเซบ	24.67 abcde	20.47 fg
T 14	T4 + แมนโคเซบ	23.90 bcdefg	23.19 bcde
T 15	T5 + แมนโคเซบ	25.10 abcd	22.84 bcde
T 16	T6 + แมนโคเซบ	22.52 gh	20.05 g
T 17	T7 + แมนโคเซบ	23.81 cdefg	20.07 g
T 18	T8 + แมนโคเซบ	24.24 abcdef	23.64 abc
T 19	แมนโคเซบ	23.68 defg	22.89 bcde
T 20	อะซ็อกซีสโตรบิน	22.10 h	21.97 def
T 21	ไดฟีโนโคนาโซล	24.59 abcde	23.54 abc
T 22	ไซโปรโคนาโซล	24.12 abcdef	19.08 g
LSD (p =0.01)		1.49	1.54
CV(%)		5.32	5.98

* ค่าเฉลี่ยจาก 10 ซ้ำ ๆ ละ 100 ผล

** ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference (LSD)

*** แปลงที่ 1 เริ่มทดลองวันที่ 9 มิถุนายน 2545 เก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ 11 กรกฎาคม 2545

**** แปลงที่ 2 เริ่มทดลองวันที่ 14 มิถุนายน 2545 เก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ 12 สิงหาคม 2545

ภาพที่ 14 ลักษณะอาการสีผิวคล้ำของลำไยพันธุ์ดอเมื่อฉีดพ่นสารชีวภาพ หอยเชอรี่หมัก (ขวา) เปรียบเทียบกับผิวผลลำไยปกติ (ซ้าย)

ภาพที่ 15 ลักษณะอาการสีผิวคล้ำของลำไยพันธุ์ดอเมื่อฉีดพ่นสารชีวภาพ polysaccharide (ขวา) เปรียบเทียบกับผิวผลลำไยปกติ (ซ้าย)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

3.การทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรคผลลายของลำไย

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรคผลลายของลำไยในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคผลลาย คือ unknown 5 และ isolate จากจันทบุรี โดยใช้สารกำจัดเชื้อรา ทั้งหมด 13 ชนิด (13 treatment) พบว่าสารกำจัดเชื้อรา ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ unknown 5 ได้ 100% คือ benomly 50%WP, carbendazim 50%WP, procymidone 50%WP, tebuconazole 25%EW, difenoconazole 25%SC และ carbendazim 50%WP + benomyl 50% รองลงมาคือ carbendazim 50%F, cyproconazole 10%LS และ mancozeb 80%WP ซึ่งแต่ละกรรมวิธี แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99% (ตารางที่ 9, ภาพที่ 16-17)

สำหรับเชื้อรา isolate จากจันทบุรีพบว่าสารกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100% คือ procymidone 50%WP และ tebuconazole 25%EW รองลงมาคือ difenoconazole 25%SC ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 99 % (ตารางที่ 10, ภาพที่ 18-20)

สำหรับสารกำจัดเชื้อราอื่น ๆ พบว่ายังไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคผลลายได้เท่าที่ควร

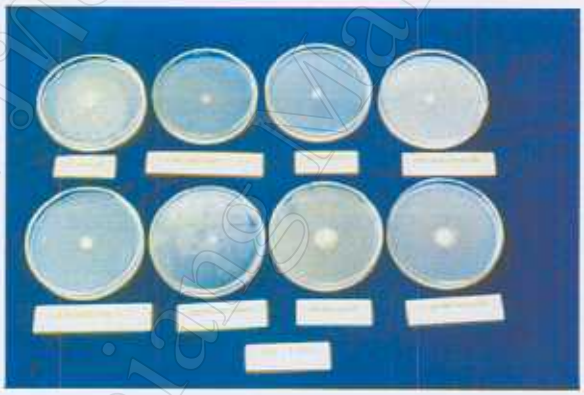
ตารางที่ 9 ขนาดโคโลนี (เซนติเมตร)ของเชื้อรา unknown 5 อายุ 1 วันในอาหาร PDA ผสมสารกำจัดเชื้อราแต่ละชนิด

สารกำจัดเชื้อรา	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี* (เซนติเมตร)
1. Control (PDA)	9.00 a**
2. Iprovalicarb + propineb 66.8%WP	6.92 b
3. Propineb 70%WP	5.52 c
4. Fosetyl aluminium 80%WP	4.68 d
5. Azoxystrobin 25%SC	4.37 d
6. Mancozeb 80%WP	3.66 e
7. Cyproconazole 10%SL	2.92 f
8. Carbendazime 50%F	1.06 g
9. Benomyl 50%WP	0.00 h
10. Carbendazim 50%WP + benomyl 50%WP	0.00 h
11. Carbendazime 50%WP	0.00 h
12. Tebuconazole 25%EW	0.00 h
13. Difenoconazole 25%EC	0.00 h
14. Procymidone 50%WP	0.00 h
LSD (p = 0.01)	0.52
CV(%)	16.32

* ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (เซนติเมตร) จาก 10 ซ้ำ

** ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference (LSD)

ภาพที่ 16 โคโลนีของเชื้อรา unknown 5 อายุ 1 วันในอาหาร PDA ผสมสารกำจัดเชื้อราชนิดต่าง ๆ
แถวบน : control, iprovalicarb + propineb 66.8%, propineb 70%WP, fosetyl aluminium 80%WP
แถวล่าง : carbendazim 50%WP+benomyl 50%WP, tebuconazole 25%EW, procymidone 50%WP



ภาพที่ 17 โคโลนีของเชื้อรา unknown 5 อายุ 1 วันในอาหาร PDA ผสมสารกำจัดเชื้อราชนิดต่าง ๆ
แถวบน : control, carbendazim 50%WP, benomyl 50%WP, difenoconazole 25%EC
แถวล่าง : carbendazim 50%F, azoxystrobin 25%SC, mancozeb 80%WP, cyproconazole 10%SL

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตารางที่ 10 ขนาดโคโลนี (เซนติเมตร)ของเชื้อรา isolate จากจันทบุรีอายุ 1 วันในอาหาร PDA ผสมสารกำจัดเชื้อราแต่ละชนิด

สารกำจัดเชื้อรา	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี*(เซนติเมตร)
1. Control (PDA)	9.00 a**
2. Mancozeb 80%WP	6.99 b
3. Azoxystrobin 25%SC	6.94 b
4. Carbendazim 50%WP	6.43 c
5. Carbendazim 50%F	6.23 c
6. Carbendazim50%WP+benomyl 50%WP	5.47 d
7. Iprovalicarb + propineb 66.8%WP	5.28 d
8. Benomyl 50%WP	5.28 d
9. Propineb 70%WP	4.30 e
10. Fosetyl aluminium 80%WP	4.26 e
11. Cyproconazole 10%SL	3.85 e
12. Difenoconazole 25%EC	3.13 f
13. Tebuconazole 25%EW	0.00 g
14. Procymidone 50%WP	0.00 g
LSD (p = 0.01)	0.50
CV(%)	8.69

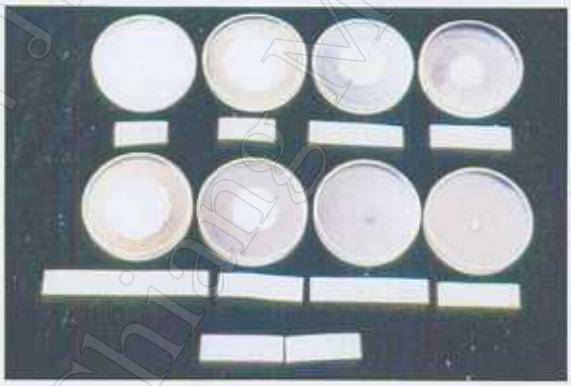
* ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (เซนติเมตร) จาก 10 ซ้ำ

** ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference (LSD)

ภาพที่ 18 โคโลนีของเชื้อรา isolate จากจันทบุรี อายุ 1 วันในอาหาร PDA ผสมสารกำจัดเชื้อรา ชนิดต่าง ๆ

แถวบน : control, azoxystrobin 25%SC, mancozeb 80%WP, carbendazim 50%WP

แถวล่าง : carbendazim 50%F, iprovalicarb+propineb 66.8%WP,
carbendazim 50%WP+benomyl 50%WP, propineb 70%WP

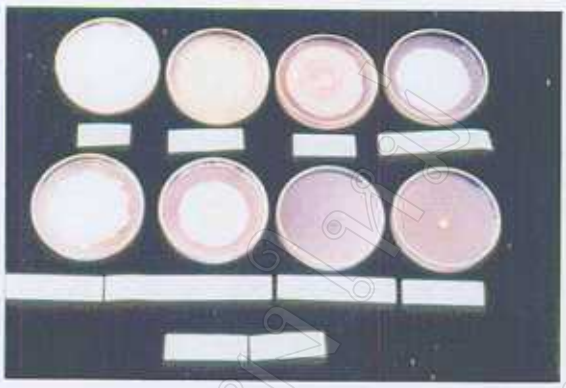


ภาพที่ 19 โคโลนีของเชื้อรา isolate จากจันทบุรี อายุ 1 วันในอาหาร PDA ผสมสารกำจัดเชื้อรา ชนิดต่าง ๆ

แถวบน : control, benomyl 50%WP, fosetyl aluminium 80%WP, difenoconazole 25%EC

แถวล่าง : carbendazim 50%WP+benomyl 50%WP, cyproconazole 10%SL,
tebuconazole 25%EW, procymidone 50%WP

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



ภาพที่ 20 โคโลนีของเชื้อรา isolate จากจันทบุรี อายุ 1 วันในอาหาร PDA ผสมสารกำจัดเชื้อรา ชนิดต่าง ๆ

แถวบน : control, azoxystrobin 25%SC, mancozeb 80%WP, carbendazim 50%WP

แถวล่าง : carbendazim 50%F, iprovalicarb+propineb 66.8%WP, tebuconazole 25%EW, procymidone 10%SL

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรคผลลายของลำไยในสภาพสวน

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคผลลายในสภาพสวนลำไยของเกษตรกร ที่อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี ซึ่งเก็บเกี่ยวเมื่อวันที่ 30 มีนาคม 2546 ไม่พบการระบาดของโรค ในทุก ๆ กรรมวิธี (treatment) รวมทั้งชุดควบคุม (control) ด้วย

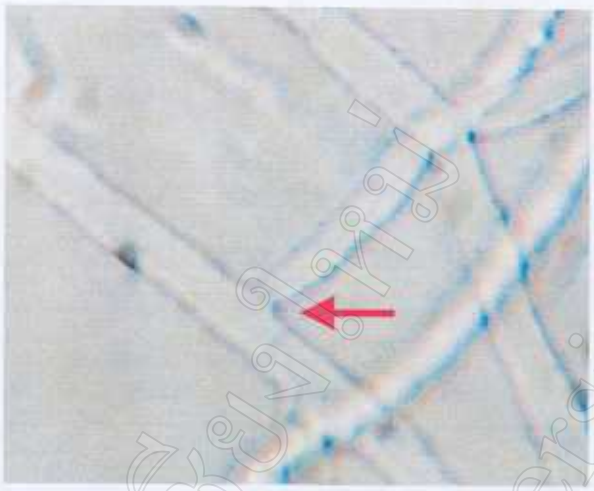
4. การเปรียบเทียบเชื้อราสาเหตุโรคผลลายของลำไยกับเชื้อราอื่นซึ่งมีลักษณะเส้นใยคล้ายกันและทำให้เกิดโรคกับพืชชนิดอื่น

4.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคจากพืชชนิดอื่น

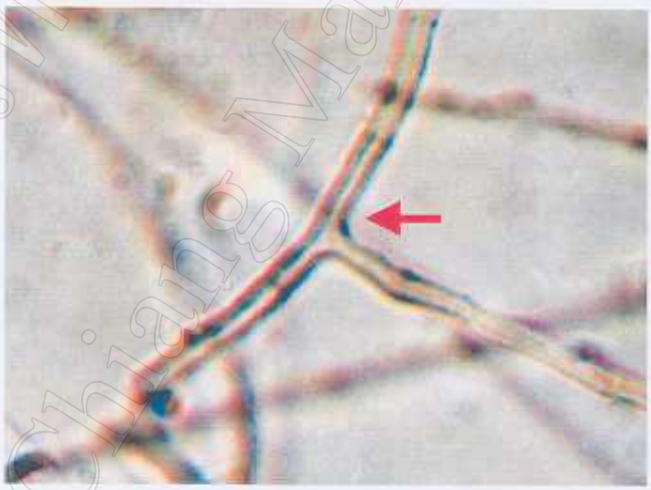
จากการแยกเชื้อจากมะม่วง และฝรั่ง (2 isolate) ที่แสดงอาการของโรคผลเน่า และเชื้อราที่แยกโรคใบไหม้ของลำไยพบเชื้อที่มีลักษณะเส้นใยคล้ายเชื้อสาเหตุโรคผลลาย (unknown 5 และ isolate จากจันทบุรี) คือ ลักษณะเส้นใยมีผนังกั้น แตกกิ่งก้านเป็นมุมฉาก (ภาพที่ 21-26) ไม่สร้างสปอร์ โคโลนีเริ่มแรกมีสีขาว เจริญอย่างรวดเร็ว จนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา ภายใน 2 วัน ต่อมาจะเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเข้มขึ้น จนเป็นสีดำ

4.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับลำไย

จากการนำเชื้อทั้ง 5 ชนิด คือ เชื้อราจากโรคผลเน่าของมะม่วง ฝรั่ง 2 isolate โรคใบไหม้ของลำไย และเชื้อ *Rhizoctonia solani* จากโรคกาบใบเน่าของข้าว มาทดสอบปลูกเชื้อบนผลลำไย โดยวิธีการเดียวกับข้อ 1.3 เปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคผลลาย (unknown 5 และ isolate จากจันทบุรี) พบว่าเชื้อที่สามารถทำให้เกิดอาการผลลายคือ เชื้อจากมะม่วง และฝรั่ง isolate ที่ 2 สำหรับเชื้อ unknown 5 และ เชื้อจากจันทบุรีพบว่า แสดงอาการผลลายทันทีหลังจากปลูกเชื้อได้ 72 ชั่วโมง โดยมีอาการผลแตกร่วมด้วย ซึ่งเชื้อจากจันทบุรีมีอาการเน่าและร่วง อยู่ในถุงพลาสติกที่ห่อไว้ นอกจากนี้ยังมีเส้นใยของเชื้อราเจริญคลุมทั่วผล ส่วนเชื้ออื่นไม่แสดงอาการผลลาย โดยพบว่า culture ของเชื้อแห้งอยู่ที่ผิวของลำไย (ภาพที่ 27)

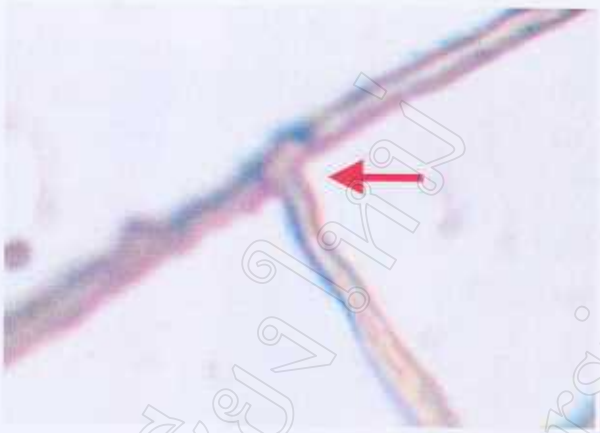


ภาพที่ 21 เชื้อราที่แยกจากโรคผลเน่าของมะม่วง ลักษณะเส้นใยมีผนังกั้น แตกแขนงเป็นมุมฉาก ไม่สร้างสปอร์



ภาพที่ 22 เชื้อรา (isolate ที่ 1) แยกจากโรคผลเน่าของฝรั่ง ลักษณะเส้นใยมีสีเข้ม มีผนังกั้น แตกแขนงเป็นมุมฉาก ไม่สร้างสปอร์

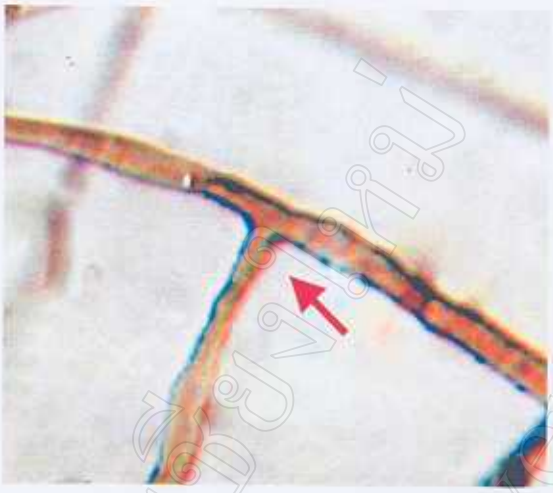
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



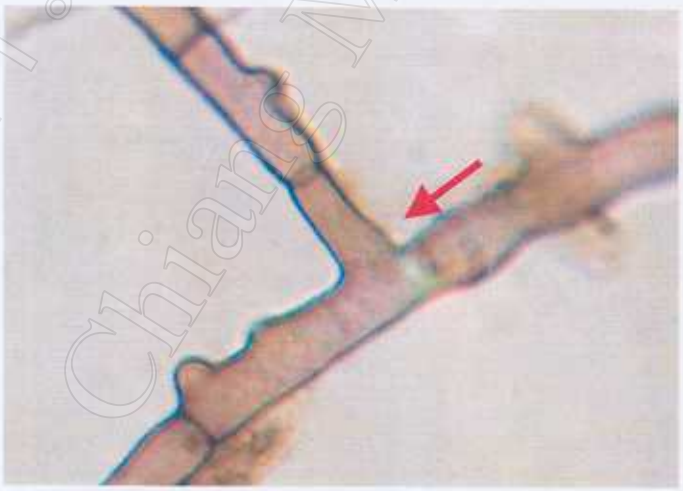
ภาพที่ 23 เชื้อรา (isolate ที่ 2) ที่แยกจากโรคผลเน่าของฝรั่ง ลักษณะเส้นใยมีสีเข้มมีผนังกั้น แตกแขนงเป็นมุมฉาก ไม่สร้างสปอร์

ภาพที่ 24 เชื้อรา *Rhizoctonia solani* ที่แยกจากโรคกาบใบเน่าของข้าว ลักษณะเส้นใยมีผนังกั้น แตกแขนงเป็นมุมฉาก ไม่สร้างสปอร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

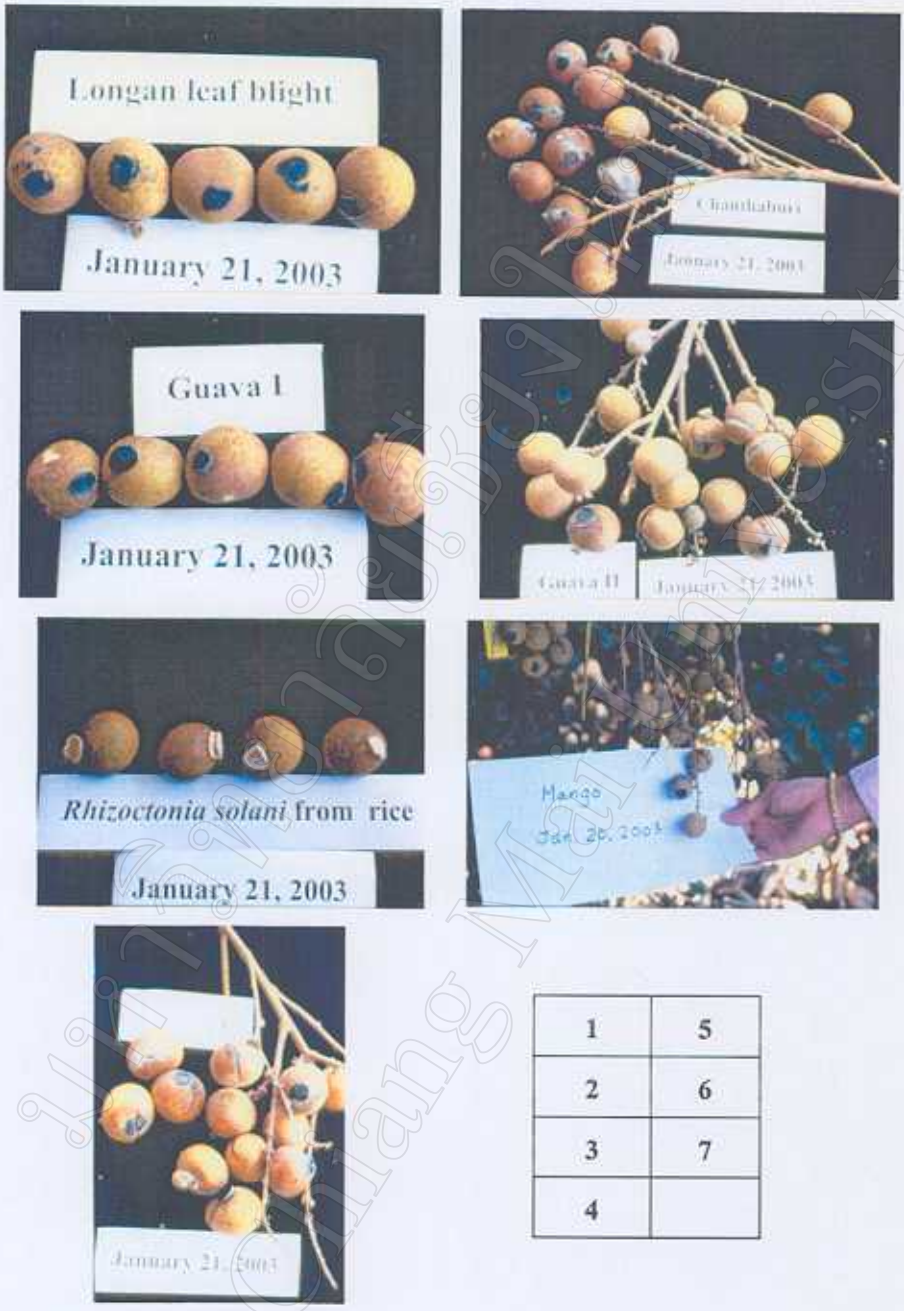


ภาพที่ 25 เชื้อราแยกจากโรคใบไหม้ของลำไย
ลักษณะเส้นใยมีสีเข้ม มีผนังกั้น แตกแขนงเป็นมุมฉาก
ไม่สร้างสปอร์



ภาพที่ 26 เชื้อราที่แยกจากโรคผลลาย (isolate จากจันทบุรี)
ลักษณะเส้นใยมีสีเข้ม มีผนังกั้น แตกแขนงเป็นมุมฉาก
ไม่สร้างสปอร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



1	5
2	6
3	7
4	

ภาพที่ 27 อาการของผลลำไยหลังจากปลูกเชื้อราชนิดต่าง ๆ 72 ชั่วโมง

1 = เชื้อราจากโรคใบไหม้ของลำไย
2 = เชื้อรา (isolate ที่ 1) จากโรคผลเน่าของฝรั่ง
3 = เชื้อรา *Rhizoctonia solani* จากข้าว
4 = เชื้อรา unknown 5
5 = เชื้อรา isolate จากจันทบุรี
6 = เชื้อรา (isolate ที่ 2) จากโรคผลเน่าของฝรั่ง
7 = เชื้อราที่แยกจากมะม่วง

1,2,3 ไม่เกิดอาการของโรคบนผลลำไย
4,5,6,7 เกิดอาการผลลาย และผลแตกของลำไย

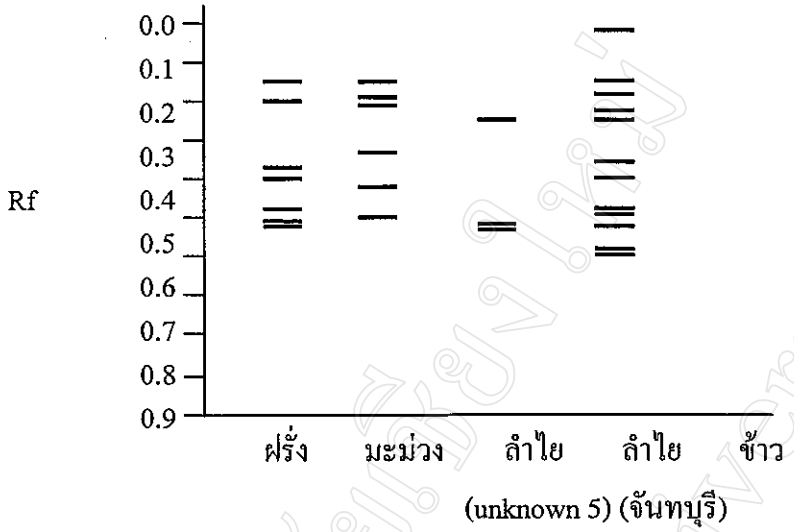
4.1 การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของเชื้อรา

4.1.1 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคผลลายของลำไย (เชื้อราจากมะม่วง, ฝรั่ง isolate ที่ 2, unknown 5 และ isolate จากจันทบุรี) พบว่ามีลักษณะโคโลนีคล้ายกันมาก คือ เริ่มแรกมีเส้นใยสีขาว เจริญอย่างรวดเร็วจนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ภาพในระยะเวลา 2 วัน และต่อมาจะมีสีเข้มขึ้นจนเป็นสีดำในที่สุด และไม่มีการสร้างสปอร์ ทำให้มีความยุ่งยากในการจัดจำแนก นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะเส้นใยของเชื้อราเจริญแบบตั้งฉากเหมือนกัน (ภาพที่ 21-26) จึงได้นำมาเปรียบเทียบลักษณะทางชีวโมเลกุล

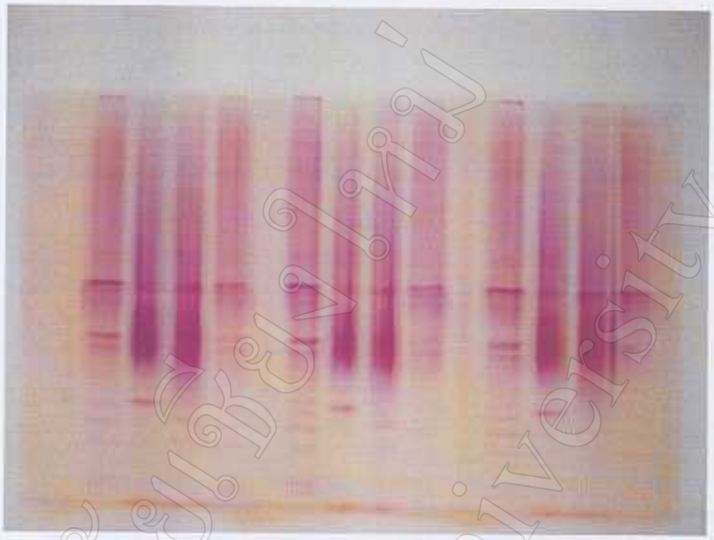
4.1.2 การเปรียบเทียบลักษณะทางชีวเคมี (biochemical)

จากการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด (เชื้อราจากมะม่วง, ฝรั่ง isolate ที่ 2, unknown 5, isolate จากจันทบุรี และ *Rhizoctonia solani*) โดยใช้ไอโซไซม์ esterase พบว่า เชื้อราที่แยกจากฝรั่งปรากฏแถบสี 7 แถบ ค่าเคลื่อนที่สัมพัทธ์เท่ากับ 0.15, 0.2, 0.38, 0.4, 0.48, 0.51 และ 0.52 เชื้อราที่แยกจากมะม่วงปรากฏแถบสี 6 แถบ ค่าเคลื่อนที่สัมพัทธ์เท่ากับ 0.15, 0.19, 0.21, 0.33, 0.43, และ 0.5 เชื้อรา unknown 5 ปรากฏแถบสี 3 แถบ ค่าเคลื่อนที่สัมพัทธ์เท่ากับ 0.25, 0.52 และ 0.53 เชื้อราจากจันทบุรีปรากฏแถบสี 12 แถบ ค่าเคลื่อนที่สัมพัทธ์เท่ากับ 0.06, 0.15, 0.19, 0.23, 0.25, 0.38, 0.4, 0.49, 0.5, 0.52, 0.59 และ 0.6 สำหรับเชื้อ *Rhizoctonia solani* ไม่ปรากฏแถบสี (ภาพที่ 28-29)



ภาพที่ 28 Zymogram ของไอโซไซม์ esterase จากเชื้อราไอโซเลทต่าง ๆ ที่แยกจากลำไยและพืชชนิดอื่น

เลขหมู่.....
สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

ภาพที่ 29 การแสดงออกของไอโซไซม์ esterase ของเชื้อราไอโซเลทต่าง ๆ ที่แยกจากลำไยและพืชชนิดอื่น

1,6,11 = *Rhizoctonia solani* จากข้าว

2,7,12 = เชื้อราจากลำไย (isolate จากจันทบุรี)

3,8,13 = เชื้อราจากลำไย (unknown 5)

4,9,14 = เชื้อราที่แยกจากมะม่วง

5,10,15 = เชื้อราที่แยกจากฝรั่ง isolate ที่ 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University