Thesis Title	Development of Fungal Fruit Rot Disease on Fruit Peel and Stem-End of Postharvested Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) cv. Daw
Author	Mrs. Pitchayaporn Suwanakood
Degree	Doctor of Philosophy (Biology)
Thesis Advisory Committee	Dr. Uraporn Sardsud Chairperson
	Assist.Prof.Dr. Vicha Sardsud Member
	Assoc.Prof. Dr. Somsiri Sangchote Member

ABSTRACT

Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) is one of the important economic fruit of Thailand. However, postharvest fruit rot disease is always easily occurred. This is due to the fact that the surface of the peel is hairy and certain area is covered with cuticle. The fungal spores attach to the surface, germinate and cause the fruit rot disease.

This research was to study the development of fruit rot disease on the fruit peel and stem-end of postharvested longan cv. Daw. The fungi were isolated from the fruit peel and stem-end of longan by tissue transplanting. Twelve genera were found i.e. *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Lasiodiplodia*, *Mucor*, *Penicillium Pestalotiopsis*, *Phomopsis*, *Rhizopus*, *Trichoderma* , *Verticillium* and 7 other unidentified isolates. Their ability to cause the disease on the postharvested longan was carried out by inoculating the fungi onto the peel and the stem-end. It was found that the fungi in the genus *Lasiodiplodia* caused the most severe fruit rot disease followed by the genera *Pestalotiopsis, Colletotrichum, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium, Phomopsis* and *Trichoderma* respectively. *Lasiodiplodia theobromae* was the main causative agent for fruit rot disease of the postharvested longan cv. Daw. It caused dark patches on the peel within 6 hours. These patches were on the outer surface only, not on the inner surface (endocarp). However, at 12

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

hours the brown patches expanded on the outer surface and were also observed on the inner surface. Scanning electron microscope (SEM) study revealed that the hyphae penetrated the endocarp into the space between peel and aril. The infected aril became rotten and the whole fruit was rotten within 48 hours. Observation under the SEM indicated that the fungal hyphae was in the cellular tissue as well as in the intracellular space and rather dense in the vascular tissue causing decay in the endocarp. Dense hypha were also found at the stem-end which was rotten down to the hilum. The aril around the stem end became rotten. When the surface sterilized longan was inoculated with the less potent fungus, *Pestalotiopsis* sp., by dipping the fruit into the spore suspension. The spores germinated the germ tube at 3 hours which could be seen by SEM as white mycelial growth on the surface of the peel and covered the whole stem-end at 48 hours. Both the external and internal surface of the peel became dark brown but the aril remained unchange. The symptom was gradually more severe. At day 5, the fruit was fully covered with the mycelia and black spore droplets were found scattered on the peel surface. The fruit was then completely decayed.

Investigation on the effect of SO_2 on the development of fruit disease of longan indicated that fumigation of longan fruit with SO_2 at the concentration of 1 g of sulfur powder per 1 kg of longan fruit for 30 minutes caused minute swelling of the hyphae of epiphytic fungus. Whereas on longan fruit inoculated with a selected fungus, *Pestalotiopsis* MLP, and fumigated with SO_2 revealed general swelling on the spore surface, germ tube and no further growth. SEM examination of *Pestalotiopsis* MLP and *Lasiodiplodia* LP20 growth on PDA after fumigated with SO_2 indicated that all the hypha shrank and sulfur containing crystals were detected with EDX analysis. It was also found that fumigated *Lasiodiplodia* LP20 hyphae were able to regrow after only 24 hour fumigation, whereas those of *Pestalotiopsis* MLP could not.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	พัฒนาการของโรคผลเน่าจากเชื้อราบนเปลือกและขั้วของผลลำไย (*Dimocarpus longan* Lour.) พันธุ์ดอหลังการเก็บเกี่ยว
ผู้เขียน	นางพิชญาภรณ์ สุวรรณกูฏ
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ชีววิทยา)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร. อุราภรณ์ สอาดสุด ประธานกรรมการ
	ผศ. ดร. วิชชา สอาดสุด กรรมการ
	รศ. ดร. สมศิริ แสงโชติ กรรมการ

บทคัดย่อ

ลำไยเป็นผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย แต่มักเกิดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวได้ง่าย เนื่องจากผิวเปลือกของผลลำไยประกอบด้วยขนจำนวนมาก บางบริเวณมีคิวติเคิลปกคลุมอยู่ ทำให้สปอร์ของเชื้อราไปเกาะอยู่ที่ผิวเปลือก ขน และบนคิวติเคิล และก่อให้เกิดโรคผลเน่าได้

งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาพัฒนาการของโรคผลเน่าจากเชื้อราบนเปลือกและขั้วผลลำไยพันธุ์ดอหลังการเก็บเกี่ยว โดยแยกเชื้อจากเปลือกและขั้วของผลลำไยโดยวิธี tissue transplanting พบเชื้อรา 12 จีนัส ได้แก่ *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Lasiodiplodia*, *Mucor*, *Penicillium Pestalotiopsis*, *Phomopsis*, *Rhizopus*, *Trichoderma* and *Verticillium* และอีก 7 ไอโซเลทที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคเน่าบนผลลำไยหลังการเก็บเกี่ยว โดยวิธีการปลูกเชื้อลงบนเปลือกและขั้วผล พบว่าเชื้อราในจีนัส *Lasiodiplodia*, *Pestalotiopsis*, *Colletotrichum*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Phomopsis* และ *Trichoderma* ทำให้เกิดโรคผลเน่าในลำไยที่ใช้ทดสอบได้รุนแรงที่สุดและลดหลั่นลงมาตามลำดับ *Lasiodiplodia theobromae* เป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าในลำไยพันธุ์ดอหลังการเก็บเกี่ยว โดยทำให้เกิดรอยคล้ำที่เปลือกด้านนอกภายใน 6 ชั่วโมง มีเส้นใยของเชื้อเจริญแผ่ออกมาบางๆ ที่ผิวเปลือกลำไย ยังไม่พบรอยคล้ำที่เปลือกด้านใน (endocarp) แต่ในชั่วโมงที่ 12 จะพบรอยคล้ำสีน้ำตาลแผ่เป็นวงกว้างมากขึ้นที่ผิวเปลือกด้านนอก และพบที่เปลือกด้านในด้วย เมื่อนำเปลือก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

บริเวณดังกล่าวมาสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่าที่เปลือกด้านในมีเส้นใยของเชื้อที่เจริญทะลุชั้นเอนโดคาร์ป (endocarp) เข้ามาภายในช่องว่างระหว่างเปลือกและเนื้อของผล เนื้อผลบริเวณดังกล่าวเริ่มมีอาการเน่าเละ และเน่าทั้งผลภายใน 48 ชั่วโมง เมื่อตัดเนื้อเยื่อด้านข้าง ของผลลำไยระยะนี้ไปศึกษาภายใต้กล้อง SEM พบว่าภายในเนื้อเยื่อของเปลือกจะพบเส้นใยของเชื้อราทั้งภายในเซลล์และในช่องว่างระหว่างเซลล์ และจะพบหนาแน่นในเนื้อเยื่อของท่อลำเลียง ส่งผลให้เนื้อเยื่อเปลือกชั้นในเปื่อย หลุดขาดเป็นแห่งๆ และพบเส้นใยเชื้อราอยู่เป็นจำนวนมาก ในส่วนของขั้วผลที่ปลูกเชื้อพบเส้นใยเจริญหนาแน่น และขั้วผลมีอาการเน่า โดยจะเน่าเละถึงส่วนจุกสีขาว (hilum) ตรงขั้วผล และเนื้อผลบริเวณรอบๆขั้วจะเน่าเละมีสีค่อนข้างเหลือง เชื้อที่ทำให้เกิดอาการผลเน่ารุนแรงรองลงมาได้แก่ *Pestalotiopsis* sp. เมื่อปลูกเชื้อด้วยการจุ่มผลลำไยที่ฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วลงในน้ำแขวนลอยสปอร์ พบว่าสปอร์จะงอกเส้นใย (germ tube) ในชั่วโมงที่ 3 และสังเกตได้ด้วยตาเปล่าเป็นเส้นใยเจริญเป็นกระจุกสีขาวกระจายอยู่ทั่วผิวเปลือก คลุมบริเวณขั้วผลทั้งหมดในชั่วโมงที่ 48 และพบว่าผิวเปลือกทั้งด้านนอกและด้านในจะมีสีน้ำตาลคล้ำ แต่ส่วนของเนื้อผลยังคงสภาพเดิม เมื่อเวลาผ่านไปอาการของโรคจะยิ่งรุนแรงขึ้นตามลำดับ ในวันที่ 5 เส้นใยของเชื้อจะเจริญคลุมทั่วทั้งผลและพบหยดสีดำของกลุ่มสปอร์กระจายเป็นหย่อมๆบนผิวเปลือก ระยะนี้ทำให้ผลลำไยเน่าอย่างสมบูรณ์

การศึกษาผลของ SO_2 ต่อการพัฒนาของโรคบนผลลำไย พบว่าเมื่อนำผลลำไยปกติมารมด้วย SO_2 โดยใช้ ผงกำมะถัน 1 กรัม ต่อลำไย 1กิโลกรัม เป็นเวลา 30 นาที พบว่าเชื้อราที่ส่วนผิวของเปลือกผลลำไยมีอาการโป่งพองขนาดเล็กๆกระจายอยู่ทั่วไปบนผนังของเส้นใย ส่วนผลลำไยที่ปลูกเชื้อราที่เลือกมาคือ *Pestalotiopsis* MLP พบว่าเกิดอาการพุพองอยู่ทั่วไปบนผิวของสปอร์และเส้นใยที่งอก (germ tube) เส้นใยของเชื้อราบริเวณผิวเปลือกไม่เจริญต่อไป เมื่อนำ *Pestalotiopsis* MLP และ *Lasiodiplodia* LP20 ที่เพาะไว้บนอาหาร PDA มาผ่านการรมด้วย SO_2 จากนั้นนำมาตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM พบว่าเส้นใยทั้งหมดเหี่ยวแฟบลง และจากการวิเคราะห์ด้วย EDX พบผลึกของสารที่มีกำมะถันอยู่ นอกจากนี้ยังพบว่าเส้นใยของ *Lasiodiplodia* LP20 ที่ผ่านการรมด้วย SO_2 จะยังสามารถเจริญฟื้นตัวกลับมาใหม่ได้หลังจากการรมเพียง 24 ชั่วโมง ในขณะที่เส้นใยของ *Pestalotiopsis* MLP จะไม่สามารถเจริญกลับขึ้นมาใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved