



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญญา

โรคพืช

โรคพืช

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ชีววิทยาของการเข้าทำลาย การเกิดโรค การควบคุมโรคปื้นดำและโรคผลเน่าของลองกอง
(*Aglaia dookoo* Griff.) ในระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว

Infection Biology, Disease Incidence and Control of Black Mold and Fruit Rot on
Longkong Fruit (*Aglaia dookoo* Griff.) During Pre- and Post-harvest

นามผู้วิจัย นางสาวธัญมน สังข์ศิริ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์สมศิริ แสงโชติ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์กวีศร์ วานิชกุล, Dr.agr.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์เนตรนภิส เขียวขำ, Dr.rer.nat)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์สมศิริ แสงโชติ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สิงสิงห์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ชีววิทยาของการเข้าทำลาย การเกิดโรค การควบคุมโรคปื้นดำและโรคผลเน่าของลองกอง
(*Aglaia dookoo* Griff.) ในระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว

Infection Biology, Disease Incidence and Control of Black Mold and Fruit Rot on Longkong Fruit
(*Aglaia dookoo* Griff.) During Pre- and Post-harvest

โดย

นางสาวธัญมน สัจจ์ศิริ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

พ.ศ. 2554

รัฐมนตรี 2554: ชีววิทยาของการเข้าทำลาย การเกิดโรค การควบคุมโรคปื้นดำและโรคผลเน่า
ของลองกอง (*Aglaia dookoo* Griff.) ในระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว ปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
รองศาสตราจารย์สมศิริ แสงโชติ, Ph.D. 98 หน้า

การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคปื้นดำบนผลลองกองทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอนุวิทยา พบว่าเกิดเชื้อรา *Leptoxylum* sp. ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทย ลำดับนิวคลีโอไทด์มีความเหมือนกับเชื้อรา *L. madagascariense* CBS 124766 97% โดยที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อรา *L. madagascariense* และ *L. fumago* การเกิดโรคปื้นดำในระยะต่างๆ ของการเจริญของดอกและผล พบว่าเชื้อราเริ่มเข้าทำลายที่ผลอายุ 45 วัน มีอัตราเพิ่มขึ้นตามอายุของผล โดยเชื้อรา *Leptoxylum* sp. เจริญอยู่บนส่วนของ EFNs (extrafloral nectaries) และแผ่ออกไปบนขนของเปลือกลองกอง ซึ่งไม่พบการเข้าทำลายลงในเนื้อเยื่อพืช เมื่อผลลองกองมีอายุเพิ่มมากขึ้นพบว่าบริเวณ secretory tissue ของ EFNs มีการสะสมของ lignin และ suberin มากขึ้น ซึ่ง secretory pole มีลักษณะผิวเรียบ ไม่พบรอยแตกแยก แต่พบรูเปิดบริเวณรอบ ๆ secretory pole ซึ่งเป็นบริเวณช่องทางที่น้ำหวานถูกขับออกมาภายนอกผล พบน้ำตาล 3 ชนิดในน้ำหวาน คือ fructose sucrose และ glucose และน้ำน้ำหวานดังกล่าวมาทดสอบความงอกของสปอร์เชื้อรา *Phomopsis* sp. *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Leptoxylum* sp. พบว่าที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 20.0°Brix สปอร์ของเชื้อราจะงอกที่ 87.3 54.3 และ 20.0% ตามลำดับ

การควบคุมโรคปื้นดำบนผลลองกอง โดยการจุ่มด้วย azoxystrobin 125 ppm และ *Bacillus subtilis* ในฤดูที่ 1 (2552) การฉีดพ่นด้วย carbendazim 1,500 ppm mancozeb 1,500 ppm sodium hypochlorite 5,000 ppm และ citric acid 200 ppm ในฤดูที่ 2 (2553) โดยการควบคุมทุก 2 สัปดาห์ก่อนเก็บเกี่ยว พบว่า azoxystrobin (ฤดูที่ 1) และ carbendazim (ฤดูที่ 2) สามารถลดการเกิดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ และการใช้สารเคมี mancozeb 1,500 ppm และ carbendazim 1,500 ppm ควบคุมโรคปื้นดำ 1 สัปดาห์ ก่อนเก็บเกี่ยว พบว่าทั้ง 2 กรรมวิธีไม่สามารถควบคุมโรคได้ การควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวโดยการฉีดพ่นด้วย carbendazim 1,500 ppm mancozeb 1,500 ppm sodium hypochlorite 5,000 ppm และ citric acid 200 ppm ทุก 2 สัปดาห์ก่อนเก็บเกี่ยว พบว่า carbendazim สามารถลดการเกิดโรคและลดการร่วงของข้อผลได้ดีที่สุด การใช้สารเคมีและน้ำร้อนหลังการเก็บเกี่ยว พบว่ากรรมวิธีที่จุ่มด้วย prochloraz 750 ppm น้ำร้อนอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส และ prochloraz 750 ppm ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส สามารถลดการเกิดโรคผลเน่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ การตรวจสอบปริมาณ prochloraz ที่ตกค้างบนผลลองกอง พบว่ามีปริมาณสารตกค้าง 0.71 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งปลอดภัยต่อผู้บริโภค ในวันที่ 3 หลังการจุ่มข้อผลตามข้อกำหนดของ Codex

Thunyamon Sungsi 2011: Infection Biology, Disease Incidence and Control of Black Mold and Fruit Rot on Longkong Fruit (*Aglaia dookoo* Griff.) During Pre- and Post-harvest.
Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology.
Thesis Advisor: Associate Professor Somsiri Sangchote, Ph.D. 98 pages.

The causal organism of black mold on longkong was identified by its morphological characteristics and a molecular technique. It showed that this fungus is in the genus *Leptoxylum* sp. that had not been reported in Thailand. Its nucleotide sequences is similar to *L. madagascariense* CBS 124766 at 97% and also very closely related to *L. madagascariense* and *L. fumago*. Infection of *Leptoxylum* sp. on different stages flower and fruit development till harvest were investigated it started infected fruits at 45 days and increasing according to stage of fruit development. It infested on EFNs (extrafloral nectaries) and then, extended to hair on the fruit surface without infected to the fruits tissue. At mature stage of EFNs, lignin and suberin were accumulated at the secretory tissue. Secretory pole showed no cracking on the surface but it had an opening pore surrounding this pole. Nectar consisted of fructose, sucrose, and glucose and a total soluble solids was 20 °Brix, *Phomopsis* sp., *Leptoxylum* sp. and *Colletotrichum gloeosporioides* spore germinated at 87.3, 54.3 and 20%, respectively in this nectar.

Control of black mold by preharvest treatment with azoxystrobin 125 ppm and *Bacillus subtilis* in season 1 (2552) and carbendazim 1,500 ppm, mancozeb 1,500 ppm, sodium hypochlorite 5,000 ppm and citric acid 200 ppm in season 2 (2553) at 2 weeks interval till harvest. The result showed that azoxystrobin (season 1) and carbendazim (season 2) were the most effective chemical but preharvest spray with mancozeb 1,500 ppm and carbendazim 1,500 ppm 1 week before harvest were ineffective in reducing black mold. Preharvest spray with carbendazim 1,500 ppm, mancozeb 1,500 ppm, sodium hypochlorite 5,000 ppm and citric acid 200 ppm to control fruit rot at 2 weeks interval till harvest, carbendazim was the most effective in reducing fruit rot and fruit drop. Postharvest treatments to control fruit rot with chemical and hot water showed that prochloraz 750 ppm, hot water at 47 °C and hot prochloraz 750 ppm at 47 °C were the promising treatments. At 3 days after treatments, the residue was 0.71 mg/kg which was less than Codex standard.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สมศิริ แสงโชติ ประธานกรรมการที่ปรึกษา
วิชาเอก รองศาสตราจารย์ ดร. กวิศร์ วานิชกุล และ ดร.เนตรนภิส เขียวขำ กรรมการที่ปรึกษา
วิชาเอก ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอ
กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สวัสดิ์ ตระกูลนำเลื่อมใส และ ดร.ศรีเมฆ ขาวโพธิ์พวง
ที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านการจำแนกชนิดเชื้อราด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล

ขอขอบพระคุณ นายอำพร - นางเจริญศรี โชคบุญ เกษตรกรในอำเภอท่าใหม่ จังหวัด
จันทบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์สวนลองกองในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนพี่ๆ น้องๆ และเพื่อนๆ
ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ เป็นกำลังใจทั้งกายและใจ ในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ
ลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว และโครงการพัฒนา
บัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุน
งบประมาณในการทำวิจัยในครั้งนี้

ประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่คุณแม่ปรีชา สังข์ศิริ และนางสาว
รติรส สังข์ศิริ ที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนด้านการศึกษาด้วยดีเสมอมา

ธัญมน สังข์ศิริ

มีนาคม 2554

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(7)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	17
ผลและวิจารณ์	30
สรุปและข้อเสนอแนะ	69
สรุป	69
ข้อเสนอแนะ	72
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	73
ภาคผนวก	84
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	85
ภาคผนวก ข ตารางแสดงผลความแปรปรวนทางสถิติ	88
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	98

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แสดงปริมาณความงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Leptoxylum</i> sp. (เปอร์เซ็นต์) โดยทดสอบบนอาหาร WA ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส	35
2 แสดงปริมาณความงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Leptoxylum</i> sp. <i>Phomopsis</i> sp. และ <i>C. gloeosporioides</i> ความเข้มข้น 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิกรัม (เปอร์เซ็นต์) ต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) (ได้จาก EFNs ของผลลองกอง) ที่ 25 ชั่วโมง	41
3 การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา <i>Lasiodiplodia theobromae</i> <i>Pestalotiopsis</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. <i>Phomopsis</i> sp. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> และ <i>Leptoxylum</i> sp. บนผลลองกอง หลังจากปลูกเชื้อบริเวณ EFNs การทำแผลและไม่ทำแผล แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน	49
4 การเพิ่มขึ้นของโรคปื้นดำโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมี azoxystrobin และแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว โดยจุ่มช่อผลทุก 2 สัปดาห์ จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี	52
5 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (เซนติเมตร) ที่เกิดจากสารจับใบมีผลกับเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> บนอาหาร NA หลังจากบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 วัน	53
6 การเพิ่มขึ้นของโรคปื้นดำโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมี mancozeb และ carbendazim จุ่มช่อผล 1 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี	54
7 การเพิ่มขึ้นของโรคปื้นดำโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว โดยฉีดพ่นช่อผลทุก 2 สัปดาห์ จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี	56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
8	การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของลองกองและการร่วงของข้อผล (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการพ่นด้วยสารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ก่อนการเก็บเกี่ยว แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	60
9	การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของลองกองและการร่วงของข้อผล (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มด้วยสารเคมีสารเคมี imazalil prochloraz sodium hypochlorite และ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 750 ppm นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	61
10	การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของลองกองและการร่วงของข้อผล (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	62
11	การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของลองกองและการร่วงของข้อผล (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนร่วมกับสารเคมี นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	63
12	แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละของ clear zone (มม.) จากการทดสอบสารพิษตกค้างของสารเคมี prochloraz บนผลลองกองที่ได้รับการจุ่มด้วย prochloraz 750 ppm และเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 วัน โดยวิธี bioassay และปริมาณสารตกค้างที่คำนวณจากสมการถดถอยแบบเส้นตรงเชิงเดี่ยว (Simple Liner Regression)	68

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณความงอกสปอร์เชื้อรา <i>Leptoxyphium</i> sp. (เปอร์เซ็นต์) โดยทดสอบบนอาหาร WA ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส	89
ข2 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณความงอกสปอร์เชื้อรา <i>Leptoxyphium</i> sp. (เปอร์เซ็นต์) ต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่มีความหวานต่างๆ (ได้จาก EFNs ของผลลองกอง) ที่ 25 ชั่วโมง	89
ข3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณความงอกสปอร์เชื้อรา <i>Phomopsis</i> sp. (เปอร์เซ็นต์) ต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่มีความหวานต่างๆ (ได้จาก EFNs ของผลลองกอง) ที่ 25 ชั่วโมง	90
ข4 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณความงอกสปอร์เชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (เปอร์เซ็นต์) ต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่มีความหวานต่างๆ (ได้จาก EFNs ของผลลองกอง) ที่ 25 ชั่วโมง	90
ข5 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการเกิดโรคของโรคที่เกิดจากเชื้อรา <i>Lasiodiplodia theobromae</i> <i>Pestalotiopsis</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. <i>Phomopsis</i> sp. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> และ <i>Leptoxyphium</i> sp. บนผลลองกองหลังจากปลูกเชื้อโดยการทำแผล แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน	91
ข6 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา <i>Lasiodiplodia theobromae</i> <i>Pestalotiopsis</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. <i>Phomopsis</i> sp. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> และ <i>Leptoxyphium</i> sp. บนผลลองกองหลังจากปลูกเชื้อโดยการทำแผล แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน	91

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข7 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การเพิ่มขึ้นของโรคปื้นดำโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค area under the disease progress curve (AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมี azoxystrobin และแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว โดยจุ่มสารทุก 2 สัปดาห์	92
ข8 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การเพิ่มขึ้นของโรคปื้นดำโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมี carbendazim และ mancozeb ควบคุม 1 สัปดาห์ ก่อนการเก็บเกี่ยว	92
ข9 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การเพิ่มขึ้นของโรคปื้นดำโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว โดยฉีดพ่นสารทุก 2 สัปดาห์	93
ข10 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการพ่นด้วยสารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ก่อนการเก็บเกี่ยว แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	93
ข11 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการร่วงของข้อผลลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการพ่นด้วยสารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ก่อนการเก็บเกี่ยว แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	94
ข12 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มด้วยสารเคมี imazalil prochloraz sodium hypochlorite และ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 750 ppm นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	94

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข13 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการร่วงของข้อผล ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มด้วยสารเคมี imazalil prochloraz sodium hypochlorite และ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 750 ppm นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	95
ข14 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของ ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	95
ข15 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการร่วงของข้อผล ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	96
ข16 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของ ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนร่วมกับสารเคมี นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	96
ข17 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการร่วงของข้อผล ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนร่วมกับสารเคมี นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	97
ข18 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของ clear zone (มิลลิเมตร) จากการ ทดสอบสารพิษตกค้างของสารเคมี prochloraz บนผลลองกองที่ได้รับการจุ่ม ด้วย prochloraz ความเข้มข้น 750 ppm และเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 วัน โดยวิธี bioassay	97

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงลักษณะของโรคขึ้นดำบนผลลองกอง และรูปร่างของเชื้อรา <i>Leptoxyphium</i> sp.	32
2	แสดงขนาด PCR product ของเชื้อราสาเหตุโรคขึ้นดำบนผลลองกอง โดยใช้ไพรเมอร์ ITS 1 และ ITS 4 และ marker 100 bp plus	34
3	แสดง phylogenetic tree เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อราสาเหตุโรคขึ้นดำบนผลลองกอง (unknown) กับเชื้อราชนิดอื่นที่นำลำดับนิวคลีโอไทด์มาจาก CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures) โดยใช้โปรแกรม ClustalX2	34
4	แสดงการเกิดโรคขึ้นดำ (เปอร์เซ็นต์) ตั้งแต่การพัฒนาดอกจนถึงระยะเก็บเกี่ยวจากสวนเกษตรกร อำเภอน้ำใหม่ จังหวัดจันทบุรี	37
5	แสดงชนิดและค่าเฉลี่ยปริมาณของเชื้อรา (เปอร์เซ็นต์) ที่แยกได้จากระยะการพัฒนาดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวจากสวนเกษตรกร อำเภอน้ำใหม่ จังหวัดจันทบุรี	37
6	ลักษณะของ EFNs บนผลลองกองและน้ำหวานที่ถูกปล่อยออกมาจาก EFNs จากสวนเกษตรกร อำเภอน้ำใหม่ จังหวัดจันทบุรี	40
7	ลักษณะด้านบนของ EFNs บนผลลองกองที่อายุผลต่างๆ โดยวิธี scanning electron microscope ที่กำลังขยาย 150 เท่า	44
8	แสดงลักษณะการเจริญของเชื้อรา <i>Leptoxyphium</i> sp. บนเนื้อเยื่อเปลือกลองกองโดยวิธีการ paraffin section และ SEM	45
9	ภาพตัดขวางของ EFNs บนผลลองกองที่อายุผลต่างๆ โดยวิธีการ paraffin section เนื้อเยื่อมีความหนา 15 ไมครอน	46
10	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคขึ้นดำบนผลลองกองในระหว่างการใช้สารเคมี azoxystrobin และแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว โดยจุ่มซ่อผลทุก 2 สัปดาห์ จากสวนเกษตรกร อำเภอน้ำใหม่ จังหวัดจันทบุรี	52

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
11	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคขึ้นดำนผลลองกองในระหว่างการใช้สารเคมี mancozeb และ carbendazim จุ่มข้อผล 1 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี	54
12	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคขึ้นดำนผลลองกองในระหว่างการใช้สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว โดยฉีดพ่นสารทุก 2 สัปดาห์ จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี	55
13	แสดงปริมาณ (เปอร์เซ็นต์) และชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากลองกองที่เป็นโรคผลเน่าหลังจากหลังการเก็บเกี่ยว โดยการพ่นด้วยสารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ทุก 2 สัปดาห์ ก่อนการเก็บเกี่ยว แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	60
14	แสดงปริมาณ (เปอร์เซ็นต์) และชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากลองกองที่เป็นโรคผลเน่าหลังจากการจุ่มด้วยสารเคมี สารเคมี imazalil prochloraz sodium hypochlorite และ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 750 ppm นาน 3 นาที เก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	61
15	แสดงปริมาณ (เปอร์เซ็นต์) และชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากลองกองที่เป็นโรคผลเน่าหลังจาก การจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	62
16	แสดงปริมาณ (เปอร์เซ็นต์) และชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากลองกองที่เป็นโรคผลเน่าหลังจากการจุ่มน้ำร้อนร่วมกับ prochloraz นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	63
17	ลักษณะของ clear zone จากการทดสอบมาตรฐานสารพิษตกค้างของสารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี bioassay	65

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
18	มาตรฐานสารตกค้างของสารเคมี prochloraz : กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างของ clear zone (มิลลิเมตร) กับปริมาณสารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 0 10 20 30 40 50 และ 60 ppm โดยสมการถดถอยแบบเส้นตรงเชิงเดียว (Simple Liner Regression) คือ $y = 0.1331x + 6.08$ โดยที่ y = ความกว้างรัศมีของ clear zone (มิลลิเมตร) x = ความเข้มข้นของสารเคมี (ppm)	66
19	ลักษณะของ clear zone จากการทดสอบสารพิษตกค้างของสารเคมี prochloraz บนผลลองกองที่ได้รับการจุ่มด้วย prochloraz ความเข้มข้น 750 ppm โดยวิธี bioassay	67

ชีววิทยาของการเข้าทำลาย การเกิดโรค การควบคุมโรคขึ้นดำและโรคผลเน่า
ของลองกอง (*Aglaia dookoo* Griff.) ในระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว

**Infection Biology, Disease Incidence and Control of Black Mold and Fruit Rot on
Longkong Fruit (*Aglaia dookoo* Griff.) During Pre- and Post-harvest**

คำนำ

ลองกอง (*Aglaia dookoo* Griff.) เป็นไม้ผลเขตร้อน มีถิ่นกำเนิดในหมู่เกาะมลายู ประเทศอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และไทย ซึ่งเป็นเขตที่มีสภาพภูมิอากาศแบบมรสุม ฝนตกชุก มีความชื้นสูง (นฤมล , 2537) และสามารถพบได้ในแถบประเทศซูลูวัน ออสเตรเลีย ฮาวาย และเปอร์โตริโก (Yacob and Subhadarbandhu, 1995) ปัจจุบันมีผู้นำลองกองไปปลูกในประเทศสหรัฐอเมริกา ศรีลังกา ส่วนบริเวณประเทศไทยใกล้เคียงมีการปลูกในประเทศพม่า ลาว และเวียดนาม (สมพร, 2535; สุรัชย์, 2540)

ลองกองจัดเป็นผลไม้ที่มีรสชาติหอมหวาน ผลมีเมล็ดเพียงหนึ่งเมล็ดหรือไม่มีเลย เปลือกหนา ไม่มียางที่เปลือก จึงทำให้เป็นที่นิยมบริโภคทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ แต่ยังส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศไม่มาก ซึ่งในปี 2550 มีมูลค่าการส่งออก 23,078,725 บาท (กรมศุลกากร, 2550) ซึ่งถือว่าน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับไม้ผลเศรษฐกิจชนิดอื่น เช่น เงาะ ลำไย มังคุด ทุเรียน อาจเนื่องมาจากปริมาณการผลิตยังมีน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการ ในปี 2551 มีพื้นที่การปลูกลองกองทั่วประเทศ เพียง 331,216 ไร่ จังหวัดที่ปลูกมาก คือ นราธิวาส จันทบุรี และยะลา มีพื้นที่การปลูกที่ให้ผลผลิตแล้ว 60,741 52,719 และ 36,829 ไร่ ตามลำดับ (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2550) จึงใช้บริโภคภายในประเทศเป็นส่วนใหญ่ ปัญหาเนื่องจากจุลินทรีย์สาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวทำให้ผลลองกองเกิดการเน่าเสียและการหลุดร่วงของข้อผล (Panstatico *et al.*, 1968) ซึ่งการหลุดร่วงเกิดจากการสะสมเอทิลีนบริเวณกลีบเลี้ยงกับก้านข้อผล (สุรนนต์, 2526) และจุลินทรีย์สาเหตุโรค มีผลทำให้อายุการเก็บรักษาและการวางจำหน่ายสั้นลง และการเกิดโรคขึ้นดำบนผล ถึงแม้เชื้อสาเหตุโรคจะไม่ได้เข้าทำลายพืชโดยตรง แต่ก็ทำให้ผลลองกองมีขึ้นสีดำ ดูไม่สะอาดตา ราคาขายต่ำ คุณภาพลดลงและเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออก (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตร

และอาหารแห่งชาติ [มกอช.], 2549) ซึ่งยังไม่ทราบเชื้อสาเหตุที่แน่ชัด กลไกการเข้าทำลาย และการแพร่ระบาด

จากปัญหาและความเสียหายดังกล่าวจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษารายละเอียดของ จุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรคปื้นดำ โรคผลเน่า และการหลุดร่วงของข้อผล ตลอดจนหา แนวทางในการควบคุมโรค



วัตถุประสงค์

1. จำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคปื้นดำบนลองกอง และลักษณะทางสัณฐานวิทยา
2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโรคปื้นดำและโรคผลเน่ากับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค
3. ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้สารเคมีและน้ำร้อน เพื่อควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของผลลองกอง ยืดอายุการเก็บรักษา และการวิเคราะห์สารตกค้าง

การตรวจเอกสาร

ลองกอง (longkong) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Aglaia dookoo* Griff. เป็นไม้ผลเขตร้อนสกุลเดียวกับกลางสาดและคูดู จัดอยู่ในอันดับ Meliales วงศ์ Meliaceae ปลูกได้ดีในสภาพเขตร้อนชื้น ฝนตกชุกและปริมาณสม่ำเสมอ ประมาณ 2,000 – 3,000 มิลลิเมตรต่อปี หรือ 150 – 200 วันต่อปี ดินควรเป็นดินร่วนปนทราย มีอินทรีย์วัตถุค่อนข้างสูง การระบายน้ำดี และสามารถเจริญได้ดีในที่ที่มีร่มเงา (นฤมล, 2537) พื้นที่การปลูกลองกองทั่วประเทศมีเพียง 331,216 ไร่ ใน 17 จังหวัด จังหวัดที่ปลูกมากคือ นราธิวาส จันทบุรี ยะลา ชุมพร นครศรีธรรมราช ปัตตานี สุราษฎร์ธานี ตรัง สงขลา พัทลุง ตรัง ระนอง พังงา ระยอง สตูล อุตรดิตถ์และกระบี่ (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2550) ไม้ผลอื่นๆ ที่อยู่ในสกุลเดียวกันนี้ ได้แก่ คูดู กลางสาดมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Aglaia domestica* Pelleg. (syn. *Lansium domesticum* Correa.) ไม้ผลทั้งสามชนิดนี้มีความใกล้เคียงกันมาก แต่ลองกองมีความใกล้ชิดกับกลางสาดมากกว่าคูดู (จรัสศรี และมงคล, 2547)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของลองกอง

ลำต้น มีลักษณะเป็นทรงกระบอก เปลือกเรียบสีเขียวอมน้ำตาล ความสูงของต้นขึ้นอยู่กับ การขยายพันธุ์ และพื้นที่ปลูก ต้นที่ปลูกจากการเพาะเมล็ด ทรงต้นจะสูง กิ่งภายในทรงพุ่มเป็นกิ่งมุม แฉก ส่วนต้นที่ปลูกจากกิ่งทาหรือเสียบยอด ทรงพุ่มเตี้ยกว่า และแผ่กว้าง มุมกิ่งกว้างขึ้น ถ้าปลูกในที่ร่มเงามีไม้อื่นอยู่มาก ต้นจะสูงเช่นกัน ต้นลองกองเมื่ออายุมากขึ้น ส่วนเปลือกนอกของลำต้น พบรอยแตกโดยทั่วไป (สมพร, 2535)

ใบ เป็นใบประกอบ (compound leaf) ประกอบด้วยใบย่อย 5 – 7 ใบ เรียงสลับกัน ใบย่อยเป็นรูปสี่เหลี่ยมที่ส่วนโคนแคบ ปลายใบแคบจนแหลม และมีลักษณะบิดงอเล็กน้อย โดยทั่วไปมีขนาดกว้าง 5.1 – 15.2 เซนติเมตร และยาว 10.1 – 20.3 เซนติเมตร ขนาดของใบย่อยแตกต่างกันมาก ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่ต้นเจริญอยู่ในสภาพแสงแดดจัดขนาดใบจะเล็กแคบลงกว่าในที่ร่ม ใบมีสีเขียวเป็นมัน แผ่นใบมีลักษณะเป็นคลื่นหรือมนขึ้นระหว่างเส้นใบ ลองกองมีการผลิใบอ่อน 2 ชูดจากการศึกษาของ สุรศักดิ์ และคณะ (2539) พบว่าใบอ่อนชูดแรกจะผลิในช่วงเดือนพฤษภาคม ซึ่งเป็นช่วงดอกบาน และชูดที่ 2 ช่วงก่อนเข้าสู่การพักตัวในฤดูแล้งตรงกับเดือนพฤศจิกายน

ดอก ดอกเกิดบนส่วนของกิ่งหรือลำต้น อาจพบเป็นช่อเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มช่อดอก ประมาณ 2-10 ช่อดอก หรืออาจพบสูงถึง 20 ช่อดอก ดอกในระยะแรกเริ่มมองเห็นเป็นตุ่มเล็กๆ สีน้ำตาลอมเขียว ประกอบด้วยใบประดับ (bract) ซ้อนกันหลายๆ ชั้น ตาดอกที่เจริญเต็มที่ที่มี bract ประมาณ 12-13 ชั้นในแนวตั้ง โคครอบช่อดอกมีถึง 32-40 bract เท่ากับจำนวนตาดอกย่อย ช่อดอกระยะนี้มีขนาดกว้างประมาณ 3 มิลลิเมตร ยาว 8.75 มิลลิเมตร ซึ่งใช้เวลาในการพัฒนาประมาณ 18-20 วัน จากตาดอกระยะแรกซึ่งมี bract 3 ชั้นและมีขนาดกว้างประมาณ 1.3 มิลลิเมตร ยาว 1.37 มิลลิเมตร (ภูวคณ, 2532) ช่อดอกมีลักษณะเป็นช่อแบบ spike ดอกย่อย (floret) ไม่มีส่วนก้านดอกย่อย (pedicle) ซึ่งดอกแบบนี้เรียกว่า sessile flower ดอกเป็นแบบดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) มีกลีบเลี้ยง (sepal) 5 กลีบ ลักษณะอวบน้ำ สีเขียว และยังคงติดอยู่จนกระทั่งผลแก่ กลีบดอก (petal) 5 กลีบ มีสีขาว หรือเหลืองจาง ลักษณะเหยียดตรง ถัดเข้าไปเป็นเกสรตัวผู้ (stamen) ฐานเกสรตัวผู้เชื่อมติดกันเป็นหลอดยึดติดกับฐานของกลีบดอก ส่วนปลายเป็นอับละอองเกสร (anther) มี 10 อัน ซึ่งพบว่าละอองเกสรลงกองมีความมีชีวิตสั้นและฝ่อไปก่อนที่จะเกิดการถ่ายละอองเกสร (pollination) จึงทำให้ลองกองไม่ติดเมล็ด (อุไรวรรณ, 2541) ขณะที่ ภูวคณ (2532) พบว่าไม่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียในโอวุลและไม่มีการสร้างละอองเกสรตัวผู้ ส่วนในสุดของดอกเป็นรังไข่ (ovary) มีลักษณะกลมและมีขนอ่อนปกคลุม รังไข่เป็นแบบ superior ovary ยอดเกสรตัวเมีย (stigma) มีลักษณะสั้นแข็ง เป็นร่องหรือเป็นเหลี่ยม ประมาณ 4-5 เหลี่ยม ระยะเวลาตั้งแต่ตาดอกเริ่มผลิจนถึงดอกเริ่มบานใช้เวลาประมาณ 45 วัน ตาดอกย่อยบริเวณโคนช่อดอกจะพัฒนาเร็วกว่าตาดอกบริเวณกลางช่อ 3-4 วัน และเร็วกว่าตาดอกบริเวณปลายช่อ 6-8 วัน

ผล ผลของลองกองมีลักษณะติดกันเป็นพวงเรียงสลับกันแน่นบนก้านช่อ มีลักษณะกลมและรี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 เซนติเมตร เนื้อภายในผลแบ่งเป็นกลีบได้ 4-5 กลีบ อาจมี 1-2 เมล็ดในผลที่สมบูรณ์มากหรืออาจไม่มีเมล็ดเลย โดยปกติลองกองสามารถติดผลได้โดยไม่ต้องมีการผสมเกสร (parthenocarpic fruit) จากการศึกษาความมีชีวิตของละอองเกสรของพืชในสกุลกลางสาดของ อุไรวรรณ (2541) พบว่า ละอองเกสรของลองกองมีความมีชีวิตอยู่เฉพาะระยะพัฒนาการของดอกเท่านั้นและมีจำนวนละอองเกสรน้อยกว่ากลางสาดและดูจิง เป็นไปได้ที่ว่าลองกองไม่ติดเมล็ดเป็นเพราะมีจำนวนละอองเกสรที่มีชีวิตน้อยกว่าและฝ่อไปก่อนที่จะเกิดการถ่ายละอองเกสร หลังจากกลีบดอกร่วง 2-3 วัน รังไข่เริ่มเจริญพัฒนาขยายตัวออกเป็นผลอย่างรวดเร็ว รังไข่ประกอบด้วย 5 carpel 5 locule แต่ละ locule มี 1 โอวุล เปลือกหุ้มโอวุลชั้นใน (inner integument) แบ่งเป็นตัวและเจริญอย่างรวดเร็วกลายเป็นเนื้อในของเมล็ดเรียก false endosperm ทำหน้าที่สะสมอาหารพวกแป้งแทน endosperm ส่วนเปลือกหุ้มโอวุลชั้นนอก (outer integument) เจริญเป็นเปลือกหุ้มเมล็ด (ภูวคณ

, 2532) เมล็ดที่สมบูรณ์สามารถออกเป็นต้นกล้าได้ 1-3 ต้น ที่เรียกว่า polyembryonic seed (สมพร, 2535) ระยะเวลาตั้งแต่ติดผลถึงเก็บเกี่ยวประมาณ 12-13 สัปดาห์ โดยในช่วงเก็บเกี่ยวมีค่าปริมาณความหวานเนื้อ total soluble solids 17-19 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณกรดทั้งหมด 0.7-0.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (นพรัตน์, 2528)

พืชวงศ์นี้ (Meliaceae) พบว่าในบางสกุลสามารถสร้าง extrafloral nectaries (EFNs) ได้ เช่น *Swietenia* sp. *Carapa* sp. *Cipadessa* sp. *Cedrela* sp. *Trichilia* sp. และ *Guarea* sp. และมีรายงานที่ระบุถึงสปีชีส์ คือ *Cipadessa bacifera* (Lersten and Pohl, 1985) *Guarea macrophylla* (Morellato and Oliveira, 1994) *Cedrela fissilis* (Paiva, 2007) และ *Swietenia macrophylla* (Lersten and Rugenstein, 1982) ซึ่ง EFNs เป็นต่อมที่ปล่อยน้ำหวานออกมา พบได้บนใบ ผล และดอกบางส่วน เช่น calyx และ corolla ซึ่งมดที่มากินน้ำหวานเหล่านี้ไม่ได้เกี่ยวข้องในการผสมเกสร แต่จะช่วยป้องกันสัตว์ชนิดอื่นๆ ที่จะเข้ามาทำลายพืชผล (Caldwell and Gerhardt, 1986) Nascimento and Del-Claro, (2010) ได้ทำการศึกษา มดที่มากินน้ำหวานบนใบของ *Chamaecrista debilis* พบว่ามดช่วยทำให้สัตว์ที่จะเข้ามาทำลายผลลดลง และยังช่วยทำให้ติดผลมากขึ้นกว่าชุดควบคุม 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถพบ EFNs ได้ในพืชหลายชนิด (Koptur, 1992) มีรายงานว่ามดพืชมากกว่า 90 วงศ์ ที่สามารถสร้าง EFNs ได้ (Blüthgen and Reifensrath, 2003) สารประกอบที่พบใน EFNs คือ glucose fructose sucrose (Bowden, 1970; Caldwell and Gerhardt, 1986) inositol, arabinose, N-acetylglucosamine และ N-acetylgalactosamine (Caldwell and Gerhardt, 1986) ซึ่งเป็นแหล่งอาหารอย่างดีให้กับการเจริญของเชื้อ (Carter and Thornburg, 2004) แตกต่างจากน้ำหวานที่ดอกไม้ปล่อยออกมาเพื่อล่อแมลงให้มาผสมเกสร ซึ่งมีชื่อเรียกว่า floral nectar ซึ่งช่วยทำให้ติดผลมากขึ้น สารประกอบที่พบใน floral nectar คือ sucrose glucose fructose organic acid amino acid terpenes alkaloids flavonoids glycosides vitamins phenolics oils potassium และ carbohydrate อย่างน้อย 11 ชนิด (Baker and Baker, 1973, 1975, 1982; Griebel and Hess, 1940; Rodriguez and Diaz, 1992; Vogel, 1969) ในการทดลองของ Vawdrey *et al.* (2010) ได้นำน้ำหวานที่ได้จากกล้วย 10 เปอร์เซ็นต์ ฉีดพ่นลงบนผลกล้วยในระยะผลเขียว หลังจากนั้นฉีดพ่นเชื้อรา *Colletotrichum musae* และ *Fusarium* spp. พบว่าเมื่อผลกล้วยสุก ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. musae* และ *Fusarium* spp. เพิ่มขึ้นกว่าชุดที่ไม่ได้ฉีดพ่นน้ำหวาน

การเข้าทำลายผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวของเชื้อราสาเหตุโรค

การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวสามารถเข้าทำลายได้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว เช่น เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สามารถเข้าทำลายผลไม้ได้ตั้งแต่ดอกเริ่มบานจนติดผล ขณะที่เข้าทำลายก่อนการเก็บเกี่ยวจะแสดงอาการออกมาเพียงเล็กน้อยหรือไม่แสดงอาการออกมาให้เห็นแต่อาการจะเริ่มพัฒนาและแสดงให้เห็นชัดเจนเมื่อผลเริ่มสุก ซึ่งการเข้าทำลายจะมีความรุนแรงมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับสภาพของเชื้อและระยะการเจริญเติบโตของพืช เชื้อสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่พบได้ทั่วไปในไม้ผลเขตร้อน คือ *Phomopsis* sp. และ *C. gloeosporioides* ส่วนเชื้อสาเหตุที่เข้าทำลายผลในระหว่างการเก็บเกี่ยวและหลังการเก็บเกี่ยวของไม้ผลเขตร้อน คือเชื้อรา *L. theobromae* (Johnson and Sangchote, 1994) โดยเชื้อสามารถเข้าสู่พืชได้ทางบาดแผล และทางขั้วผล ซึ่งอาการของโรคจะพัฒนาได้ดีเมื่อผลเริ่มสุก

โรคดองกอง

โรคที่เกิดกับผลก่อนการเก็บเกี่ยว

โรคที่พบก่อนการเก็บเกี่ยวคือโรคราดำที่เกิดจากเชื้อรา *Meliola* sp. (นิพนธ์, 2542) ส่วนสุรชัย (2540) รายงานว่าเกิดจากเชื้อ *Capnodium* sp. พบปนเปื้อนอยู่บริเวณผิวผลเนื่องจากมีแมลงจำพวกเพลี้ยขับถ่ายน้ำหวาน (honey dew) ลงบนข้อผลดองกองในระยะพัฒนาขนาดของผล กลุ่มเชื้อราสีดำเจริญที่ผิวผลและบริเวณขั้วผล ลูกกลมทั่วทั้งผลทำให้ข้อผลไม่สวยงาม แพร่ระบาดโดยสปอร์ของเชื้อราดำที่แพร่ระบาดภายในสวน ใช้น้ำหวานที่แมลงขับถ่ายออกมาเป็นอาหารแล้วเจริญเป็นปื้นสีดำบนผล (นิพนธ์, 2542)

โรคที่เกิดกับผลหลังการเก็บเกี่ยว

โรคที่พบกับผลดองกองส่วนมากมักพบในระยะหลังการเก็บเกี่ยวซึ่งก่อให้เกิดโรคผลเน่า มักเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* *Lasiodiplodia theobromae* *Cylindrocladium* sp. *Phomopsis* sp. และ *Pestalotiopsis* sp. (สมใจ, 2548; สุวรรณ, 2549) ซึ่งทำให้ผลเน่าเสียในช่วงการวางขายตามท้องตลาด ทำให้ผลหลุดร่วงจากช่อ เนื้อเยื่อเน่าลูกกลมทั่วทั้งผล ผลยุบตัวลง เชื้อราจะ

พริกตัวที่ผิวผล เมื่อผลดองกองสุก มีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นจึงเข้าทำลายและแสดงอาการของโรค (นิพนธ์, 2542)

การควบคุมโรค

การควบคุมโรคราดำก่อนการเก็บเกี่ยวโดยใช้สารเคมี

การใช้สารเคมีและชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคราดำและโรคที่เกิดกับไม้ผลหลายชนิด Jlin *et al.* (1988) ศึกษาการใช้ benomyl ในการควบคุมโรคราดำบนผลส้มที่เกิดจากเชื้อรา *Chaetothyrium citri* พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ดี ส่วน Prakash (1991) ฉีดพ่นกัมมะถันร่วมกับ gum acacia เพื่อควบคุมโรคราดำบนมะม่วง พบว่าสามารถควบคุมราดำที่เกิดจากเชื้อรา *Microxyphium columnatum* *Leptoxyphium fumago* และ *Tripaspermum myrti* ได้ดี ในปีเดียวกัน Orozco (1991) ได้ทดลองฉีดพ่น mancozeb เพื่อควบคุมโรคใบจุดของส้มที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria linicola* แต่พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมราดำที่เกิดบนใบส้มเนื่องจากเชื้อรา *Capnodium citri* ด้วย

การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้สารเคมี

การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวในผลไม้หลายวิธี เช่น การใช้สารเคมี การใช้สารจุลินทรีย์ การใช้วิธีทางฟิสิกส์ และการเกษตรกรรม การใช้สารเคมีเป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจมาก เนื่องจากให้ผลดีในการควบคุมโรค สำหรับสารเคมีที่นิยมใช้กับผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้หลายชนิด เช่น thiabendazole carbendazim iprodione mancozeb azoxystrobin imazalil และ prochloraz สำหรับเชื้อราที่เข้าทำลายแบบแฝง เช่น *Diplodia* sp. *Phomopsis* sp. และ *Colletotrichum* sp. นิยมใช้สารในกลุ่ม benzimidazole ซึ่งเป็นสารเคมีประเภทดูดซึมมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อราหลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่ม Ascomycetes และ Deuteromycetes ซึ่งมีการนำสารเคมีในกลุ่มนี้มาใช้ควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยว เนื่องจากมีฤทธิ์ต่อเชื้อราหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับโรคภายหลังการเก็บเกี่ยว และสารเคมีในกลุ่มนี้ยังสามารถที่จะซึมลงในผิวที่เป็น wax ของผลผลิตไปยังจุดที่เชื้อเข้าทำลายอยู่ได้ แต่มีเชื้อราบางชนิดที่มีความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่มนี้ เช่น *Penicillium digitatum* และ *Botrytis cinerea* (Brent and Hollomon, 2007)

carbendazim เป็นสารเคมีชนิดดูดซึม อยู่ในกลุ่ม benzimidazole สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ β -tubulin ทำให้เซลล์เกิดความผิดปกติ เนื่องจากสารชนิดนี้มีผลต่อการสังเคราะห์ DNA ในขณะที่เซลล์มีการแบ่งตัวแบบ mitosis ทำให้ได้เซลล์ใหม่มีเพียง 1 นิวเคลียสและขนาดเซลล์ใหญ่ขึ้น และไปยับยั้ง sub unit ของไมโทคอนเดรียที่จะสร้างเป็นสปีนเดิลไฟเบอร์ ทำให้โครมาติดไม่สามารถแยกออกจากกันไปเป็นเซลล์ใหม่ได้ ทำให้เกิดการคื้อยาได้ง่าย รณภพ และคณะ (2539) นำ carbendazim ฉีดพ่นผลเงาะก่อนการเก็บเกี่ยว 1 สัปดาห์พบว่าสามารถลดการเกิดผลเน่าได้ ในปีเดียวกันจินตนา และ รณภพ (2534) นำผลมังคุดมาจุ่มด้วยสารเคมี carbendazim ผสมกับ imazalil ที่ความเข้มข้น 1,500 ppm นาน 2 นาที พบว่าสามารถควบคุมโรคเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *L. theobromae* ได้นาน 7 วัน และ อรุณี (2533) ได้ใช้ carbendazim ความเข้มข้น 10-1,000 ppm ในการควบคุม *C. gloeosporioides* พบว่าสามารถควบคุมได้ 100 เปอร์เซ็นต์

mancozeb เป็นสารเคมีชนิดไม่ดูดซึมอยู่ในกลุ่ม dithiocarbamates มีผลต่อเชื้อราในหลายส่วน (multi-site activity) จึงสามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรคได้หลายชนิดทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวได้เป็นอย่างดี ซึ่งในการใช้เพื่อให้ได้ผลดีควรฉีดพ่นตั้งแต่เริ่มแทงช่อดอกจนถึงก่อนการเก็บเกี่ยวทุก 2 สัปดาห์และฉีดพ่นใหม่ทุกครั้งหลังฝนตก (Eckert, 1983) ในประเทศออสเตรเลีย มีการฉีดพ่น mancozeb ทุก 14 วันในช่วงระยะการออกดอกของมะม่วงและการติดผล ซึ่งตลอดฤดูกาลฉีดพ่นสารประมาณ 7 ครั้ง สามารถลดโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้และช่วยให้มะม่วงติดผลดีขึ้น อรุณี (2533) ทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *C. gloeosporioides* ได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้น 750-1,000 ppm

azoxystrobin เป็นสารเคมีในกลุ่ม strobilurin ซึ่งเป็นสารที่มาจากการสร้างของเห็ดรา *Strobilurus tenecellus* ที่พบบน cone ของสน เป็นสารที่มีฤทธิ์ค่อนข้างกว้าง จัดว่าเป็นสารเคมีที่อยู่ในกลุ่มที่ปลอดภัยและเป็นที่ยอมรับของ EPA ของสหรัฐอเมริกา ไม่มีสารก่อมะเร็ง แต่มีความไวต่อแสง มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคพืชจากเชื้อรา โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใย สามารถควบคุมเชื้อราในกลุ่ม Ascomycetes Basidiomycetes Deuteromycetes และ Oomycetes เช่น *Phytophthora cactorum* (Rebollar et al., 2005) และเชื้อราอื่น ๆ เช่น เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส และราแป้ง Rebollar et al. (2005) ได้ทดลองโดยฉีดพ่นสารบนใบสตรอเบอรี่ก่อนการเก็บเกี่ยวพบว่าสามารถควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora cactorum* ได้ Sundravada et al. (2006, 2007) รายงานว่า การใช้สาร azoxystrobin ควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *C. gloeosporioides* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และ

เมื่อนำไปทดสอบในแปลงที่ความเข้มข้น 1 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถลดการเกิดโรคที่ช่อดอกและผลได้ดีตั้งแต่ความเข้มข้นที่ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร อุดมเดช และคณะ (2543) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของอิมิตาซึ่งมีสารออกฤทธิ์คือ azoxystrobin ในการป้องกันโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงภายหลังการเก็บเกี่ยว โดยใช้ azoxystrobin ที่ความเข้มข้น 62.5 125 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน benomyl ที่ความเข้มข้น 750 กรัมต่อลิตรโดยการแช่ผลมะม่วงทันทีหลังเก็บเกี่ยว พบว่า azoxystrobin ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 62.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นไปสามารถป้องกันโรคแอนแทรกโนสได้ดี

imazalil เป็นสารเคมีในกลุ่ม imidazole สามารถควบคุมเชื้อรา *Penicillium* ที่ด้านทานต่อ thiabendazole และ benomyl ได้ดี แต่ก็ยังไม่มีข้อกำหนดสำหรับพืชค้ำโดยเฉพาะในอเมริกา และญี่ปุ่น มีการนำ imazalil 0.45 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับสาร butylated hydroxyanisole (BHA) 5 มิลลิโมลาร์ ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาใช้ควบคุมโรคแอนแทรกโนสของกล้วยที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum musae* พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ 63-80 เปอร์เซ็นต์ (Khan *et al.*, 2001) และ Spalding (1982) รายงานว่า imazalil สามารถควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* *Diplodia natalensis* และ *Phomopsis citri* ที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่ากับมะม่วงพันธุ์ Tommy Atkins และ Keitt หลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งเชื้อเหล่านี้มีความต้านทานต่อ benomyl จินตนา และ รณภพ (2534) ใช้ carbendazim ผสมกับ imazalil ที่ความเข้มข้น 1,500 ppm พบว่าสามารถโรคผลเน่าของมังคุดที่เกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* ได้นาน 7 วัน

prochloraz เป็นสารเคมีในกลุ่ม imidazole เป็นสารที่มีฤทธิ์ค่อนข้างกว้างช่วยกำจัดการเข้าทำลายของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในส้มและ *Colletotrichum* sp. ในมะม่วง สารนี้ที่อัตรา 500-1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* sp. และสารนี้ยังให้ผลในการลดการเกิดโรคขั้วผลเน่าของมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Diplodia* sp. และ *Phomopsis* sp. การใช้ prochloraz ร่วมกับ butylated hydroxyanisole (BHA) สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรกโนสบนผลอะโวคาโดที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเก็บไว้ในอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำมาไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน (Prusky *et al.*, 1995) และ Wade *et al.* (1993) ใช้ prochloraz และ benomyl ความเข้มข้น 500 ppm ควบคุมโรคเน่าของกล้วยที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum musae* *Phomopsis musicola* *Lasiodiplodia theobromae* *Alternaria alternata* และ *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* โดยการจุ่มผลหลังการเก็บเกี่ยวหลังจากนั้นเก็บไว้ในสภาพัดแปลงบรรยากาศ พบว่า ทั้ง prochloraz และ

benomyl สามารถควบคุมโรคได้ดี แต่ prochloraz มีประสิทธิภาพในการควบคุมดีกว่า iprodione สิริรัตน์ (2528) รายงานว่าการพ่นสารเคมี iprodione 500 ppm ก่อนการเก็บเกี่ยวเงาะ จะช่วยลดการเกิดโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *L. theobromae* ได้ดี และการใช้สารเคมี iprodione สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *L. theobromae* บนอาหาร PDA ได้ (อรุณี, 2533) สมศิริ และคณะ (2540) รายงานว่าการจุ่มผลเงาะในสารเคมี benomyl หรือ iprodione ที่ความเข้มข้น 500 ppm แล้วจุ่มต่อด้วย prochloraz 250 ppm พบว่าสามารถลดการเกิดโรคผลเน่าจาก 72 เป็น 30 และ 32 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการอื่น

การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวนั้นยังมีวิธีการอื่นๆ นอกเหนือจากการใช้สารเคมี เพื่อเป็นทางเลือกของการควบคุมโรคซึ่งมีความปลอดภัยทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค เช่น การใช้จุลินทรีย์ การใช้ไคโตซาน และการใช้น้ำร้อน

วาสนา และคณะ (2550) รายงานว่า ผลลองกองที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1 เปอร์เซ็นต์ ช่วยลดเปอร์เซ็นต์การเน่าเสียได้ แต่ทักษมัย และคณะ (2548) ศึกษาพบว่าผลเงาะที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.18 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดระดับความรุนแรงของการเกิดโรคจากเชื้อรา *L. theobromae*

สุวรรณ (2549) ใช้น้ำยาฟาราสดควบคุมโรคผลเน่าของลองกองพบว่าที่ความเข้มข้น 12.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. และ *C. gloeosporioides* ที่ความเข้มข้น 12.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *L. theobromae* และ *Phomopsis* sp. และที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Cylindrocladium* sp. ได้ดี เมื่อนำมาทดสอบกับผลลองกองลองกองพบว่าที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคดีที่สุด

การใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคต่างๆ พบว่าเชื้อสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้เนื่องจากสามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้หลายชนิดและสามารถสร้างสาร secondary metabolites ที่สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้หลายชนิด Prusky (1989) ศึกษาพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะในกลุ่ม iturin ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น green

mold stem end rot และ sour rot ในส้ม (Singh and Dever, 1984) brown rot ใน stone fruits (Prusky and Wilson, 1984; Utkhede and Sholberg, 1986) และ gray mold ในแอปเปิ้ล (Sholberg et al., 1995) และยังมีรายงานว่าเชื้อนี้สามารถสร้างสาร surfactin และสารระเหยที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ โดยมีผลทำให้เส้นใยของเชื้อมีลักษณะผิดปกติ และสามารถสร้างเอนไซม์ cutinase นอกจากนี้ยังพบว่าการนำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไปใช้ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้หลายชนิด และได้ผลเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป เช่น โรคแอนแทรคโนส สมใจ (2548) ศึกษาการใช้ *B. subtilis* ควบคุมโรคของลองกองที่เกิดจากเชื้อรา *L. theobromae* พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ และใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ควบคุมโรคของลองกองที่เกิดจากเชื้อรา *L. theobromae* พบว่าเชื้อราสามารถเจริญได้เล็กน้อย

มาตรฐานสารพิษตกค้างที่กำหนดให้มีในอาหาร

การผลิตผลหรือผลิตภัณฑ์ อันเกิดจากการกลั่นกรอง การประมง การปศุสัตว์ หรือการป่าไม้ ซึ่งนำมาใช้บริโภคเป็นอาหาร ใช้เป็นอาหารสัตว์ หรือนำมาแปรรูปเป็นอาหารและอาหารสัตว์ จะมีการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร (pesticide ตามความหมายที่ใช้ในการกำหนดมาตรฐาน Codex) หมายถึงสารที่มีจุดมุ่งหมายใช้เพื่อป้องกัน ทำลาย ดึงดูด ขับไล่ หรือควบคุมศัตรูพืชและสัตว์ หรือพืชและสัตว์ที่ไม่พึงประสงค์ ไม่ว่าจะเป็นการใช้ระหว่างการเพาะปลูก การเก็บรักษา การขนส่ง การจำหน่าย หรือระหว่างกระบวนการผลิตสินค้า อาหาร หรืออาหารสัตว์ หรือเป็นสารที่อาจใช้กับสัตว์เพื่อควบคุมปรสิตภายนอก (ectoparasites) และให้หมายความรวมถึง สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สารทำให้ใบร่วง สารทำให้ผลร่วง สารยับยั้งการแตกยอดอ่อน และสารที่ใช้กับพืชผลก่อนหรือหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อป้องกันการเสื่อมเสียระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่ง แต่ไม่รวมถึงปุ๋ยสารอาหารของพืชและสัตว์ วัตถุเจือปนอาหาร วัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ (feed additive) และยาสำหรับสัตว์ ทางสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) จึงได้กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit; MRL) ที่มีได้ในสินค้า กำหนดโดยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ หรือหน่วยงานที่มีอำนาจหน้าที่ตามกฎหมาย มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมสารพิษตกค้างต่อกิโลกรัมสินค้า (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ [มกอช.], 2551)

ตารางสารพิษตกค้าง (MRL) ที่กำหนดให้มีในผักและผลไม้ของ Codex

ชนิดสารเคมี	ชนิดสินค้า (ผักและผลไม้)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มก/กก)
prochloraz	ผลไม้ที่เปลือกกินไม่ได้	7
	ส้ม	10
	พริก	10
	เห็ด	2
imazalil	ส้ม	5
	กล้วย	2
	แตงโม	2
	แอปเปิ้ล	5
	สตอร์เบอร์รี่	2
	แตงกวา	0.5
	มันฝรั่ง	5
carbendazim	กล้วย	0.2
	เชอร์รี่	10
	องุ่น	3
	บ๊วย	2
	พลัม	0.5
	ท้อ	2
	มะม่วง	5
	แอปเปิ้ล	3
	สับปะรด	5
	แครอท	0.2
	แตงกวา	0.05
	มะเขือเทศ	0.5
	พริก	2

ที่มา: สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ [มกอช.], (2552)

การจัดจำแนกชนิดของเชื้อราโดยใช้ลักษณะทางอณูวิทยา

ดีเอ็นเอเครื่องหมาย (DNA marker) สามารถใช้บอกความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตได้เป็นอย่างดี เนื่องจากการตรวจสอบความแตกต่างของสารพันธุกรรมที่สามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้ ซึ่งถูกนำมาใช้เป็นเครื่องหมายประจำตัวของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ได้ในชื่อที่รู้จักกันว่า “ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ” (DNA fingerprint) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้กันมากในงานวิจัยเกี่ยวกับการจำแนก (identification) และอนุกรมวิธาน (taxonomy) ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ (Weising *et al.*, 1995) ดีเอ็นเอเครื่องหมายสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ ดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ใช้วิธีการ DNA-DNA hybridization เช่น restriction fragment length polymorphism (RFLP) และดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ใช้วิธีการ polymerase chain reaction (PCR) เช่น random amplified polymorphic DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphism (AFLP) และ simple sequence repeat (SSR) เป็นต้น (Weising *et al.*, 1995) ซึ่งดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดต่างๆ มีหลักการดังต่อไปนี้

1. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) คือ ความแตกต่างหรือความหลากหลายของดีเอ็นเอที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ที่แยกได้จากแบคทีเรีย และตัดดีเอ็นเอที่ตำแหน่งตัดจำเพาะเรียกว่า ตำแหน่งจดจำ ตำแหน่งจดจำของเอนไซม์แต่ละชนิดประกอบด้วยเบส 4 ถึง 8 คู่เบส ดังนั้น ถ้าใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดหนึ่งตัดดีเอ็นเอเป้าหมายโมเลกุลหนึ่งจะได้ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดและจำนวนคงที่เสมอ แล้วตรวจสอบด้วย probe ที่สามารถ hybridize ได้กับชิ้นส่วนดีเอ็นเอเป้าหมาย ถ้าดีเอ็นเอมาจากแหล่งที่ต่างกันหรือมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างแบบใดแบบหนึ่งแล้ว เมื่อนำมาตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกันจะได้ขนาดและจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน เรียกว่า polymorphism

2. RAPD (Random Amplification Polymorphic DNA) เป็นการพัฒนาเทคนิค PCR โดยใช้ random primer (arbitrary primer) เพียงชนิดเดียวเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอโดยไม่จำเป็นต้องทราบลำดับเบสที่บริเวณใดเลย primer ที่ใช้จะมีขนาดสั้นกว่าปกติ คือประมาณ 8-10 นิวคลีโอไทด์ โดย primer สามารถเข้าไปเกาะได้หลายบริเวณ ถ้า primer เกาะในทิศทางเดียวกันจะไม่เกิดผลผลิต PCR แต่ถ้า primer เกาะได้ในบริเวณที่ใกล้กัน และมีทิศทางเข้าหากันจะเกิดผลผลิตของ PCR เมื่อนำผลผลิตของ PCR มาแยกโดย electrophoresis และย้อมด้วย ethidium bromide จะได้แถบดีเอ็นเอที่เหมือนหรือแตกต่างกันได้ (Weising *et al.*, 1995)

3. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) เป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ โดยการผสมผสานระหว่าง RFLP และ RAPD ซึ่ง polymorphism จะขึ้นอยู่กับความแตกต่างของ ลำดับเบสบริเวณที่ถูกตัดโดยเอนไซม์ตัดจำเพาะ และ additional base เหมือนกับ RFLP แต่ ตรวจสอบด้วย PCR เหมือนกับ RAPD ความยาวและความจำเพาะของ primer ที่ใช้ตลอดจน PCR condition ที่เหมาะสมของ AFLP จะได้ผลการทดลองที่เชื่อถือได้ นอกจากนี้จำนวนของ amplified fragment มีมาก ซึ่งจะขึ้นอยู่กับขนาดของจีโนม ความถี่ของเอนไซม์ที่ตัดจำเพาะ และจำนวนเบสที่ จับกับ PCR primer ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมที่จะใช้สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อที่จะจำแนกชนิด และศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมระหว่างสปีชีส์ที่ต่างกันและภายในกลุ่มสปีชีส์เดียวกัน (Vos *et al.*, 1995)

4. sequence analysis ในปัจจุบันนิยมใช้ปฏิกิริยาทางเคมีที่ถูกค้นพบโดย Sanger *et al.* (1977) ที่เรียกว่า Sanger method หรือ dideoxy or chain-terminating method และใช้เครื่อง automated DNA sequencer เป็นตัวช่วยอ่านรหัสพันธุกรรม หลักการถอดรหัสพันธุกรรมจะอาศัย การเพิ่มปริมาณ DNA ในหลอดทดลอง (polymerase chain reaction, PCR) แต่มีการยับยั้งการ สังเคราะห์สาย DNA ที่ตำแหน่งของ base (A, C, G หรือ T) ต่างๆ อย่างจำเพาะเจาะจงในปฏิกิริยา ดังกล่าวจะเตรียมคล้ายกับ PCR ตามปกติ แต่มีการเติมสารเคมี (dideoxynucleotides, ddNTPs: ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP) เข้าไปยับยั้งปฏิกิริยานอกจากนี้ยังใช้ primer หรือ ddNTPs ที่ถูก labelled ด้วยสาร fluorescent เพื่อความสะดวกต่อการอ่านผลด้วยเครื่อง automated DNA sequencer ผลลัพธ์ที่ได้คือ สาย DNA ที่มีขนาดสั้นยาวแตกต่างกัน เมื่อนำสาย DNA เหล่านี้ ไปแยกขนาดใน สันนามกระแสไฟฟ้า โดยใช้เครื่อง automated DNA sequencer จะได้รูปแบบของสาย DNA ที่มีการ เรียงลำดับตามขนาดความยาวของ DNA fragment ซึ่งมีความสัมพันธ์กับรหัสพันธุกรรมบนสาย DNA ข้อมูลที่ได้คือสายรหัสพันธุกรรมของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) A, C, G, T แสดงความหมาย ของ nucleotide แต่ละตัว โดยสายรหัสพันธุกรรม DNA เหล่านี้ อาจจะเป็นส่วนที่กำหนดการสร้าง โปรตีนหรือเป็นส่วนที่ไม่ได้กำหนดการสร้างโปรตีนก็ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชิ้นส่วน DNA ที่นำมาหา ลำดับ nucleotide ถ้าหากชิ้นส่วน DNA เป็น genomic DNA ก็จะพบส่วนของ exon และ intron ได้ แต่ถ้าหากนำเอา RNA หรือ cDNA มาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ก็จะพบเฉพาะส่วนของ exon เท่านั้น ซึ่งประกอบด้วยรหัสพันธุกรรม (genetic code) ที่กำหนดการสร้างกรดอะมิโน โดยทั่วไป ข้อมูลรหัสพันธุกรรมที่ถูกค้นพบโดยนักวิทยาศาสตร์ทั่วโลก จะถูกนำไปเก็บไว้ที่ฐานข้อมูลทาง พันธุกรรมของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) ที่เรียกว่า GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

5. SSR (Simple Sequence Repeats) เป็น oligonucleotide ที่ประกอบด้วย simple sequence repeat ซึ่งเป็นลำดับเบสสั้นๆ ที่มี nucleotide ซ้ำๆ กันประมาณ 2, 3, 4 และ 5 nucleotide เป็นดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิด Co-dominant จึงสามารถใช้ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างเฮเทอโรไซกัสและโฮโมไซกัสได้ มีความเสถียร (stability) สูง และทำซ้ำ (reproducibility) ได้ (Heyder and Sharp, 2001) ดีเอ็นเอบริเวณที่มีลำดับเบสซ้ำชนิด CA ซึ่งพบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และลำดับเบส CT ซ้ำในพืช (Kyle, 2001) โดยการนำมาใช้เป็น probe และ primer ใน hybridization fingerprinting และ PCR fingerprinting ตามลำดับ (Weising *et al.*, 1995; Zietkiewicz *et al.*, 1994) ข้อดีของดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดนี้ คือ ให้แถบดีเอ็นเอจำนวนมาก และ polymorphic สูง เช่น inter-simple sequence repeat (ISSR) simple sequence length polymorphism (SSLP) บางชนิดจัดเป็น codominant marker สามารถจำแนกสิ่งมีชีวิตที่เป็น homozygous และ heterozygous ออกจากกันได้ จำนวน primer ที่ใช้มีมาก และ เนื่องจากใช้ใน PCR จึงใช้ดีเอ็นเอตั้งต้นในปริมาณน้อย นอกจากนี้ การแลกเปลี่ยนข้อมูลลำดับเบสของ primer ระหว่างนักวิจัยทำได้ง่าย เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการศึกษาเกี่ยวกับแผนที่โครโมโซม และพันธุศาสตร์ประชากร ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดนี้เคยใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ของประชากรกลุ่มย่อยในมนุษย์ (Weising *et al.*, 1995)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำ

1.1 ศึกษาลักษณะรูปร่างของเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำ

นำเนื้อเชื้อผลดองกองที่พบอาการป็นดำจากสวน มาทำ freehand section เพื่อศึกษา ลักษณะรูปร่างของเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำ วัดขนาดสปอร์และโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ micrometer

1.2 จำแนกเชื้อราโดยใช้ข้อมูลวิทยา

1.2.1 การเตรียมเชื้อรา

นำเชื้อราที่แยกสปอร์ได้แล้วมาทำสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยเติมน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อลงบนโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 7 วัน ใช้แท่งแก้วอุดหน้าอาหารเบาๆ กรองด้วยผ้าขาวบางฆ่าเชื้อเพื่อเอาแต่สปอร์ จากนั้นดูด spore suspension ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหาร potato dextrose broth (PDB) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่อยู่ในขวดรูปชมพู่ บ่มเชื้อไว้โดยเขย่าบน rotary shaker ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บเส้นใยโดยนำมากกรองบนกระดาษกรอง (Whatman No.1) จากนั้นล้างเส้นใยด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อผ่านกระดาษกรอง หลังจากนั้นนำเส้นใยไปสกัดดีเอ็นเอ

1.2.2 การเตรียมดีเอ็นเอ

นำเส้นใยที่กรองได้ 0.05 กรัม มาบดในโกร่งด้วยไนโตรเจนเหลวและนำมาใส่ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร (microcentrifuge) จากนั้นเติม solution I 300 ไมโครลิตร (30 mM Tris HCl, pH 8; 0.1 M NaCl; 1 mM EDTA และ 0.2 M sucrose) และ solution II 300 ไมโครลิตร (400 mM Tris HCl, pH 9.2; 250 mM EDTA และ 2.5% SDS) ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติม solution III 192 ไมโครลิตร (60 ml. 5 M KOAC; 11.5 ml. 96% acetic acid และ 28.5 ml. H₂O) และ chloroform 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่

น้ำแข็ง 10 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดส่วนใสข้างบน ย้ายลงหลอดใหม่ เติม absolute alcohol ในอัตราส่วน 1:1 กลับหลอดไปมา นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง และล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% alcohol โดยดูด alcohol ใสในหลอดที่มีดีเอ็นเอ กลับหลอดไปมา จากนั้นเท alcohol ทิ้ง ผึ่งตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE (10 mM Tris HCl pH 8 และ 1 mM EDTA) 30 ไมโครลิตร หลังจากนั้นตรวจสอบดีเอ็นเอโดยเทคนิคอะกาโรสอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) บนอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ ใน 0.5XTBE buffer เวลา 25 นาที กระแสไฟ 135 โวลต์ จากนั้นนำไปแช่สารละลาย ethidium bromide (0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็นเวลา 10 นาที นำไปล้างน้ำเปล่าก่อนนำไปตรวจดูแถบดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง Gel Documentation (SYNGENE BIO IMAGING)

1.2.3 ปฏิกริยา PCR (Polymerase Chain Reaction)

ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจะใช้ปริมาตรรวมของปฏิกริยา 50 ไมโครลิตร โดยการเตรียมส่วนผสมหลักสำหรับทำ PCR (master mix) ก่อน ซึ่งประกอบด้วย

10xPCR buffer	5	ไมโครลิตร
MgCl ₂ (2.5 mM)	2	ไมโครลิตร
Deoxy nucleotide triphosphate(dNTP)	2.5	ไมโครลิตร
Primer ITS1 (20 µM)	0.5	ไมโครลิตร
Primer ITS4 (20 µM)	0.5	ไมโครลิตร
Sterile dH ₂ O	37.5	ไมโครลิตร
Taq DNA polymerase	1	ไมโครลิตร

Primer ITS1 มีลำดับเบส 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'

Primer ITS4 มีลำดับเบส 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3' (White *et al*, 1990)

จากนั้นนำ master mix ดังกล่าว ใส่ในหลอด PCR ที่มี DNA template ปริมาตร 1 ไมโครลิตร นำใส่ในเครื่อง Thermal Cycler[®] รุ่น MiniCycler PTC-150 ของบริษัท MJ Research โดยจำนวนรอบในการทำ CR คือ 35 รอบ ใช้อุณหภูมิ และเวลาในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอดังนี้

initial denaturation	อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 5 นาที
denaturation	อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1 นาที
annealing	อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1 นาที
extension	อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1 นาที
final extension	อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 5 นาที

จากนั้นตรวจสอบคุณภาพของ PCR product โดยเทคนิคอะกาโรสอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) บนอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ ใน 0.5XTBE buffer เวลา 25 นาที กระแสไฟ 135 โวลต์ จากนั้นนำไปแช่สารละลาย ethidium bromide (0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็นเวลา 10 นาที นำไปล้างน้ำเปล่าก่อนนำไปตรวจดูแถบดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง Gel Documentation (SYNGENE BIO IMAGING) โดยใช้ marker 100 bp plus ของบริษัท Fermentas

1.2.4 การวิเคราะห์ลำดับเบส (Sequence analysis)

ทำการวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR โดยนำดีเอ็นเอส่งไปวิเคราะห์ที่หน่วยบริการชีวภาพ Bio Design (Science Park Pathumthani)

1.2.5 การเปรียบเทียบลำดับเบส

นำลำดับเบสที่ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลใน GenBank เพื่อตรวจสอบความคล้ายคลึงในระดับสกุลและสปีชีส์กับข้อมูลที่ GenBank มีอยู่

1.3 ศึกษาการออกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำ

เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำบน PDA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน เตรียม spore suspension ความเข้มข้น 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยเทน้ำกลั่นที่นิ่งมาเชื้อแล้วลงบนหน้าอาหาร แล้วใช้แท่งแก้วจุ่มไฟผ่าเชื้อชุบบนหน้าอาหารเบาๆ กรองเอาเส้นใยออกด้วยผ้าขาวบางที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นใช้ปิเปตดูด spore suspension ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร water agar (WA) แล้วใช้แท่งแก้วเกลี่ยให้ทั่วหน้าอาหาร หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ตรวจเปอร์เซ็นต์การออกทุก 1 ชั่วโมง

2. ศึกษาการเกิดโรคปื้นดำ เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคปื้นดำและโรคผลเน่าตั้งแต่ระยะช่อดอกจนถึงระยะติดผล

ติดฉลากช่อดอกทอง (tag) ในระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะช่อดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวในพื้นที่สวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี โดยเลือกต้นลองกองที่อยู่บริเวณใกล้เคียงกัน และมีช่อดอกที่อายุเท่ากัน กลุ่มเลือกช่อดอก 4 ช่อต่อต้น จำนวน 20 ต้น รวมทั้งหมด 80 ช่อผล เพื่อใช้ในการศึกษาปริมาณการเกิดโรคปื้นดำ โดยตรวจนับการเกิดโรคในช่อดอกทองทุกสัปดาห์ โดยนับจากจำนวนผลที่แสดงอาการต่อผลทั้งหมดในช่อของทุกต้นที่ tag ช่อไว้จนกระทั่งเก็บเกี่ยว ในขณะเดียวกันเก็บตัวอย่างดอกตูม ดอกบาน และผลลองกองที่อายุต่างๆ จากต้นที่ tag ไว้เพื่อนำมาแยกเชื้อหาการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคปื้นดำและโรคผลเน่าด้วยวิธี tissue transplanting โดยนำดอกตูม ดอกบาน และตัดเนื้อเยื่อผล เป็นชิ้นขนาดเล็กประมาณ 5 x 5 มิลลิเมตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อภายนอกด้วย sodium hypochlorite ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที แล้วใช้ปากคีบที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วคีบเนื้อเยื่อวางบนกระดาษซับที่อบฆ่าเชื้อแล้วจนแห้ง หลังจากนั้นนำปากคีบลงไฟฆ่าเชื้ออีกครั้งแล้วจึงย้ายเนื้อเยื่อลงบนอาหาร PDA บ่มเชื้อเป็นเวลา 2-3 วัน ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อเจริญขึ้นจึงแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์และจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคต่อไป

3. ศึกษาปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรค

3.1 ผลของน้ำหวานที่ extrafloral nectaries (EFNs) ผลิออกมาต่อการงอกของสปอร์

เก็บน้ำหวานที่ถูกขับออกมาจาก EFNs ของผลลองกองอายุ 20-30 วัน มาทดสอบความงอกกับสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคปื้นดำและเชื้อราที่มีความสำคัญต่อโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวคือเชื้อรา *Phomopsis* sp. และ *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ของน้ำหวาน 0 2.5 5.0 7.5 10.0 12.5 15.0 17.5 และ 20.0 °Brix โดยนำน้ำหวานที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 0 5.0 10.0 15.0 20.0 25.0 30.0 35.0 และ 40.0 °Brix ปริมาตร 10 ไมโครลิตร มาใส่ลงบนสไลด์หลังจากนั้นหยด spore suspension ของเชื้อราปริมาตร 10 ไมโครลิตร ความเข้มข้น 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำสไลด์มาบ่มใน moist chamber ที่ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 93 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 ชั่วโมง ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอก จากนั้นนำน้ำหวานไปตรวจสอบชนิดของน้ำตาลด้วยวิธี HPLC (High

Performance Liquid Chromatography) โดยส่งไปตรวจสอบที่ศูนย์วัดกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3.2 ศึกษาโครงสร้างของ EFNs บนเปลือกผลดองกอง

3.2.1 การทำ SEM (Scanning Electron Microscope)

เริ่มเก็บผลดองกองเมื่ออายุ 20 วันหลังดอกบาน จนถึงผลระยะเก็บเกี่ยว โดยเก็บผลทุกๆ 10 วัน มาทำ SEM เพื่อศึกษาโครงสร้างของเซลล์ โดยตัดเปลือกดองกองบริเวณ EFNs เป็นชิ้นขนาดประมาณ 0.5×0.5 เซนติเมตร จากนั้นล้างยางออกด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้วเก็บไว้ใน glutaraldehyde ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อรักษาสภาพเนื้อเยื่อ เมื่อเก็บเนื้อเยื่อครบทุกตัวอย่างแล้ว จึงนำเนื้อเยื่อไปปรนด้วย osmium tetra oxide 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำออกจากเซลล์พืช โดยแช่ในเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ (alcohol series: 10 20 50 75 90 และ 95 เปอร์เซ็นต์) ความเข้มข้นละ 10 นาที แล้วแช่ใน absolute alcohol 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที และดึงแอลกอฮอล์ออกจากเซลล์พืชด้วย critical point dried ใน liquid carbon dioxide จากนั้นนำชิ้นตัวอย่างพืชวางลงบน aluminum stub แล้วนำไปเคลือบด้วยทอง (Balzers SCD 040) จากนั้นจึงนำตรวจด้วยกล้อง SEM ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-5410LV

3.2.2 การทำ paraffin section

การเกิดโรคปื้นดำจะเริ่มเกิดที่ EFNs บนเปลือกผลดองกองก่อนแล้วกระจายไปบริเวณรอบๆ ดังนั้นจึงเริ่มเก็บผลดองกองเมื่ออายุ 20 วันหลังดอกบาน จนถึงผลระยะเก็บเกี่ยว โดยเก็บผลทุกๆ 10 วัน มาวัดขนาด และนำมาทำ paraffin section เพื่อศึกษาโครงสร้างของเซลล์ โดยตัดเปลือกดองกองบริเวณ EFNs เป็นชิ้นขนาดประมาณ 0.5×0.5 เซนติเมตร นำเนื้อเยื่อแช่ในสารละลาย FAA (Formalin-Acetic acid-Alcohol) (ภาคผนวก) เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง เพื่อหยุดการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค และคงสภาพเซลล์ (fixation) จากนั้นนำไปดึงน้ำออกจากเซลล์พืช (dehydration) โดยแช่ใน tertiary butyl alcohol ความเข้มข้นต่างๆ (alcohol series: 50 70 85 95 และ 100) (ภาคผนวก) ความเข้มข้นละ 1 วัน เมื่อครบทุกความเข้มข้นแล้วจึงเท alcohol series ออก แล้วแช่ด้วย TBA : paraffin oil อัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นดูดสารละลายออกมา แล้วเทด้วย paraffin เหลวที่ห่อหุ้มแล้วใส่ตัวอย่างพอท่วมเนื้อเยื่อ หลังจากนั้นนำเข้าตู้อบลม

ร้อน (oven: Precision Thelco) อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส ทำซ้ำ 2 ครั้ง แล้วฝังเนื้อเยื่อพืช (embedded) ลงใน paraffin โดยเติม paraffin เหลวลงไปจนเต็มแบบพิมพ์ และจัดเรียงชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อพืชให้เป็นระเบียบ ทิ้งให้ paraffin แข็งตัวอย่างน้อย 24 ชั่วโมง นำแท่ง paraffin ที่มีเนื้อเยื่อพืชฝังอยู่ภายในออกจากแบบพิมพ์ แล้วตัดเป็นชิ้นๆ ดัดบนแท่งไม้ ตัดแต่งให้แท่ง paraffin เรียบเสมอกัน ตัดด้วยเครื่อง rotary microtome รุ่น model 45 ของบริษัท Lipshaw MFG. CO. โดยตัดเนื้อเยื่อให้มีความหนา 15 ไมครอน ตัดชิ้นส่วนที่ตัดได้บนแผ่นกระจกสไลด์ที่ล้างสะอาดด้วยน้ำยาล้างเครื่องแก้ว โดยใช้สารละลาย Haupt's solution (ภาคผนวก) ทาบนแผ่นกระจก แล้วหยดสารละลาย formalin ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำชิ้นส่วนวางบนสารละลาย เพื่อให้ paraffin ยึดตัวออก วางแผ่นกระจกบน slide warmer ที่อุณหภูมิ 40 – 50 องศาเซลเซียส และย้อมสีเนื้อเยื่อพืชด้วย safranin และ fast green (ภาคผนวก) และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope

3.3 ศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราที่ติดมากับผลลองกองหลังการเก็บเกี่ยว

นำเชื้อราที่ติดมากับผลลองกองหลังการเก็บเกี่ยวมาทำการปลูกเชื้อบนผลลองกองที่มีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 12-13 สัปดาห์ โดยใช้เข็มปลายแหลมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทำแผลบริเวณผิวผลลองกองลึกประมาณ 0.1-0.2 เซนติเมตร ผลละ 1 แผล แล้วใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ตัดส่วนปลายของเส้นใยเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรค นำหลังการเก็บเกี่ยวที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน นำชิ้นวุ้นมาวางคว่ำลงบนผลลองกองบริเวณที่ทำแผล ไม่ทำแผล และบริเวณ EFNs อย่างละ 10 ผล จากนั้นนำผลลองกองมาวางในถาดโฟมหุ้มด้วยพลาสติก PVC ชนิดไสบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ตรวจการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคเมื่อผลลองกองเริ่มแสดงอาการเน่า

4. การควบคุมโรคป็นดำ

4.1 ศึกษาการใช้สารเคมีและสารชีวอินทรีย์ควบคุมโรคป็นดำในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว (พ.ศ. 2552)

การทดลองที่ 1

ติดฉลากข้อผลลองกอง (tag) ในระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะช่อดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวในพื้นที่สวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี โดยเลือกต้นลองกองที่อยู่บริเวณใกล้เคียงกัน และมีข้อผลที่อายุเท่ากัน สุ่ม tag 15 ข้อต่อต้น จำนวน 10 ต้น เมื่อผลลองกองอายุได้ 52 วันจึงจุ่มข้อผลด้วยสารเคมีและสารชีวอินทรีย์ โดยผสมสารกับสารจับใบลงในถุงพลาสติกใสขนาด 10 x 15 นิ้ว แล้วจุ่มข้อผลให้ทั่วถึงทั้งข้อทิ้งไว้ประมาณ 20 วินาที จุ่มข้อผลลองกองทุก 2 สัปดาห์ และหยุด 1 สัปดาห์ก่อนเก็บเกี่ยว ทำการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 จุ่มสารเคมี azoxystrobin ความเข้มข้น 125 ppm

กรรมวิธีที่ 2 จุ่มสารชีวอินทรีย์ *Bacillus subtilis* ความเข้มข้น 1×10^9 cfu/gm

กรรมวิธีที่ 3 จุ่มน้ำ (ควบคุม)

เริ่มจุ่มข้อผลที่อายุ 52 วัน หลังดอกบาน โดยจุ่มข้อผลทุกๆ 2 สัปดาห์จนถึงระยะเก็บเกี่ยว เป็นจำนวน 3 ครั้ง ตรวจผลโดยการนับผลที่เป็นโรคป็นดำต่อผลทั้งหมดทุกครั้งก่อนการจุ่มครั้งใหม่

การทดลองที่ 2

ติดฉลากข้อผลลองกอง (tag) ในระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะช่อดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวในพื้นที่สวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี โดยเลือกต้นลองกองที่อยู่บริเวณใกล้เคียงกัน และมีข้อผลที่อายุเท่ากัน สุ่ม tag ข้อผล 15 ข้อต่อต้น จำนวน 10 ต้น เมื่อผลลองกองติดผลอายุได้ 80 วันจึงจุ่มข้อผลด้วยสารเคมี โดยผสมสารกับสารจับใบลงในถุงพลาสติกใส

ขนาด 10 x 15 นิ้ว แล้วจุ่มข้อผลให้ทั่วถึงทั้งข้อทิ้งไว้ประมาณ 20 วินาที หลังจากนั้น 1 สัปดาห์จึงเก็บเกี่ยว ทำการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 จุ่มสารเคมี mancozeb ความเข้มข้น 1,500 ppm

กรรมวิธีที่ 2 จุ่มสารเคมี carbendazim ความเข้มข้น 1,500 ppm

กรรมวิธีที่ 3 จุ่มน้ำ (ควบคุม)

ตรวจสอบผลโดยการนับผลที่เป็นโรคขึ้นต่อผลทั้งหมดก่อนการจุ่มสารเคมี และเมื่อเก็บเกี่ยวข้อผลแล้วจึงนับผลที่เป็นโรคขึ้นต่อผลทั้งหมดอีกครั้งและวิเคราะห์การเพิ่มขึ้นของโรคโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) (Campbell and Madden, 1990)

$$\text{ตามสูตรดังนี้ } AUDPC = \sum_{i=1}^{N_i-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

y_i = การเกิดโรคเมื่อประเมินโรคเริ่มต้น

y_{i+1} = การเกิดโรคเมื่อประเมินโรคถัดมา

t_i = ระยะเวลาเมื่อประเมินโรคเริ่มต้น

t_{i+1} = ระยะเวลาเมื่อประเมินโรคถัดมา

4.1.1 ศึกษาผลของการใช้สารจับใบร่วมกับสารชีวอินทรีย์

เลี้ยงเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่ได้จากผลิตภัณฑ์เชื้อการค้าลาร์มิน่าในอาหารเหลว NB (nutrient broth) แล้วนำไปเข้าเครื่อง shaker เป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นนำอาหารที่มีเซลล์ของเชื้อ *Bacillus subtilis* ความเข้มข้น 1×10^8 cfu/gm ใส่ลงในอาหาร NA (nutrient agar) ที่อุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส เขย่าให้เซลล์แบคทีเรียกับอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกันแล้วเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ เมื่ออาหารแข็งและหน้าอาหารแห้งแล้ว นำกระดาษที่ตัดเป็นวงกลมขนาด 0.5 เซนติเมตร วางลงตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อ แล้วหยดสารจับใบที่มีชื่อการค้า นิว – ไทเกอร์ ประกอบด้วยสารสำคัญคือ alkyl aryl polyethoxylate และ sodium salt of alkyl fonated alkylate ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ที่ความเข้มข้น 0 200 400 600 800 และ 1,000 ppm ลงบนกระดาษ หลังจากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน แล้ววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone

4.2 ศึกษาการใช้สารเคมีควบคุมโรคปื้นดำในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว (พ.ศ. 2553)

ติดฉลากข้อผลดองกอง (tag) ในระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ผลอ่อนจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวในพื้นที่สวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี โดยเลือกต้นดองกองที่อยู่บริเวณใกล้เคียงกัน และมีข้อผลที่อายุเท่ากัน สุ่ม tag ข้อผล 15 ข้อต่อต้น จำนวน 10 ต้น เมื่อดองกองติดผลอายุได้ 40 วัน จึงพ่นข้อผลด้วยสารเคมีร่วมกับสารจับใบให้ทั่วถึงทั้งข้อ ทำการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นน้ำ (ควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารเคมี citric acid pH 5 ความเข้มข้น 200 ppm

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารเคมี mancozeb ความเข้มข้น 1,500 ppm

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารเคมี carbendazim ความเข้มข้น 1,500 ppm

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารเคมี sodium hypochlorite ความเข้มข้น 1,500 ppm

เริ่มพ่นข้อผลที่อายุ 40 วัน หลังดอกบาน โดยพ่นทุกๆ 2 สัปดาห์จนถึงระยะเก็บเกี่ยวเป็นจำนวน 3 ครั้ง ตรวจสอบผลโดยการนับผลที่เป็นโรคปื้นดำต่อผลทั้งหมดทุกครั้งก่อนการพ่นสารเคมี และวิเคราะห์การเพิ่มขึ้นของโรคโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (AUDPC)

ตามสูตรดังนี้

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{N_i-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

y_i = การเกิดโรคเมื่อประเมินโรคเริ่มต้น

t_i = ระยะเวลาเมื่อประเมินโรคเริ่มต้น

y_{i+1} = การเกิดโรคเมื่อประเมินโรคถัดมา

t_{i+1} = ระยะเวลาเมื่อประเมินโรคถัดมา

5. การควบคุม โรคผลเน่า

5.1 ศึกษาการใช้สารเคมีควบคุมโรคผลเน่าในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว

ติดฉลากข้อผลดองกอง (tag) ในระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ผลอ่อนจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวในพื้นที่สวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี โดยเลือกต้นดองกองที่อยู่บริเวณใกล้เคียงกัน และมีข้อผลที่อายุเท่ากัน สุ่ม tag ข้อผล 15 ข้อต่อต้น จำนวน 10 ต้น เมื่อดองกองติดผล

อายุได้ 40 วัน จึงพ่นข้อผลด้วยสารเคมีร่วมกับสารจับใบให้ทั่วถึงทั้งข้อ ทำการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นน้ำ (ควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารเคมี citric acid pH 5 ความเข้มข้น 200 ppm

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารเคมี mancozeb ความเข้มข้น 1,500 ppm

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารเคมี carbendazim ความเข้มข้น 1,500 ppm

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารเคมี sodium hypochlorite ความเข้มข้น 1,500 ppm

เริ่มพ่นข้อผลที่อายุ 40 วัน หลังดอกบาน โดยพ่นทุกๆ 2 สัปดาห์จนถึงระยะเก็บเกี่ยว เป็นจำนวน 3 ครั้ง ตรวจผลโดยเมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวนำข้อผลลงกองทุกกรรมวิธีบรรจุลงในถาด โฟม ถาดละ 1 ข้อ หุ้มด้วยพลาสติก PVC ชนิดใส (M-warp food grade) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 วันจากนั้นนับผลที่เกิดโรคเน่าต่อผลปกติและนับผลร่วงต่อผลปกติ แล้วนำผลลงกองที่เป็นโรคเน่ามาแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี tissue transplanting เพื่อตรวจสอบชนิด และปริมาณของเชื้อ

5.2 ศึกษาการใช้สารเคมีและน้ำร้อนควบคุมโรคผลเน่าในระยะหลังการเก็บเกี่ยว

การควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยว โดยการจุ่มผลลงกองหลังการเก็บเกี่ยวอายุ ผลประมาณ 80 วัน จากพื้นที่สวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี ด้วยสารเคมีต่างๆ การจุ่ม น้ำร้อน และการจุ่มด้วยสารเคมีควบคู่กับการจุ่มน้ำร้อน โดยใช้ผลลงกอง 10 ข้อผลต่อกรรมวิธี

5.2.1 จุ่มข้อผลลงกองด้วยสารเคมีต่างๆ ที่ความเข้มข้น 750 ppm ผสมกับสารจับใบ จุ่มข้อ ผลเป็นเวลา 3 นาที

กรรมวิธีที่ 1 จุ่มน้ำ (ควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 จุ่มสารเคมี prochloraz

กรรมวิธีที่ 3 จุ่มสารเคมี imazalil

กรรมวิธีที่ 4 จุ่มสารเคมี sodium hypochlorite

กรรมวิธีที่ 5 จุ่มสารเคมี hydrogen peroxide

5.2.2 จุ่มข้อผลลองกองด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 3 นาที แล้วนำมาจุ่มน้ำเย็นทันทีเพื่อลดอุณหภูมิ

กรรมวิธีที่ 1 จุ่มน้ำที่อุณหภูมิห้อง (ควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 จุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 3 จุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 4 จุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 49 องศาเซลเซียส

หลังจากนั้นเมื่อข้อผลลองกองแห้งแล้ว จึงนำข้อผลลองกองทุกกรรมวิธีบรรจุลงในถาดโฟม ถาดละ 1 ข้อ หุ้มด้วยพลาสติก PVC ชนิดใส (M-warp food grade) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 วันจากนั้นนับผลที่เกิดโรคเน่าต่อผลปกติและนับผลร่วงต่อผลปกติ แล้วนำผลลองกองที่เป็นโรคเน่ามาแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี tissue transplanting เพื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อและปริมาณ

5.3 ศึกษาการใช้สารเคมีร่วมกับน้ำร้อนควบคุมโรคผลเน่าในระยะหลังการเก็บเกี่ยว

จุ่มข้อผลลองกองด้วยสารเคมีควบคู่กับการจุ่มน้ำร้อน โดยคัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมโรคผลเน่าจากข้อ 5.2.1 และอุณหภูมิของน้ำร้อนที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมโรคผลเน่าจากข้อ 5.2.2 หลังจากนั้นเมื่อข้อผลลองกองแห้งแล้ว จึงนำข้อผลลองกองทุกกรรมวิธีบรรจุลงในถาดโฟม ถาดละ 1 ข้อ หุ้มด้วยพลาสติก PVC ชนิดใส (M-warp food grade) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 วันจากนั้นนับผลที่เกิดโรคเน่าต่อผลปกติและนับผลร่วงต่อผลปกติ แล้วนำผลลองกองที่เป็นโรคเน่ามาแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี tissue transplanting เพื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อและปริมาณ

6. การตรวจสอบปริมาณสารตกค้างของสารเคมีบนผลลองกอง โดยวิธี bioassay

6.1 การเตรียม seated agar

การเตรียม seated agar โดยนำ PDA ใส่ขวดทดสอบขวดละ 20 มิลลิลิตร แล้วเตรียม spore suspension ของเชื้อรา *Cladosporium* sp. ให้มีความเข้มข้น 1×10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ แล้วนำ spore suspension ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในการเลี้ยงเชื้อ PDA ที่หมอมแล้ว และมีอุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส ผสมเชื้อรากับอาหารเลี้ยงเชื้อให้สม่ำเสมอ แล้วเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ รอให้หน้าอาหารแห้ง

6.2 การทำกราฟมาตรฐาน

การทำกราฟมาตรฐานใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 ตัดเป็นวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร นำไปนิ่งมาเชื้อ แล้วเตรียมสารเคมีชนิดที่ต้องการให้ได้ความเข้มข้น 0 10 20 30 40 50 และ 60 ppm หลังจากนั้นใช้ปิเปตดูดสารเคมีชนิดต่างๆ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองที่วางบน seated agar แล้วนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ทำการวัดขนาดรัศมีของ clear zone ที่เกิดขึ้นโดยวัดจากจุดกึ่งกลางของชั้นกระดาษกรองถึงขอบริมของ clear zone แล้วหาค่าเฉลี่ยของแต่ละความเข้มข้นนำมาเขียนกราฟมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบสารพิษตกค้างของสารเคมี

6.3 การตรวจสอบสารตกค้างบนผลลองกอง

นำผลลองกองที่จุ่มด้วยสารเคมีที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดจากข้อ 5. มาตัดเปลือกขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร วางด้านนอกและด้านในของเปลือกลงบน seated agar บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน วัดรัศมีของ clear zone ที่เกิดรอบๆ ชิ้นเปลือกลองกอง นำค่าเฉลี่ยที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารเคมีที่สร้างขึ้นเพื่อหาสารพิษตกค้างต่อไป โดยการทดลองนี้จะตรวจสอบสารเคมีตกค้างบนเปลือกลองกองหลังจากการจุ่มด้วยสารเคมีในทุกวันหลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 วัน โดยการทดลองมี 4 กรรมวิธี ดังนี้ คือ

- กรรมวิธีที่ 1 ตรวจสอบสารตกค้างทันทีหลังการจุ่มด้วยสารเคมี
กรรมวิธีที่ 2 ตรวจสอบสารตกค้างหลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 วัน
กรรมวิธีที่ 3 ตรวจสอบสารตกค้างหลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน
กรรมวิธีที่ 4 ตรวจสอบสารตกค้างหลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 วัน

7. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ และสวนลองกองของเกษตรกร
อำพร-เจริญศรี โชคนบุญ อำเภอท่าใหม่ จ. จันทบุรี

8. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มตั้งแต่ เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2551 ถึงเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2553

ผลและวิจารณ์

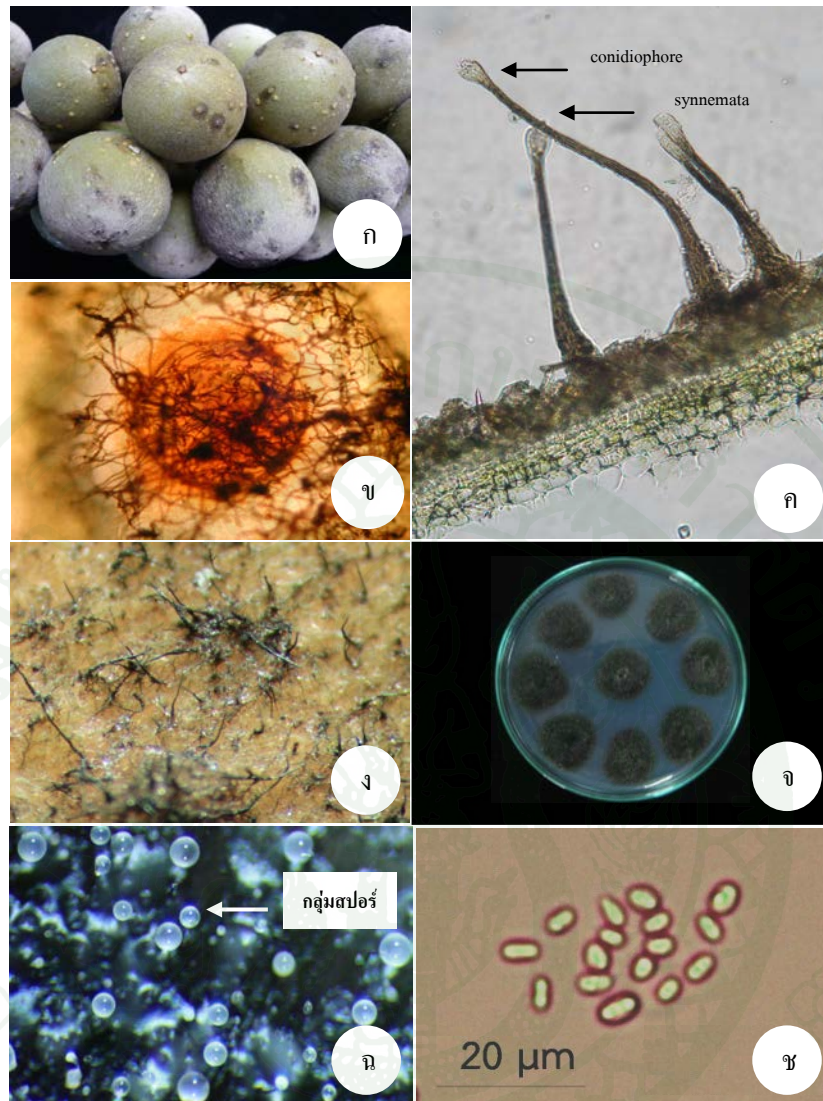
1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำ

1.1 ลักษณะรูปร่างของเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำ

ในการศึกษาครั้งนี้พบต่อมน้ำหวาน (extrafloral nectaries - EFNs) บนผลดองกอง สามารถพบได้ในพืชบางสกุลของวงศ์ Meliaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับดองกอง เช่น *Swietenia* sp. *Carapa* sp. *Cipadessa* sp. *Cedrela* sp. *Trichilia* sp. และ *Guarea* sp. และมีรายงานที่ระบุถึงสปีชีส์ คือ *Cipadessa bacifera* (Lersten and Pohl, 1985) *Guarea macrophylla* (Morellato and Oliveira, 1994) *Cedrela fissilis* (Paiva, 2007) และ *Swietenia macrophylla* (Lersten and Rugenstein, 1982) มดที่มากินน้ำหวานเหล่านี้ไม่ได้เกี่ยวข้องในการผสมเกสร (Caldwell and Gerhardt, 1986) โดย น้ำหวานที่พบบนผลดองกองมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) อย่างน้อย 32 °Brix ซึ่งเชื้อรา สาเหตุโรคป็นดำบนผลดองกองจะเริ่มเกิดให้เห็นอาการป็นดำที่บริเวณของ EFNs บนผลก่อน (ภาพ ที่ 1ข) แล้วจะกระจายไปรอบๆ เป็นรัศมีออกไป ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนผิวผลเป็นเส้นใยสีดำ เจริญแผ่อยู่เป็นจุดๆ (ภาพที่ 1ก) แต่เมื่อนำมาทำ freehand section แล้วส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยมีสีน้ำตาลเข้ม มี septate เส้นใยรวมตัวกันเป็น synnemata เป็นก้อนชู โดยที่ปลายของ synnemata สร้าง conidiophore (ภาพที่ 1ค) ซึ่งจะมีสปอร์จำนวนมากรวมกันอยู่เป็นกลุ่มคล้ายหยด น้ำ สปอร์มีรูปร่างเป็น rod-shape สีใส มี 1 เซลล์ ขนาด $2.25-3.00 \times 4.50-6.25$ ไมครอน (ภาพที่ 1ข) synnemata มีความสูง 92.50-225.00 ไมครอน กว้าง 10.00-13.75 ไมครอน และเส้นใยมีความกว้าง 3.75-5.50 ไมครอน เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA โคโลนีมีลักษณะนูน เส้นใยฟูคล้ายกำมะหยี่ ขอบไม่เรียบ มีสีเขียวเข้มถึงดำ (ภาพที่ 1จ) สร้างสปอร์รวมกันอยู่เป็นกลุ่มคล้ายหยดน้ำค้างสีขาวที่ ส่วนปลายของ synnemata กระจายอยู่ทั่วบนโคโลนี (ภาพที่ 1ฉ) และมีการเจริญของโคโลนีช้ามาก ซึ่งจากการจำแนกโดยลักษณะทางสัณฐาน เชื่อนี้อยู่ในสกุล *Leptoxylum* sp. ซึ่งลักษณะคล้ายคลึง กับรายงานของ Cheewangkoon *et al.* (2009) รายงานว่าเชื้อรา *L. madagascariense* โคโลนีมีสี น้ำตาลเข้ม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MEA (malt extract agar) ในที่ มืด เป็นระยะเวลา 5 วัน ซึ่งจะสร้างสปอร์รวมกันอยู่เป็นกลุ่มในเมือกสีขาว สปอร์มีรูปร่างเป็น rod-shape สีใส มี 1 เซลล์ ขนาด $3.0-3.5 \times 4.50-5.00$ ไมครอน synnemata มีความสูง 200-300 ไมครอน กว้าง 8-15 ไมครอน เส้นใยมีความกว้าง 3-4.5 ไมครอน มีการสร้าง chlamydospores ผนังเซลล์หนา สีน้ำตาลเข้ม

การที่มีเชื้อรา *Leptoxyphium* sp. ขึ้นปกคลุมผลลองกองที่วางขายตามท้องตลาดจนเป็นที่คุ้นตาของผู้บริโภคนั้น อาจไม่มีผลกระทบมากนักสำหรับผู้บริโภคภายในประเทศ เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคไม่ได้เข้าทำลายผลผลิตโดยตรง ไม่มีผลกระทบต่อกลิ่น และรสชาติ สามารถบริโภคได้ปกติ แต่ทำให้ผลลองกองมีปื้นสีดำ ดูไม่สะอาดตา ราคาขายต่ำ และเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออก ซึ่งมาตรฐานการส่งออกลองกองนั้นกำหนดให้ผิวผลสะอาด ปราศจากสิ่งแปลกปลอมที่สามารถมองเห็นได้ ไม่มีศัตรูพืชที่มีผลกระทบต่อรูปลักษณ์ทั่วไปของผล และไม่มี ความเสียหายของผลิตผลเนื่องมาจากศัตรูพืช (มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ [มกอช.], 2549)





ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของโรคปื้นดำบนผลลองกอง และรูปร่างของเชื้อรา *Leptoxylum* sp.

ก. ผลลองกองที่เริ่มเห็นอาการของโรคปื้นดำที่บริเวณ EFNs

ข. EFNs ที่ถูกปกคลุมด้วยเชื้อรา *Leptoxylum* sp.

ค. เชื้อรา *Leptoxylum* sp. บนเซลล์พืชโดยวิธี freehand section จากกล้อง compound microscope กำลังขยาย 40 X

ง. เชื้อรา *Leptoxylum* sp. บนผลลองกอง จากกล้อง stereo microscope

จ. ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Leptoxylum* sp. บนอาหาร PDA อายุ 10 วัน

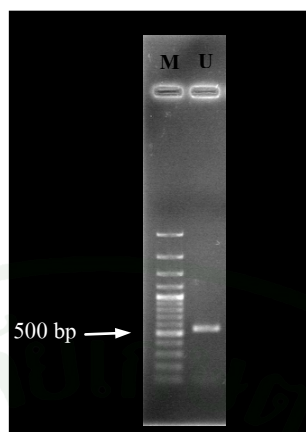
ฉ. ลักษณะกลุ่มสปอร์ของเชื้อรา *Leptoxylum* sp. บนอาหาร PDA อายุ 10 วัน

ช. สปอร์ของเชื้อรา *Leptoxylum* sp. บนอาหาร PDA อายุ 10 วัน

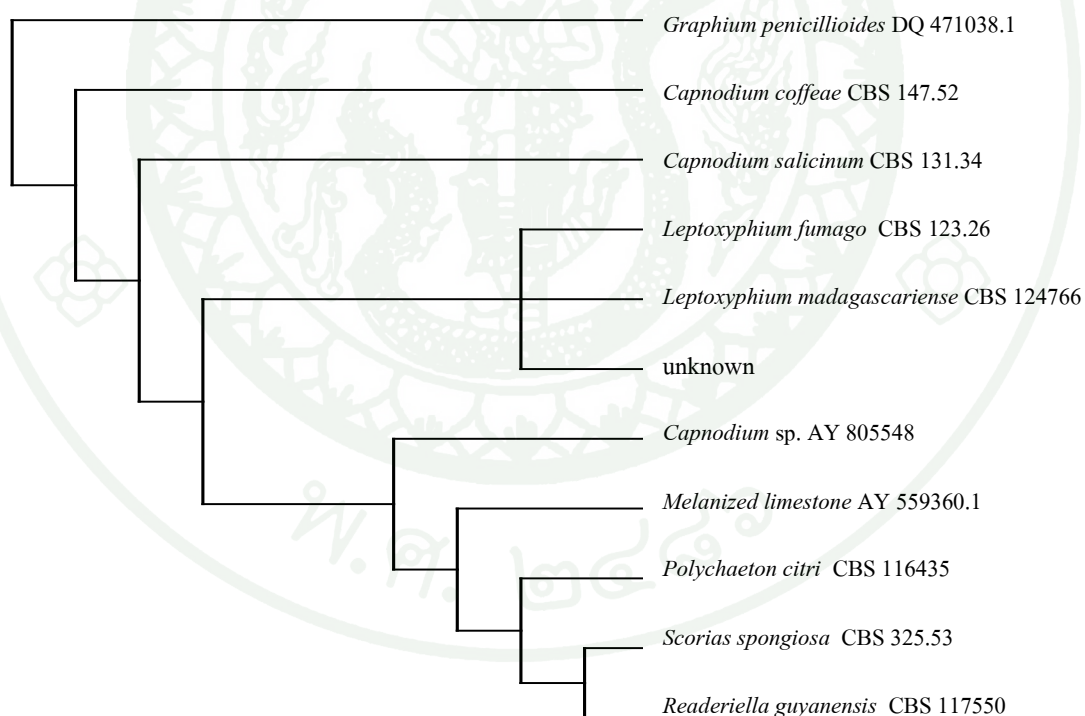
1.2 การจำแนกเชื้อราโดยใช้ข้อมูลวิทยา

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำด้วยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 ทำให้ทราบขนาดของ PCR คือประมาณ 550-600 คู่เบส (bp) (ภาพที่ 2) และเมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่วิเคราะห์ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลใน GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์มีความเหมือนกับเชื้อรา *Leptoxylum madagascariense* CBS 124766 97 เปอร์เซ็นต์ *Melanized limestone* CR-2004 strain TRN125 AY 559360.1 97 เปอร์เซ็นต์ *uncultured Capnodiaceae isolate* HPF15c GU 055977.1 92 เปอร์เซ็นต์ *Polychaeton citri* strain TRN125 CBS 116435 90 เปอร์เซ็นต์ *Capnodium* sp. AY 805548 90 เปอร์เซ็นต์ *Capnodium coffeae* isolate AFTOL-ID 939 CBS 147.52 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานทดลองของ Cheewangkoon *et al.* (2009) ที่พบเชื้อรา *Leptoxylum madagascariense* เป็นเชื้อราชนิดใหม่ ซึ่งแยกได้จากตัวอย่างโรคใบจุดของ *Eucalyptus camaldulensis* ที่นำมาจากเมือง Morondavo ประเทศ Madagascar เมื่อนำมาตรวจสอบระดับยีน พบว่ามีความเหมือนกับเชื้อรา *Microxylum citri* AY004337 98 เปอร์เซ็นต์ *Leptoxylum fumago* AB441707 98 เปอร์เซ็นต์ *Capnodium coffeae* DQ247800 96 เปอร์เซ็นต์ และ *Fumagospora capnodioides* EU019269 93 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเชื้อรา *Leptoxylum madagascariense* มีลักษณะคล้ายกับเชื้อราสปีชีส์อื่นๆ ในสกุล *Leptoxylum* แต่แตกต่างกันที่เชื้อราชนิดนี้จะสร้างสปอร์ที่ไม่มีสี (Batista and Ciferri, 1963; Hughes, 1976)

ในการศึกษาครั้งนี้สรุปว่าเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำ คือเชื้อรา *Leptoxylum* sp. ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทย โดยที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อรา *Leptoxylum madagascariense* และ *Leptoxylum fumago* (ภาพที่ 3) แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ในระดับสปีชีส์ เนื่องจากในระดับสปีชีส์ต้องการความเหมือน 99 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปกับข้อมูลใน GenBank จึงจะมีความแน่นอนในการจำแนกชนิด (species)



ภาพที่ 2 แสดงขนาด PCR product ของเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำบนผลลองกอง โดยใช้ไพรเมอร์ ITS 1 และ ITS 4 และ marker 100 bp plus



ภาพที่ 3 แสดง phylogenetic tree เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำบนผลลองกอง (unknown) กับเชื้อราชนิดอื่นที่นำลำดับนิวคลีโอไทด์มาจาก CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures) โดยใช้โปรแกรม ClustalX2

1.2 ผลการศึกษาการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำ

เชื้อรา *Leptoxylum* sp. จะสร้าง germ tube สีใส สามารถสร้างได้ทั้งด้านหัวและท้ายของสปอร์ และไม่สร้าง appressorium ซึ่งสปอร์จะเริ่มงอก 5.6 เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 17 และเพิ่มมากขึ้นทุกชั่วโมงจนกระทั่งครบ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ชั่วโมงที่ 25 (ตารางที่ 1) ซึ่งสภาพแวดล้อมในสวนที่เชื้อชนิดนี้เจริญอยู่บนผิวของผลลองกองที่มีการปล่อยน้ำหวานออกมา อาจทำให้สปอร์มีการงอกที่เร็วขึ้นกว่าในห้องปฏิบัติการ

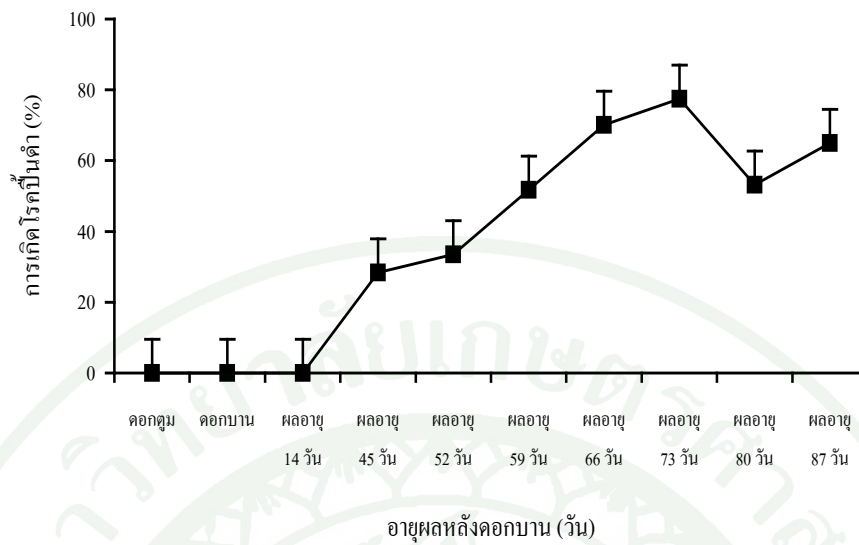
ตารางที่ 1 แสดงปริมาณความงอกของสปอร์เชื้อรา *Leptoxylum* sp. (เปอร์เซ็นต์) โดยทดสอบบนอาหาร WA ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส

ชั่วโมงที่	ปริมาณความงอกของสปอร์ (%)
17	5.6 i ^{1/}
18	10.8 h
19	21.2 g
20	31.0 f
21	50.0 e
22	75.4 d
23	84.4 c
24	90.8 b
25	100.0 a

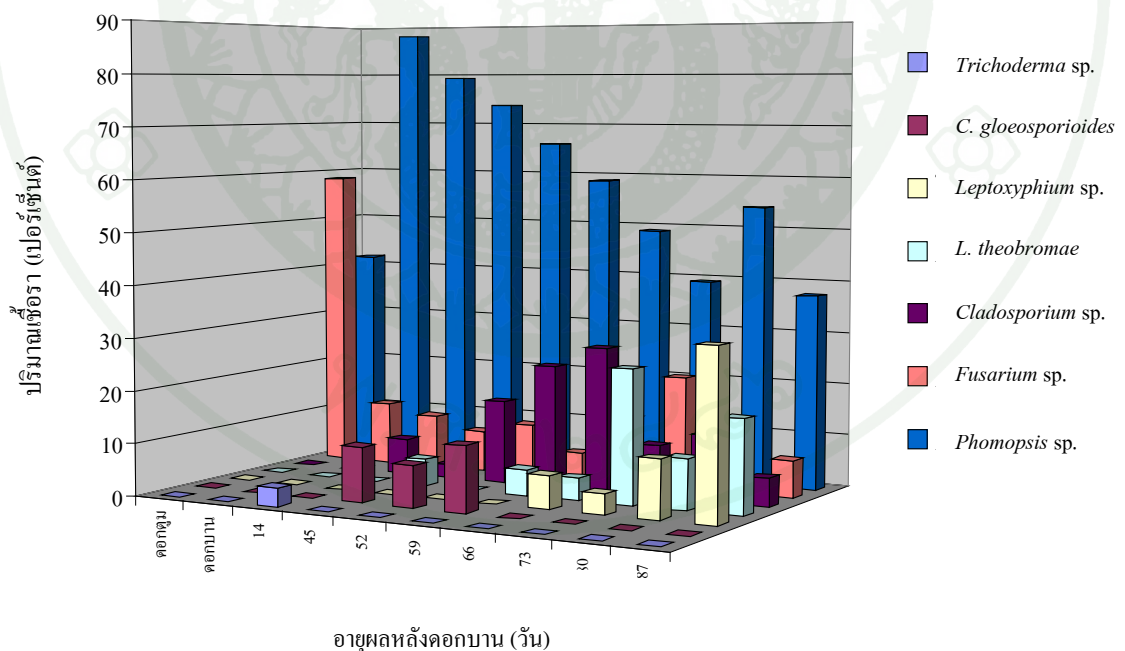
^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

2. การศึกษาการเกิดโรคปื้นดำ เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคปื้นดำและโรคผลเน่าตั้งแต่ระยะช่อดอกจนถึงระยะติดผล

การเกิดโรคปื้นดำในระยะต่างๆ ของการเจริญของผลตั้งแต่การพัฒนาดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยว พบว่าในระยะดอกตูม ดอกบาน และผลอายุ 14 วันหลังดอกบานไม่พบการเกิดโรคของเชื้อราสาเหตุโรคปื้นดำ แต่จะเริ่มพบการเข้าทำลายที่ผลอายุ 45 วัน มีอัตราเพิ่มขึ้นตามอายุของผล และลดลงเมื่อผลอายุได้ 80 วัน โดยที่ผลอายุ 45 52 59 66 73 80 และ 87 วัน พบการเข้าทำลาย 28.3 33.5 51.7 70.1 77.5 53.2 และ 65.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4) นอกจากนี้เมื่อนำผลลองกองตั้งแต่การพัฒนาดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวมาแยกเชื้อสาเหตุนั้นพบเชื้อรา *Phomopsis* sp. *Fusarium* sp. *Cladosporium* sp. *Lasiodiplodia theobromae* *Leptoxylphium* sp. *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Trichoderma* sp. โดยในทุกระยะการเจริญของผลพบเชื้อรา *Phomopsis* sp. ในปริมาณที่สูงกว่าเชื้ออื่นๆ เช่นเดียวกับ สุวรรณ (2549) ที่สำรวจเชื้อราที่ติดมากับผลลองกอง พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. สูงที่สุด 76.3 เปอร์เซ็นต์ โดยในการศึกษารุ่นนี้ ระยะดอกตูม ดอกบาน ผลอายุ 14 45 52 59 66 73 80 และ 87 วัน พบการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phomopsis* sp. 41.5 88.0 79.31 73.7 66.0 58.8 48.9 39.2 54.2 และ 37.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ยกเว้นในระยะดอกตูมที่พบเชื้อรา *Fusarium* sp. ในปริมาณที่สูงกว่าคือ 58.5 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อรา *Phomopsis* sp. *C. gloeosporioides* *Fusarium* sp. และ *Lasiodiplodia theobromae* เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าของลองกองหลังการเก็บเกี่ยว (สมใจ, 2548; สุวรรณ, 2549) อีกทั้งยังพบเชื้อรา *Leptoxylphium* sp. ที่ผลอายุ 66 73 80 และ 87 วัน ปริมาณที่พบคือ 6.4 3.9 11.1 และ 32.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 5) ซึ่งแตกต่างจากอายุผลที่แสดงอาการปื้นดำที่เริ่มเห็นการเข้าทำลายด้วยตาเปล่าที่ผลอายุ 45 วัน เนื่องจากเมื่อผลลองกองมีอายุมากขึ้นเชื้อรา *Leptoxylphium* sp. จะขึ้นปกคลุมผิวผลหนาขึ้น จึงทำให้สารฆ่าเชื้อภายนอก (sodium hypochlorite 1%) อาจไม่สามารถฆ่าเชื้อราได้ทั้งหมดที่ปรากฏอยู่บนผิวผล เชื้อราสาเหตุโรคปื้นดำมีลักษณะเป็นเส้นใยสีดำเจริญปกคลุมบริเวณตอม น้ำหวานแบบบางๆ แล้วแผ่กระจายออกเป็นรัศมีปกคลุมทั่วผิวผล ซึ่งไม่สอดคล้องกับที่นิพนธ์ (2542) ได้รายงานว่าราดำบนผลลองกองเกิดจากเชื้อรา *Meliola* sp. ส่วนสุรัชย์ (2540) รายงานว่าเกิดจากเชื้อรา *Capnodium* sp. พบปนเปื้อนอยู่บริเวณผิวผล แต่ทั้งนี้ลักษณะอาการที่เกิดขึ้นบนผลลองกองนั้นมีความแตกต่างกันคืออาการที่เกิดจากเชื้อรา *Meliola* sp. และ *Capnodium* sp. เชื้อราจะมีสีดำเข้ม ลักษณะการเจริญเป็นแผ่นปกคลุมผลลองกอง



ภาพที่ 4 แสดงการเกิดโรคป็นดำ (เปอร์เซ็นต์) ตั้งแต่การพัฒนาดอกจนถึงระยะเก็บเกี่ยว จากสวนเกษตรกร อำเภอน้ำโพธิ์ จังหวัดจันทบุรี



ภาพที่ 5 แสดงชนิดและค่าเฉลี่ยปริมาณของเชื้อรา (เปอร์เซ็นต์) ที่แยกได้จากระยะการพัฒนาดอก จนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวจากสวนเกษตรกร อำเภอน้ำโพธิ์ จังหวัดจันทบุรี

3. การศึกษาปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรค

3.1 ชนิดของน้ำหวานและผลของน้ำหวานที่ EFNs ผลิตออกมาต่อการงอกของสปอร์

จากการตรวจสอบชนิดและปริมาณน้ำตาลของน้ำหวานที่ได้จาก EFNs ของผลลองกอง (ภาพที่ 6) โดยวิธี HPLC พบน้ำตาล 3 ชนิด คือ fructose sucrose และ glucose ปริมาณที่พบคือ 48.0 34.4 และ 2.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ Bowden (1970); Caldwell and Gerhardt (1986) ที่พบน้ำตาลใน EFNs คือ glucose fructose sucrose และ sorbitol (Fourie and Holz, 1998) ที่พบบนผลของ plum และ nectarine ส่วนสารประกอบชนิดอื่นๆ ที่พบในปริมาณน้อยคือ inositol arabinose N-acetylglucosamine และ N-acetylgalactosamine (Caldwell and Gerhardt, 1986) ซึ่งเป็นแหล่งอาหารอย่างดีสำหรับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Carter and Thornburg, 2004) แตกต่างจากน้ำหวานที่ดอกไม้ปล่อยออกมาเพื่อล่อแมลงให้มาผสมเกสร ซึ่งมีชื่อเรียกว่า floral nectar ซึ่งช่วยทำให้ติดผลมากขึ้น สารประกอบที่พบใน floral nectar คือ sucrose glucose fructose organic acid amino acid terpenes alkaloids flavonoids glycosides vitamins phenolics oils potassium และ carbohydrate อย่างน้อย 11 ชนิด (Baker and Baker, 1973,1975,1982; Griebel and Hess, 1940; Rodriguez and Diaz, 1992; Vogel, 1969)

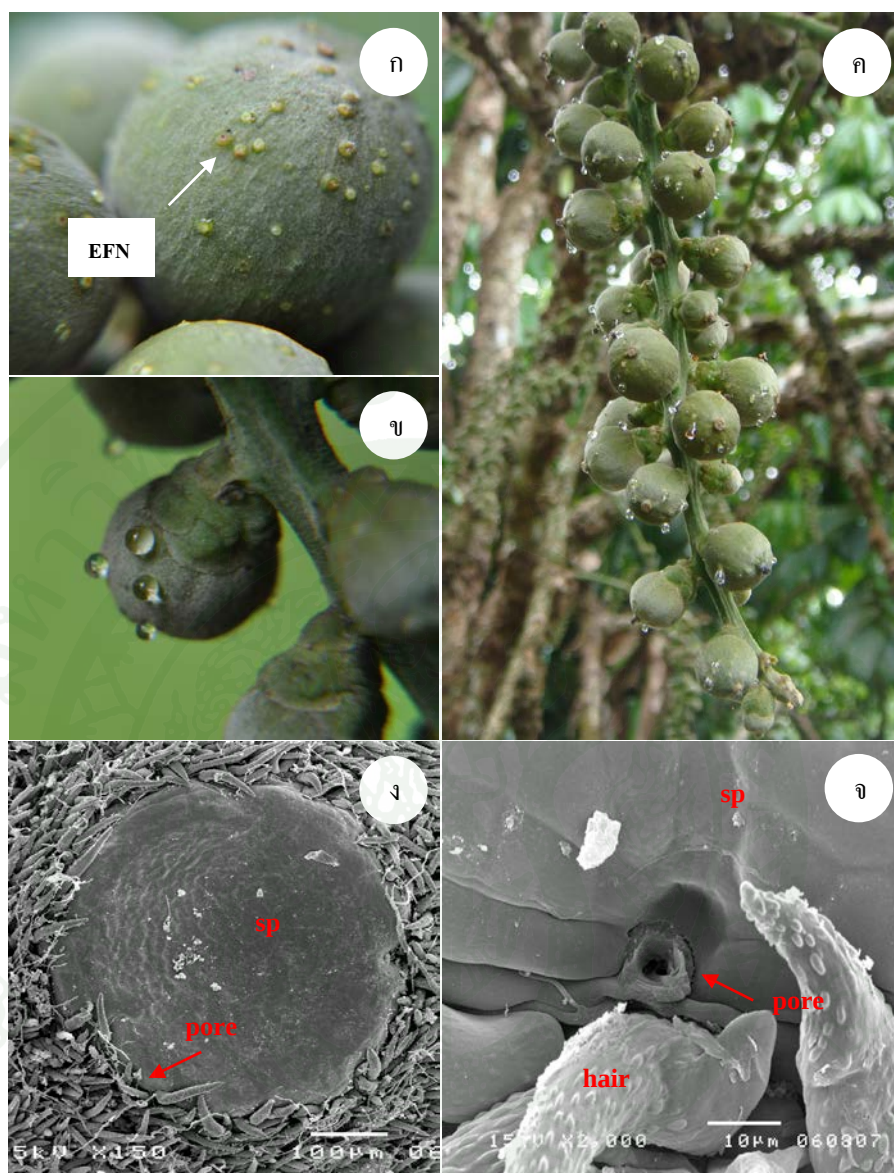
น้ำหวานที่ได้จาก EFNs ของผลลองกองที่อายุผลประมาณ 14-40 วันหลังดอกบาน จะพบว่าน้ำหวานมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้น้อย 32 °Brix ซึ่งจะเห็นว่าผลในช่วงนี้ไม่มีการเข้าทำลายของเชื้อรา *Leptoxylum* sp. (ภาพที่ 6) เนื่องมาจากว่าความเข้มข้นของน้ำหวานนั้นยังสูงอยู่ แต่เมื่อเริ่มมีฝนตกลงมาทำให้ความเข้มข้นของน้ำหวานลดลงจนเหมาะกับการเจริญของเชื้อรา *Leptoxylum* sp. น้ำหวานที่ถูกปล่อยออกมานั้นนอกจากจะเป็นแหล่งอาหารอย่างดีให้กับเชื้อจุลินทรีย์แล้ว ยังเป็นแหล่งอาหารให้กับมดชนิดต่างๆ ซึ่งนี้อาจเป็นกลไกของพืชวิธีหนึ่งตามงานทดลองของ Nascimento and Del-Claro, (2010) ได้ทำการศึกษา มดที่มากินน้ำหวานบนใบของ *Chamaecrista debilis* พบว่ามดช่วยทำให้สัตว์ที่จะเข้ามาทำลายผลลดลง และยังช่วยทำให้ติดผลมากขึ้นกว่าชุดควบคุม 50 เปอร์เซ็นต์

สปอร์ของเชื้อรา *Leptoxylum* sp. จะงอกสูงสุดที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 20.0 °Brix ที่ 54.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 17.5 และ 15.0 °Brix งอกได้ 50.5 และ 50.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งปริมาณความงอกจะลดลงตามความเข้มข้นของปริมาณของแข็ง

ที่ละลายน้ำได้ ส่วนเชื้อรา *Phomopsis* sp. สปอร์จะงอกสูงสุด 91.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 15.0 °Brix และลดลงเป็น 88.3 และ 87.3 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 17.5 และ 20.0 °Brix ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และเชื้อรา *C. gloeosporioides* สปอร์จะงอกสูงสุดที่ 62.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 12.5 °Brix ซึ่งเมื่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำมีความเข้มข้นมากขึ้นจะมีความงอกลดลง โดยเริ่มลดลงเป็น 22.3

22.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 15.0 17.5 และ 20.0 °Brix ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยที่สปอร์ของเชื้อราที่สามารถงอกในน้ำได้ดีที่สุดคือเชื้อรา *Phomopsis* sp. *C. gloeosporioides* และ *Leptoxylum* sp. มีความงอกที่ 26.8 13.0 และ 1.5

เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2)



ภาพที่ 6 ลักษณะของ EFNs บนผลลองกองและน้ำหวานที่ถูกปล่อยออกมาจาก EFNs จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

- ก. EFNs บนผลลองกองที่อายุผล 40 วัน
- ข. น้ำหวานที่ถูกปล่อยออกมาจาก EFNs ที่อายุผล 25 วัน
- ค. ช่อผลลองกองที่เต็มไปด้วยหยดน้ำหวาน
- ง. ภาพ SEM ของ secretory pole (sp) บน EFNs กำลังขยาย 150 เท่า
- จ. ภาพ SEM ของรูเปิด (pore) ที่อยู่บริเวณรอบๆ secretory pole (sp) กำลังขยาย 2,000 เท่า

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณความงอกของสปอร์เชื้อรา *Leptoxyphium* sp. *Phomopsis* sp. และ *Colletotrichum gloeosporioides* ความเข้มข้น 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (เปอร์เซ็นต์) ต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) (ได้จาก EFNs ของผลลองกอง) ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส 25 ชั่วโมง

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (°Brix)	ปริมาณความงอกของสปอร์ (%)		
	<i>Leptoxyphium</i> sp.	<i>Phomopsis</i> sp.	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
0.0 ^{2/}	1.5 h ^{1/}	26.8 e	13.0 d
2.5	7.5 g	29.8 e	49.5 b
5.0	12.5 f	59.5 d	54.0 b
7.5	20.0 e	64.8 cd	60.5 a
10.0	25.5 d	69.8 bc	62.0 a
12.5	38.0 c	76.8 b	62.5 a
15.0	50.0 b	91.5 a	22.3 c
17.5	50.5 b	88.3 a	22.0 c
20.0	54.3 a	87.3 a	20.0 c

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

^{2/} ทดสอบในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

3.2 การศึกษาโครงสร้างของ EFNs บนเปลือกผลลองกอง

3.2.1 การทำ SEM (Scanning Electron Microscope)

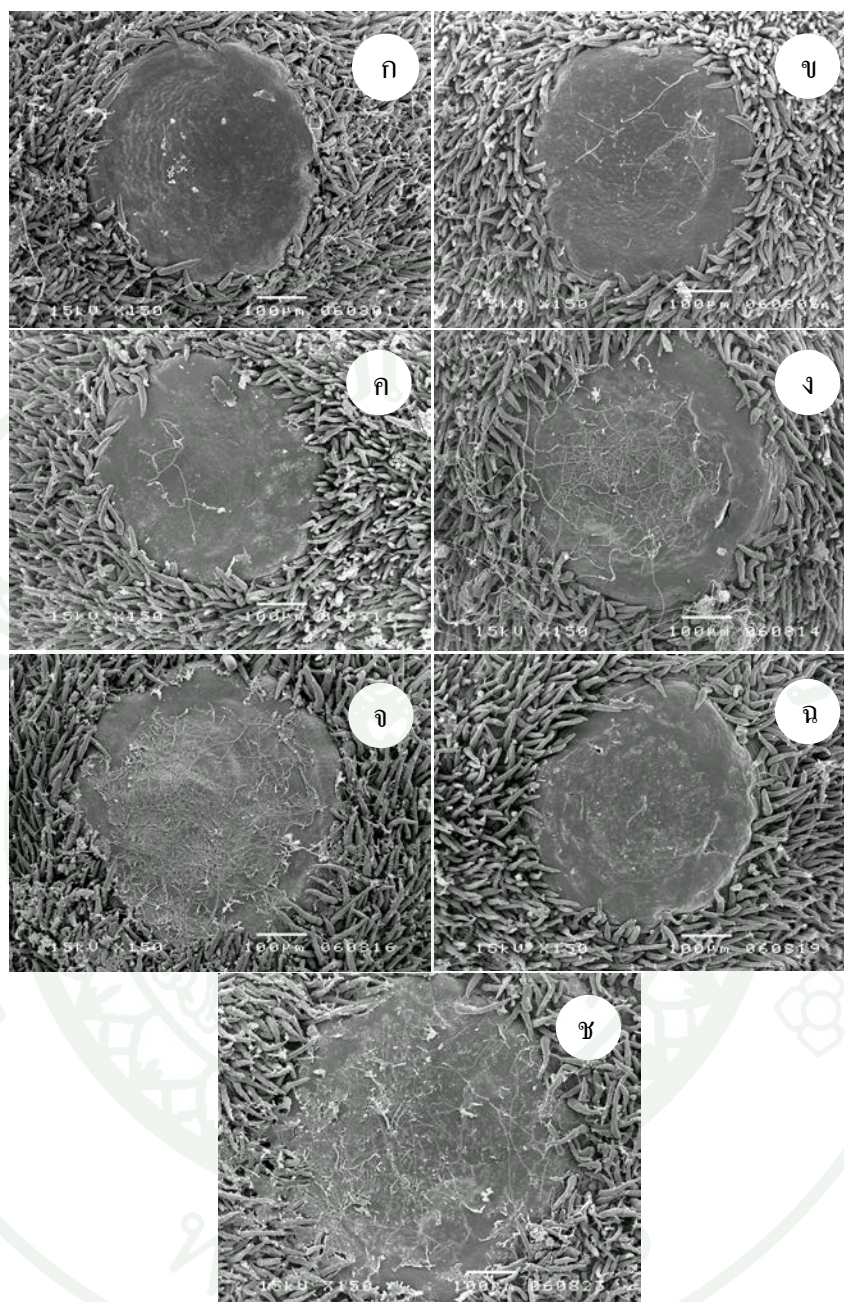
EFNs ของอายุผล 20-80 วันหลังดอกบาน มีรูปทรงค่อนข้างกลมและที่อายุผลต่างๆ ขนาดของ EFNs นั้นแตกต่างกันเล็กน้อย บริเวณผิวเปลือกพบขนปริมาณมาก แต่ไม่พบขนบริเวณ บน EFNs ซึ่งด้านบนของ EFNs มีชื่อเรียกว่า secretory pole ผิวเรียบ ไม่พบรอยแตก (ภาพที่ 7) แต่พบรูเปิดบริเวณรอบ ๆ secretory pole ซึ่งเป็นช่องทางที่น้ำหวานถูกขับออกมาภายนอกผล (ภาพที่ 6)

การศึกษาโครงสร้าง EFNs ของ *Swietenia macrophylla* (Lersten and Rugenstein, 1982) *Cedrela fissilis* Paiva (2007) และ *Guarea macrophylla* (Morelato and Oliveira, 1994) ซึ่งพืชทั้ง 3 ชนิดนี้อยู่ในวงศ์ Meliaceae จากการศึกษาไม่พบท่อลำเลียงน้ำและอาหารบน EFNs แต่ก็มี การปลดปล่อยน้ำหวานออกมาได้ ส่วน Paiva (2007) และ Paiva *et al.*, (2001) ที่ได้ศึกษาโครงสร้าง ของ EFNs บนใบของ *Cedrela fissilis* *Pterodon pubescens* Benth. และ *Pterodon polygalaeiflorus* Benth. ไม่พบปากใบ (stomata) บน secretory pole แต่จะมีการปล่อยน้ำหวานออกมาจากรอยแยก ของ cuticle ซึ่งพบว่าน้ำหวานที่ออกมาเกิดมาจาก protoderm หรือ underlying layers (Durkee, 1982; McDade and Turner, 1997) ซึ่ง protoderm เป็นเซลล์หนึ่งของ secretory structures เช่น ช่องที่ ปล่อยเรซิน (resin secretory cavities) (Solereder, 1908)

3.2.2 การทำ paraffin section

จากการนำผลลองกองที่อายุผล 20 30 40 50 60 70 และ 80 วันหลังดอกบาน ที่มี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของผลเท่ากับ 0.90×1.00 1.18×1.38 1.56×1.94 2.12×2.60 2.76×3.06 3.26×3.46 และ 3.56×3.82 เซนติเมตร ตามลำดับ มาตัดเนื้อเยื่อบริเวณ EFNs โดยวิธี paraffin section แล้วย้อมสีด้วย safranin O และ fast green พบว่าขนบนเปลือกลองกองจะติดสีแดง จาก safranin O และเซลล์ของพืชจะติดสีเขียวจาก fast green ซึ่งการติดสีภายในเซลล์จะแตกต่างกัน ไป เช่น lignin cutin suberins nuclei และ plastids จะติดสีแดง ส่วน cytoplasm และ cell wall จะติด สีเขียว ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับเนื้อเยื่อที่เชื้อราเข้าทำลาย เส้นใยของเชื้อราจะติดสีแดง และเนื้อเยื่อพืช จะติดสีเขียว (Neergaard, 1997) จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าเชื้อรา *Leptoxylum* sp. จะเจริญอยู่

บนขนของเปลือกกลองทองและบริเวณ EFNs ที่เป็นส่วนเริ่มต้นการเจริญของเชื้อรา ซึ่งไม่พบการเข้าทำลายลงในเนื้อเยื่อพืช เส้นใยของเชื้อราเป็นสีน้ำตาล เจริญปกคลุมเฉพาะบริเวณผิวเปลือกและบน EFN เท่านั้น (ภาพที่ 8) EFNs ที่อายุผล 70 และ 80 วัน เนื้อเยื่อบริเวณ secretory tissue ติดสีแดงเข้ม จาก safranin O ซึ่งแตกต่างจากอายุผลที่ 20-60 วัน (ภาพที่ 9) เนื่องมาจากว่าเมื่อผลกลองทองมีอายุมากขึ้นเซลล์จะมีการสะสมของ lignin และ suberin มากขึ้นจึงทำให้เห็นว่าเนื้อเยื่อบริเวณ secretory tissue ของผลกลองทองที่อายุ 70 และ 80 วัน ติดสีแดงเข้ม (Neergaard, 1997) ซึ่ง Vance *et al.*, (1980) กล่าวว่า การสร้าง lignin ของเซลล์พืชนั้นนอกจากจะทำให้ผนังเซลล์แข็งแรงขึ้นแล้วยังมีส่วนช่วยในการป้องกันตนเองจากเชื้อสาเหตุโรคพืชด้วย



ภาพที่ 7 ลักษณะด้านบนของ EFNs บนผลลองกองที่อายุผลต่างๆ โดยวิธี SEM ที่กำลังขยาย 150 เท่า

ก. ผลลองกองที่อายุ 20 วัน

ข. ผลลองกองที่อายุ 30 วัน

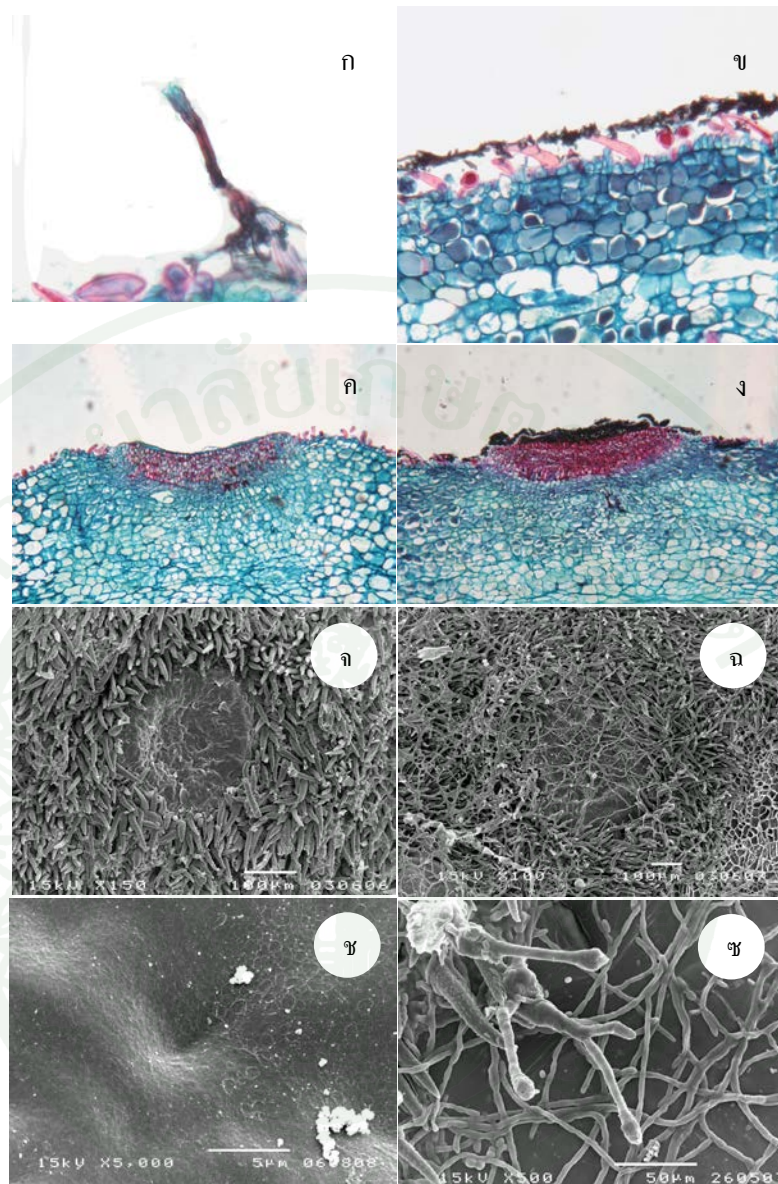
ค. ผลลองกองที่อายุ 40 วัน

ง. ผลลองกองที่อายุ 50 วัน

จ. ผลลองกองที่อายุ 60 วัน

ฉ. ผลลองกองที่อายุ 70 วัน

ช. ผลลองกองที่อายุ 80 วัน



ภาพที่ 8 แสดงลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Leptoxyphium* sp. บนเนื้อเยื่อเปลือก
 ลองกองโดยวิธีการ paraffin section และ SEM

ก. เชื้อรา *Leptoxyphium* sp. บนเนื้อเยื่อผลลองกอง กำลังขยาย 40X

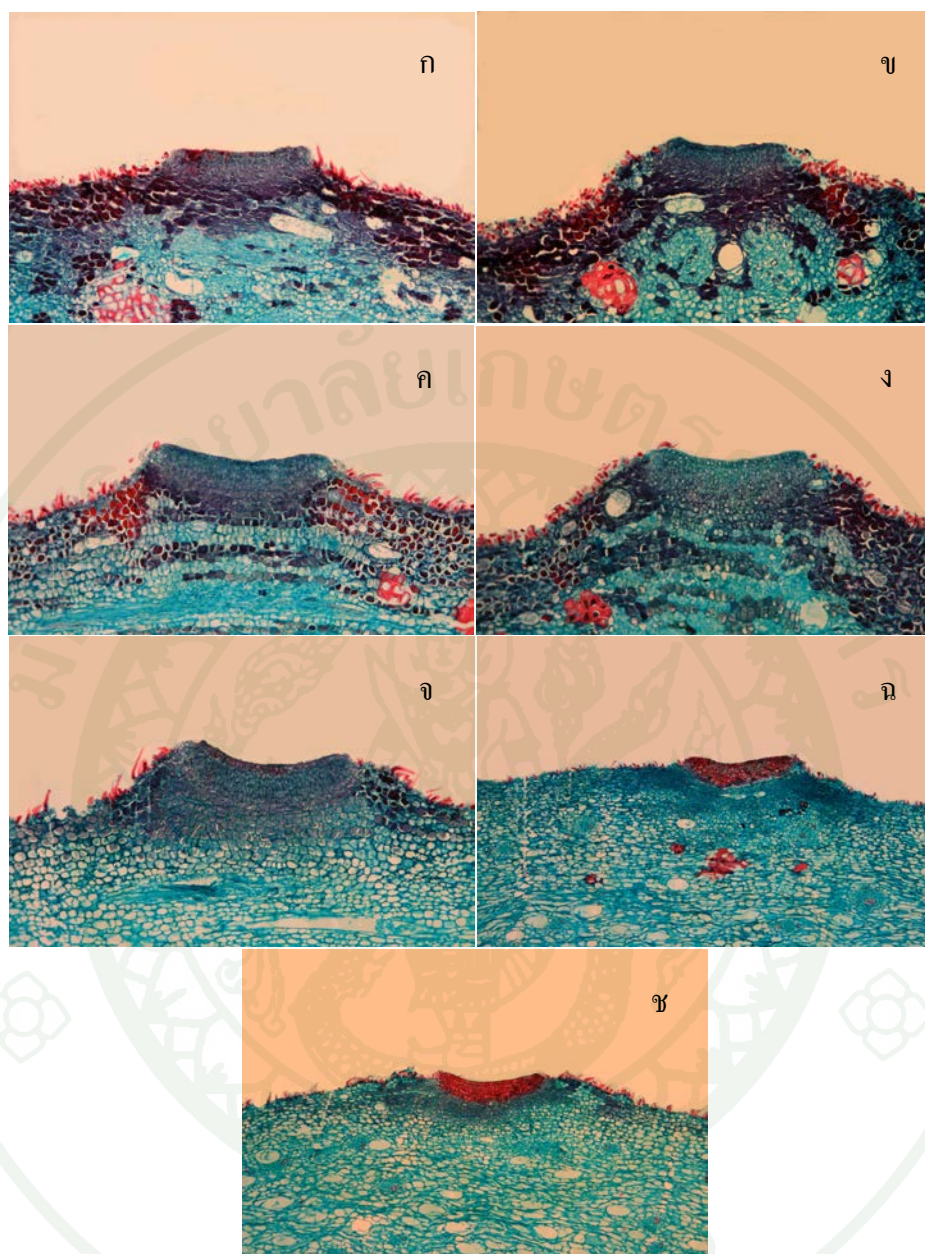
ข. เส้นใยเชื้อรา *Leptoxyphium* sp. ที่เจริญอยู่บนขนของเปลือกลองกอง กำลังขยาย 40X

ค. ภาพตัดขวาง EFN บนผลลองกองที่ไม่มีเชื้อรา *Leptoxyphium* sp. เข้าทำลาย

ง. ภาพตัดขวาง EFN บนผลลองกองที่มีการเข้าทำลายของเชื้อรา *Leptoxyphium* sp.

จ., ช. ภาพ SEM ของ EFN บนผลลองกองที่ไม่มีเชื้อรา *Leptoxyphium* sp. เข้าทำลาย

ฉ., ซ. ภาพ SEM ของ EFN บนผลลองกองที่มีการเข้าทำลายของเชื้อรา *Leptoxyphium* sp.



ภาพที่ 9 ภาพตัดขวางของ EFNs บนผลลองกองที่อายุผลต่างๆ โดยวิธีการ paraffin section เนื้อเยื่อมีความหนา 15 ไมครอน ภายใต้กล้อง compound microscope ที่กำลังขยาย 40X

ก. ผลลองกองที่อายุ 20 วัน

ข. ผลลองกองที่อายุ 30 วัน

ค. ผลลองกองที่อายุ 40 วัน

ง. ผลลองกองที่อายุ 50 วัน

จ. ผลลองกองที่อายุ 60 วัน

ฉ. ผลลองกองที่อายุ 70 วัน

ช. ผลลองกองที่อายุ 80 วัน

3.3 การศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราที่ติดมากับผลลองกองหลังการเก็บเกี่ยว

นำเชื้อราทั้ง 6 ชนิดที่แยกได้จากบริเวณผลของลองกอง คือ เชื้อรา *L. theobromae* *Pestalotiopsis* sp. *Fusarium* sp. *Phomopsis* sp. *C. gloeosporioides* และ *Leptoxylum* sp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน มาปลูกเชื้อบนผลลองกองอายุ 12-13 สัปดาห์ โดยการทำแผล ไม่ทำแผล และบริเวณ EFNs พบว่ามีเชื้อราเพียง 5 ชนิดเท่านั้น คือเชื้อรา *Phomopsis* sp. *L. theobromae* *Pestalotiopsis* sp. *Fusarium* sp. และ *C. gloeosporioides* สามารถก่อให้เกิดโรคกับผลลองกองที่ทำแผลก่อนการปลูกเชื้อรา ซึ่งจะแสดงอาการหลังจากการปลูกเชื้อ 5 วัน โดยมีการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคแตกต่างกัน แตกต่างจากรายงานของ สุวรรณ (2549) ที่พบว่าเชื้อรา *Fusarium* sp. ไม่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าหลังการปลูกเชื้อ 3 วัน การปลูกเชื้อที่ไม่ทำแผลและบริเวณ EFNs ไม่พบการเกิดโรค อาจเนื่องมาจากบริเวณ EFNs มีการสะสมของ lignin และ suberin ดังที่ Vance *et al.*, (1980) กล่าวว่าโครงสร้าง lignin ของเซลล์พืชนั้นนอกจากจะทำให้ผนังเซลล์แข็งแรงขึ้นแล้วยังมีส่วนช่วยในการป้องกันตนเองจากเชื้อสาเหตุโรคพืชด้วย

การปลูกเชื้อรา *Leptoxylum* sp. ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคป็นดำทั้งที่ทำแผล ไม่ทำแผล และบริเวณ EFNs ไม่พบการเกิดโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยว อาจเนื่องมาจากเชื้อราชนิดนี้มีการเจริญอยู่แค่บริเวณผิวผลเท่านั้น และใช้น้ำหวานที่ปล่อยออกมาจาก EFNs เป็นอาหารในการเจริญ

การปลูกเชื้อรา *L. theobromae* *Pestalotiopsis* sp. และ *Fusarium* sp. โดยทำแผลพบการเกิดโรคเท่ากันคือ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อรา *Phomopsis* sp. และ *C. gloeosporioides* พบการเกิดโรค 80 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ความรุนแรงของการเกิดโรคพบว่าเชื้อรา *L. theobromae* มีความรุนแรงสูงที่สุดคือ 14.8 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. *Fusarium* sp. *Phomopsis* sp. และ *C. gloeosporioides* มีความรุนแรง 9.6 7.5 6.6 และ 6.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การเกิดโรคจากเชื้อรา *L. theobromae* เชื้อราชนิดนี้สามารถเข้าทำลายผลได้ทางบาดแผลและทางรอยตัดของขั้วทำให้เกิดการเน่าลามอย่างรวดเร็ว เชื้อรานี้พบปนเปื้อนอยู่บริเวณผิวผล พืชอาศัยชนิดต่าง ๆ และในดิน ทำลายเนื้อเยื่อผลได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากสามารถสร้างเอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น amylase invertase protopectinase (Chakrabarti and Nandi, 1978) protease

pectinase และ cellulase (Nagaraja *et al.*, 1971) Adisa and Fajola (1982) พบว่าเชื้อชนิดนี้สร้าง pectin methyl esterases (PME) polygalacturonase (PG) ซึ่งช่วยในการย่อยผนังเซลล์ของผลไม้ทำให้เกิดการเน่าอย่างรุนแรงและรวดเร็ว เชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. เข้าทำลายผลไม้ทางขั้วผลและทางบาดแผลบริเวณผลขณะการเก็บเกี่ยว เชื้อรา *Phomopsis* sp. มีรายงานการแพร่ระบาดในสวนผลไม้เนื่องจากมีสภาพอากาศเหมาะกับการเจริญของเชื้อ สามารถเข้าทำลายแบบแฝงได้ ในขณะที่เชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชหลายชนิด ทำให้ผลเน่าเสียทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว มีการเข้าทำลายแบบแฝง โดยจะแสดงอาการเมื่อผลไม้สุกหรือแก่เต็มที่ สามารถเข้าทำลายได้ทางบาดแผล ช่องเปิดธรรมชาติ

ตารางที่ 3 การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae*

Pestalotiopsis sp. *Fusarium* sp. *Phomopsis* sp. *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Leptoxylum* sp. บนผลลองกอง หลังจากปลูกเชื้อบริเวณ EFNs การทำแผลและไม่ทำแผล แล้วบ่มไว้ในอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน

เชื้อรา	การเกิดโรค (%)			ความรุนแรงของโรค (%)		
	EFNs	ไม่ทำแผล	ทำแผล	EFNs	ไม่ทำแผล	ทำแผล
<i>L. theobromae</i>	0.0	0.0	100.0 a ^{1/}	0.0	0.0	14.8 a
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	0.0	0.0	100.0 a	0.0	0.0	9.6 b
<i>Fusarium</i> sp.	0.0	0.0	100.0 a	0.0	0.0	7.5 bc
<i>Phomopsis</i> sp.	0.0	0.0	80.0 ab	0.0	0.0	6.6 c
<i>C. gloeosporioides</i>	0.0	0.0	70.0 b	0.0	0.0	6.0 c
<i>Leptoxylum</i> sp.	0.0	0.0	0.0 c	0.0	0.0	0.0 d

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธี DMRT

4. การศึกษาการควบคุมโรคปื้นดำ

4.1 ผลการศึกษาการใช้สารเคมีและสารชีวอินทรีย์ควบคุมโรคปื้นดำในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว (พ.ศ. 2552)

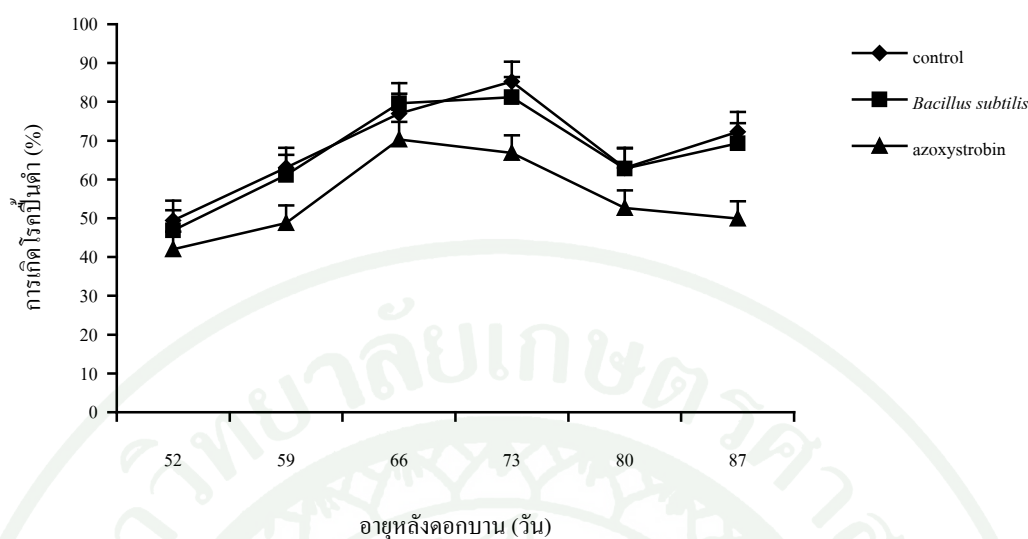
การทดลองที่ 1

การใช้สารเคมี azoxystrobin และสารชีวอินทรีย์ *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคปื้นดำทุก 2 สัปดาห์ พบว่ามีอัตราการเกิดโรคยังคงเพิ่มขึ้นทั้ง 3 กรรมวิธี และลดลงเมื่อผลดองกองอายุได้ 80 วัน แต่ชุดที่จุ่มด้วย azoxystrobin เริ่มมีการเกิดโรคลดลงเมื่อผลดองอายุได้ 73 วัน หรือผ่านการจุ่มซ่อผลมาแล้ว 2 ครั้ง และลดลงเรื่อยๆ จนถึงระยะเก็บเกี่ยว คือจาก 70.3 เปอร์เซ็นต์ ลดลงเป็น 66.8 52.7 และ 49.9 เปอร์เซ็นต์ ที่ผลอายุ 66 73 80 และ 87 วัน ตามลำดับ และสามารถลดการเกิดโรคได้ ตั้งแต่การจุ่มซ่อผลดองกองครั้งแรก เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและชุดที่จุ่มด้วยแบคทีเรีย *B. subtilis* (ภาพที่ 10) จากการคำนวณการเพิ่มขึ้นของโรคโดยใช้วิธี area under the disease progress curve (AUDPC) พบว่ากรรมวิธีที่จุ่มด้วย azoxystrobin สามารถควบคุมโรคได้ โดยมีค่า AUDPC 1991.5 แต่กรรมวิธีที่จุ่มด้วยแบคทีเรีย *B. subtilis* ไม่สามารถควบคุมโรคได้ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม ซึ่งมีค่า AUDPC 2398.5 และ 2443.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) เนื่องจากสารจับใบมีผลต่อการเจริญของเซลล์ โดยเมื่อทดสอบผลของการใช้สารจับใบร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* พบว่า สารจับใบมีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์แบคทีเรีย *B. subtilis* จึงทำให้เกิด clear zone บริเวณที่หยดด้วยสารจับใบ ความเข้มข้น 0 200 400 600 800 และ 1,000 ppm มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone 0 1.1 1.3 1.3 1.3 และ 1.4 เซนติเมตร โดยที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ความเข้มข้น 400 600 800 และ 1,000 ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้การควบคุมโรคปื้นดำด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไม่สามารถควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่ง Okigbo and Osuinde (2003) กล่าวว่า การใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* NCIB 3610 ควบคุมโรคใบจุดของมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Pestalotiopsis mangiferae* *Botryodiplodia theobromae* และ *Macrophoma mangiferae* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 57 61 และ 58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำไปทดลองในแปลงปลูกพบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้

การควบคุมโรคของลองกองก่อนการเก็บเกี่ยวโดยการฉีดพ่นด้วยสารเคมีหรือสารชีวอินทรีย์นั้นมีความจำเป็นในการใช้สารจับใบ เนื่องจากช่วงที่ลองกองออกผลผลิตตรงกับฤดูฝน ดังนั้นการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชนั้นควรคำนึงถึงการนำไปใช้งานจริงในแปลงปลูกพืช เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เป็นเชื้อที่มีชีวิต จึงมีข้อจำกัดในการนำไปใช้หลายประการ

การทดลองที่ 2

การใช้สารเคมี mancozeb และ carbendazim ควบคุมโรคปื้นดำ 1 สัปดาห์ ก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่าทั้ง 3 กรรมวิธีไม่สามารถควบคุมโรคได้ จากการคำนวณการเพิ่มขึ้นของโรคโดยใช้วิธี (area under the disease progress curve-AUDPC) โดยในกรรมวิธีควบคุม mancozeb และ carbendazim มีค่า AUDPC 992.2 964.0 และ 1027.1 ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 6 และ ภาพที่ 11)



ภาพที่ 10 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบดำนบนผลดองกองในระหว่างการใช้สารเคมี azoxystrobin และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว โดยจุ่มสารทุก 2 สัปดาห์ จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

ตารางที่ 4 การเพิ่มขึ้นของโรคใบดำนโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมี azoxystrobin และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว โดยจุ่มสารทุก 2 สัปดาห์ จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

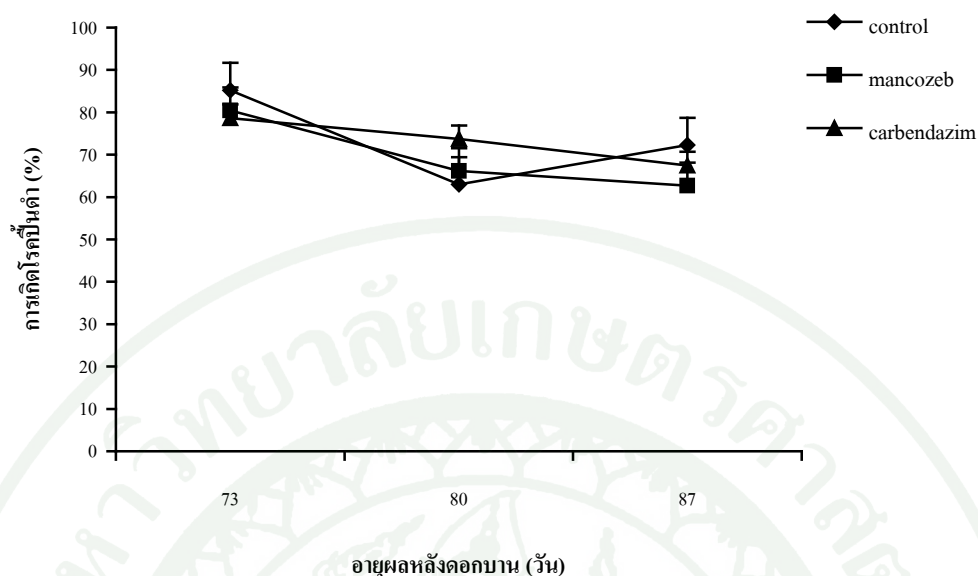
กรรมวิธี	การเพิ่มขึ้นของโรคใบดำน
จุ่มน้ำ	2443.5 a ^{1/}
<i>Bacillus subtilis</i>	2398.5 a
azoxystrobin 125 ppm	1991.5 b

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (เซนติเมตร) ที่เกิดจากสารจับใบมีผลกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* บนอาหาร NA หลังจากบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 วัน

ความเข้มข้นของสารจับใบ (ppm)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (ซม.)
0	0 c ^{1/}
200	1.1 b
400	1.3 a
600	1.3 a
800	1.3 a
1000	1.4 a

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธี DMRT



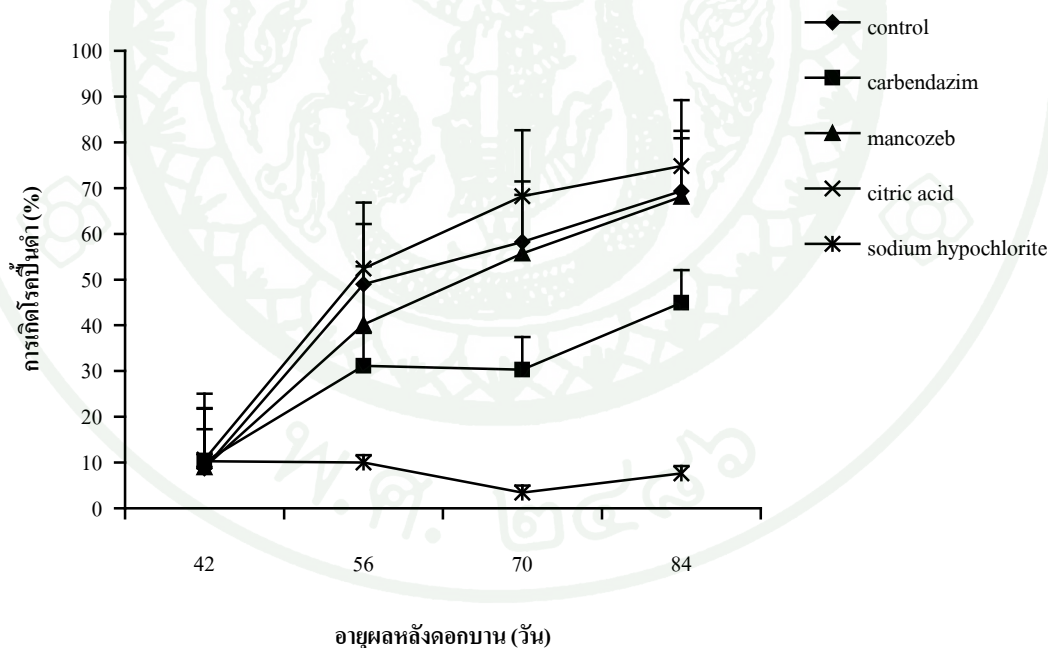
ภาพที่ 11 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราน้ำดำบนผลลองกองในระหว่างการใช้สารเคมี mancozeb และ carbendazim ควบคุม 1 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

ตารางที่ 6 การเพิ่มขึ้นของโรคราน้ำดำโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมี mancozeb และ carbendazim จุ่มช่อผล 1 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

กรรมวิธี	การเพิ่มขึ้นของโรคราน้ำดำ
จุ่มน้ำ	992.2 a
mancozeb 1,500 ppm	964.0 a
carbendazim 1,500 ppm	1027.1 a

4.2 ผลการศึกษาการใช้สารเคมีควบคุมโรคปื้นดำในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว (พ.ศ. 2553)

การใช้สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite พ่นข้อผลลองกองทุก 2 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยวเพื่อควบคุมโรคปื้นดำ พบว่า sodium hypochlorite สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดีที่สุด โดยมีค่า AUDPC 313.7 แต่เมื่อเก็บเกี่ยวแล้วนำมาเก็บรักษา พบว่ามีปริมาณผลร่วงมาก (ตารางที่ 8) สารเคมีที่มีประสิทธิภาพรองลงมาคือ carbendazim และ mancozeb โดยมีค่า AUDPC 1245.5 และ 1881.7 ตามลำดับ แต่ citric acid ไม่สามารถควบคุมโรคได้และมีการเพิ่มขึ้นของโรรมากกว่ากรรมวิธีควบคุม โดยมีค่า AUDPC 2287.1 และ 2046.9 ตามลำดับ (ภาพที่ 12 และตารางที่ 7) ซึ่งการใช้สารเคมี carbendazim และ mancozeb ควบคุมโรคปื้นดำ 1 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่าไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ ดังนั้นการใช้สารเคมี carbendazim และ mancozeb ควบคุมโรคปื้นดำควรพ่นข้อผลก่อนการเก็บเกี่ยวทุก 2 สัปดาห์ จะให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่า



ภาพที่ 12 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคปื้นดำบนผลลองกองในระหว่างการใช้สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว โดยฉีดพ่นสารทุก 2 สัปดาห์ จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

ตารางที่ 7 การเพิ่มขึ้นของโรคใบด่างโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใส่สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยวโดยฉีดพ่นสารทุก 2 สัปดาห์ จากสวนเกษตรกร อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

กรรมวิธี	การเพิ่มขึ้นของโรคใบด่าง
ฉีดพ่นน้ำ	2046.9 b ^{1/}
carbendazim 1,500 ppm	1245.5 d
mancozeb 1,500 ppm	1881.7 c
citric acid pH 5 200 ppm	2287.1 a
sodium hypochlorite 5,000 ppm	313.7 e

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธี DMRT

5. ผลการศึกษาการควบคุม โรคผลเน่า

5.1 ผลการศึกษาการใช้สารเคมีควบคุม โรคผลเน่าในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว

การใช้สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite พ่นข้อผลดองทุก 2 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยวเพื่อควบคุมโรคผลเน่า พบว่าการเกิดโรคผลเน่าลดลง 96.4 56.3 45.4 และ 44.7 เปอร์เซ็นต์ และสามารถลดการร่วงของผลได้ 80.7 63.6 65.1 และ 9.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 8) ซึ่ง carbendazim สามารถลดโรคผลเน่าและการร่วงของผลได้ดีที่สุด อาจเนื่องมาจาก carbendazim เป็นสารกำจัดเชื้อราประเภทดิวซินิม (Brent and Hollomon, 2007) โดยสามารถกำจัดเชื้อราที่เข้าทำลายแบบแฝงได้ดี (latent infection) สอดคล้องกับ รณภพ และคณะ (2539) ได้ทดลองฉีดพ่นผลเงาะด้วย carbendazim ก่อนการเก็บเกี่ยว 1 สัปดาห์พบว่าสามารถลดการเกิดผลเน่าได้ และเมื่อนำผลดองที่เกิดโรคผลเน่าหลังการเก็บรักษามาแยกเชื้อเพื่อชนิดและปริมาณของเชื้อรา โดยเชื้อราที่พบคือ *Phomopsis* sp. *L. theobromae* และ *C. gloeosporioides* ซึ่งกรรมวิธีที่พ่นด้วย carbendazim พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. ในปริมาณที่น้อยที่สุดคือ 33.3 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 13) สอดคล้องกับที่กรรมวิธีดังกล่าวสามารถควบคุมโรคผลเน่าได้ดีที่สุด ซึ่งเชื้อรา *Phomopsis* sp. เป็นเชื้อสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าของดองดอง (สมใจ และ สมศิริ, 2546; สุวรรณ, 2549) สามารถพบเชื้อราชนิดนี้แพร่ระบาดอยู่ทั่วไปในประเทศไทยโดยส่วนใหญ่มีการแพร่ระบาดในบริเวณสวนผลไม้ เนื่องจากมีสภาพอากาศร้อนชื้นเหมาะกับการเจริญของเชื้อ ก่อให้เกิดความเสียหายกับผลไม้หลายชนิด เช่น เงาะ ทุเรียน มังคุด มะม่วง ขนุน (Sangchote, 1987; Sangchote and Pongpisutha, 1998) โดยเชื้อสามารถแพร่ระบาดในสวนเข้าสู่ผลตั้งแต่ระยะพัฒนาขนาดของผลและพักตัวจนผลแก่

5.2 ศึกษาการใช้สารเคมีและน้ำร้อนควบคุม โรคผลเน่าในระยะหลังการเก็บเกี่ยว

การควบคุมโรคผลเน่าโดยจุ่มข้อผลดองหลังการเก็บเกี่ยวด้วย prochloraz imazalil sodium hypochlorite และ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 750 ppm พบว่าสารเคมีทุกชนิดสามารถลดการเกิดโรคผลเน่าได้ตั้งแต่ 77.7 69.2 40.0 และ 21.7 เปอร์เซ็นต์ และสามารถลดการร่วงของผลได้ 74.2 57.1 35.3 และ 23.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 9) จากการนำผลดองที่เป็นโรคผลเน่ามาแยกเชื้อสาเหตุ พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. *Fusarium* sp.

C. gloeosporioides *L. theobromae* *Leptoxylum* sp. และ *Cladosporium* sp. (ภาพที่ 14) ซึ่งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าคือ *Phomopsis* sp. *C. gloeosporioides* *L. theobromae* และ *Fusarium* sp. (สมใจ, 2548; สุวรรณ, 2549) โดยไม่พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. ในกรรมวิธีที่จุ่มด้วย prochloraz ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุหลักของโรคผลเน่า แต่พบเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าเพียงชนิดเดียวคือเชื้อรา *L. theobromae* สอดคล้องกับที่ Prusky *et al.* (1999) รายงานว่าการใช้ prochloraz จุ่มผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวสามารถทำลายเชื้อรา *Alternaria alternata* ที่เข้าทำลายแบบแฝงได้ดี ส่วนกรรมวิธีที่จุ่มด้วย imazalil พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. ในปริมาณที่น้อยที่สุดคือ 18.2 เปอร์เซ็นต์

การใช้สารเคมีหลังการเก็บเกี่ยวจะเลือกใช้สารที่มีพิษตกค้างต่ำ ไม่เป็นสารประเภทดูดซึม ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ imidazole เช่น prochloraz imazalil เนื่องจากเมื่อนำสารเคมีมาใช้ควบคุมโรคแล้วไม่กัวันก็จะนำส่งถึงผู้บริโภค

การจุ่มข้อผลดองกองด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45 47 และ 49 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที สามารถลดการเกิดโรคผลเน่าได้ 39.7 57.8 และ 46.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และลดการร่วงของผลได้ 25.4 32.2 และ 47.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคผลเน่า (ตารางที่ 10) และเป็นกรรมวิธีที่พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. น้อยที่สุดในผลที่เป็นโรคเน่าคือ 42.4 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 15) สอดคล้องกับ Hong *et al.* (2007) ใช้ น้ำร้อนจุ่มผลส้มที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส 2 นาที 55 องศาเซลเซียส 1 นาที และ 60 องศาเซลเซียส 20 วินาที สามารถลดการเกิดโรคผลเน่าของส้มได้ และ Olesen *et al.* (2004) จุ่มผลลิ้นจี่หลังการเก็บเกี่ยวด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 48 50 และ 52 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที โดยทั้ง 3 กรรมวิธีสามารถลดการเกิดโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Penicillium* sp. และ *Alternaria* sp. ได้โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

5.3 ศึกษาการใช้สารเคมีร่วมกับน้ำร้อนควบคุมโรคผลเน่าในระยะหลังการเก็บเกี่ยว

การจุ่มข้อผลดองกองด้วย prochloraz 750 ppm และ prochloraz ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส 750 ppm สามารถลดการเกิดโรคได้ 93.5 และ 83.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และการจุ่มด้วย prochloraz เพียงอย่างเดียวสามารถลดการร่วงของผลได้ดีที่สุดคือ 83.9 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11) โดยกรรมวิธีที่จุ่มด้วย prochloraz เพียงอย่างเดียว และ prochloraz ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นั้นไม่พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. (ภาพที่ 16) สอดคล้องกับที่ Prusky *et*

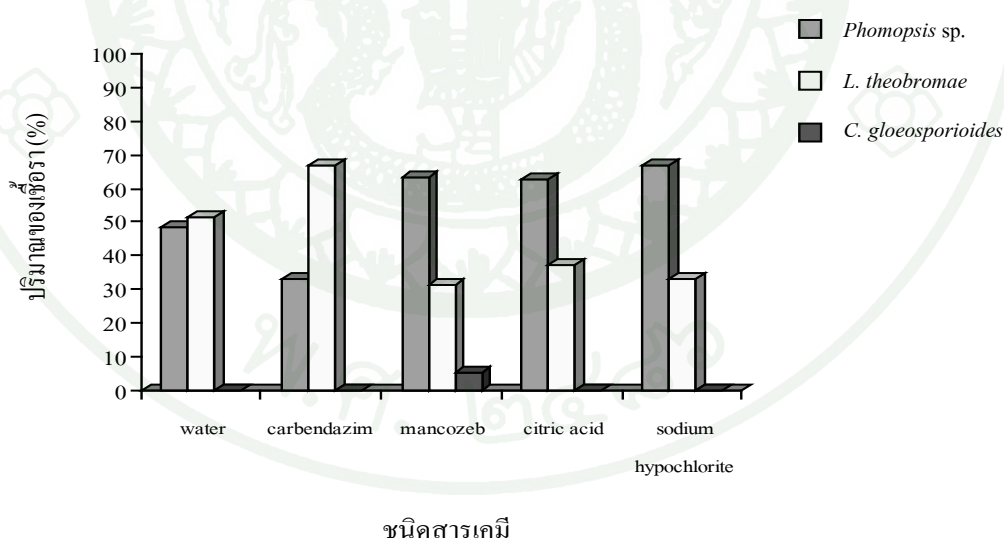
al. (1999) รายงานว่าการใช้ prochloraz จุ่มผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวสามารถทำลายเชื้อรา *Alternaria alternata* ที่เข้าทำลายแบบแฝงได้ดี และในปี 2006 Prusky *et al.* (2006) ได้ทดลองใช้ prochloraz 45-900 ppm ร่วมกับกรด HCl 50 mM ควบคุมโรคผลเน่าของมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria alternata* โดยการฉีดพ่นผลมะม่วงหลังการทำ hot water spraying brushing (HWH) พบว่าหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เกิดเน่าเสียที่ผลไม่เกิน 2 เปอร์เซ็นต์ Wade *et al.* (1993) ใช้ prochloraz ควบคุมโรคเน่าของกล้วยหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum musa* *Phomopsis musicola* *L. theobromae* *Alternaria alternata* และ *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* โดยการจุ่มผลหลังการเก็บเกี่ยว หลังจากนั้นเก็บไว้ในสภาพคัดแปลงบรรยากาศ พบว่าสามารถควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งแตกต่างจากการทดลองนี้ที่ prochloraz ไม่สามารถควบคุมโรคเน่าของลองกองที่เกิดจากเชื้อรา *L. theobromae* ได้

การใช้สารเคมีควบคุมโรคผลเน่าของลองกองสามารถปฏิบัติได้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว แต่การปฏิบัติก่อนการเก็บเกี่ยวนั้นอาจทำให้สารเคมีที่ใช้มีประสิทธิภาพลดลง เนื่องจากช่วงฤดูที่ลองกองออกผลผลิตนั้นตรงกับฤดูฝน แตกต่างจากการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวซึ่งมีความสะดวก รวดเร็ว สารเคมีมีประสิทธิภาพเต็มที่ และสามารถลดการเกิดโรคได้ดีเช่นเดียวกัน แต่ควรใช้สารเคมีที่มีพิษตกค้างต่ำ สลายตัวเร็ว เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและลดการกีดกันทางการค้า ซึ่งวิธีการจุ่มน้ำร้อนก็มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ แต่ประสิทธิภาพดีไม่เท่าการใช้สารเคมี การจุ่มน้ำร้อนจึงเป็นทางเลือกหนึ่งของการจัดการโรคที่ราคาถูก ไม่มีสารตกค้าง ปลอดภัยทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค

ตารางที่ 8 การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของลองกองและการร่วงของช่อผล (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการพ่นด้วยสารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ก่อนการเก็บเกี่ยว แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธี	ลดการเกิดโรค (%)	ลดการร่วงของผล (%)
น้ำ	0.0 c ^{1/}	0.0 b
carbendazim 1,500 ppm	96.4 a	80.7 a
mancozeb 1,500 ppm	56.3 b	63.6 a
citric acid pH5 200 ppm	45.4 b	65.1 a
sodium hypochlorite 5,000 ppm	44.7 b	9.5 b

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

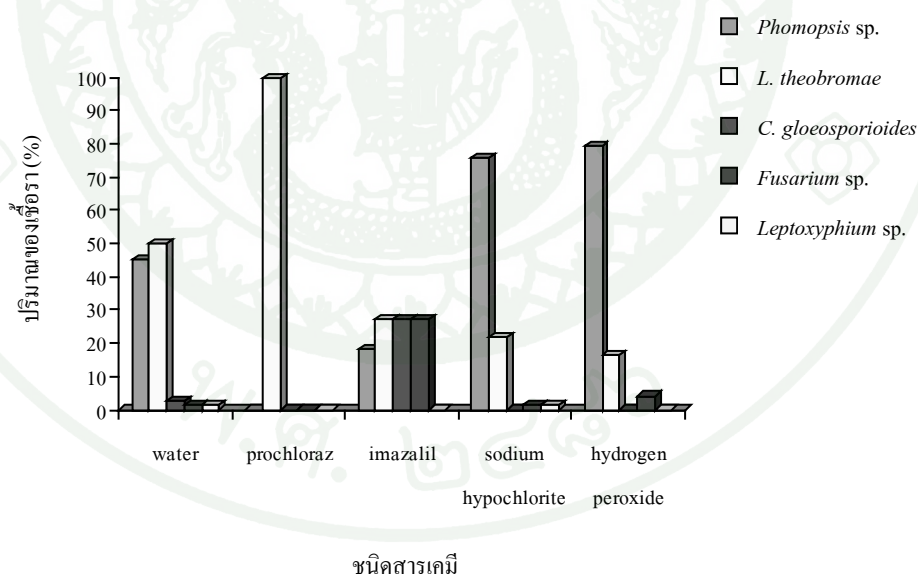


ภาพที่ 13 แสดงปริมาณ (เปอร์เซ็นต์) และชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากลองกองที่เป็นโรคผลเน่าหลังจากหลังการเก็บเกี่ยว โดยการพ่นด้วยสารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ทุก 2 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

ตารางที่ 9 การทดลองของการเกิดโรคผลเน่าของลองกองและการร่วงของช่อผล (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มด้วยสารเคมี imazalil prochloraz sodium hypochlorite และ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 750 ppm นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธี	ลดการเกิดโรค (%)	ลดการร่วงของผล (%)
น้ำ	0.0 c ^{1/}	0.0 d
imazalil	69.2 a	57.1 ab
prochloraz	77.7 a	74.2 a
sodium hypochlorite	40.0 b	35.3 bc
hydrogen peroxide	21.7 bc	23.3 cd

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

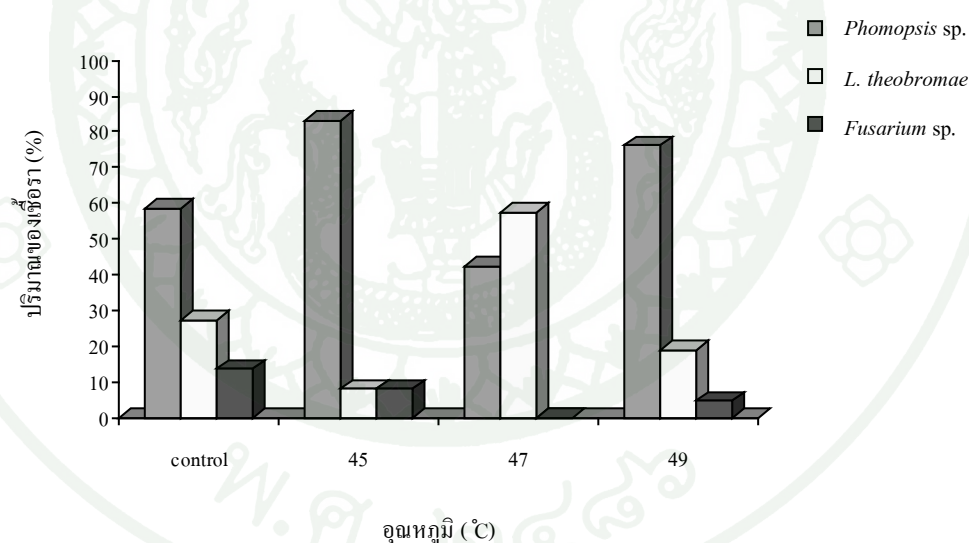


ภาพที่ 14 แสดงปริมาณ (เปอร์เซ็นต์) และชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากลองกองที่เป็นโรคผลเน่า หลังจากการจุ่มด้วยสารเคมี imazalil prochloraz sodium hypochlorite และ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 750 ppm นาน 3 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

ตารางที่ 10 การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของลองกองและการร่วงของข้อผล (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธี	ลดการเกิดโรค (%)	ลดการร่วงของผล (%)
น้ำที่อุณหภูมิห้อง	0.0 b ^{1/}	0.0 b
น้ำร้อน 45 °C	39.7 a	25.4 ab
น้ำร้อน 47 °C	57.8 a	32.2 ab
น้ำร้อน 49 °C	46.7 a	47.5 a

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

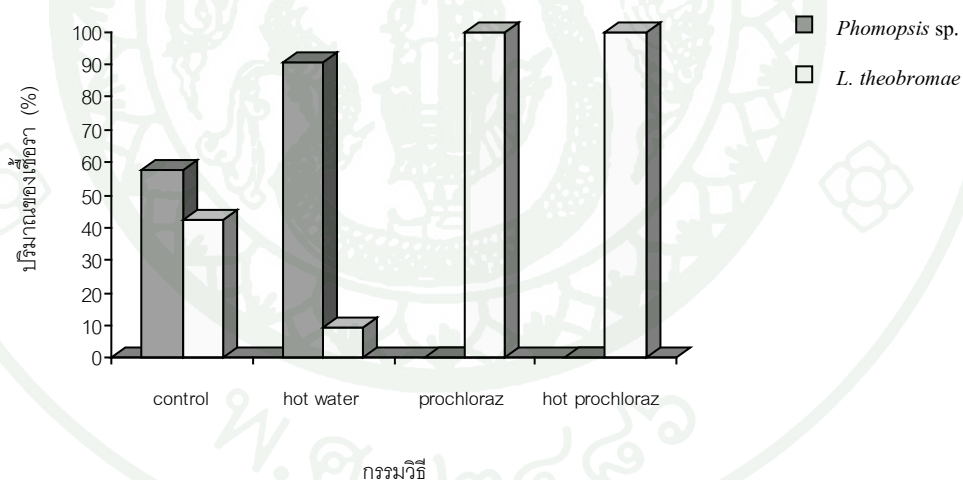


ภาพที่ 15 แสดงปริมาณ (เปอร์เซ็นต์) และชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากลองกองที่เป็นโรคผลเน่า หลังจาก การจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 3 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

ตารางที่ 11 การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของลองกองและการร่วงของข้อผล (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนร่วมกับสารเคมี นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธี	ลดการเกิดโรค (%)	ลดการร่วงของผล (%)
น้ำที่อุณหภูมิห้อง	0.0 c ^{1/}	0.0 c
น้ำร้อน 47°C	31.0 b	49.6 b
prochloraz 750 ppm	93.5 a	83.9 a
prochloraz 750 ppm ที่ 47°C	83.6 a	35.8 b

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT



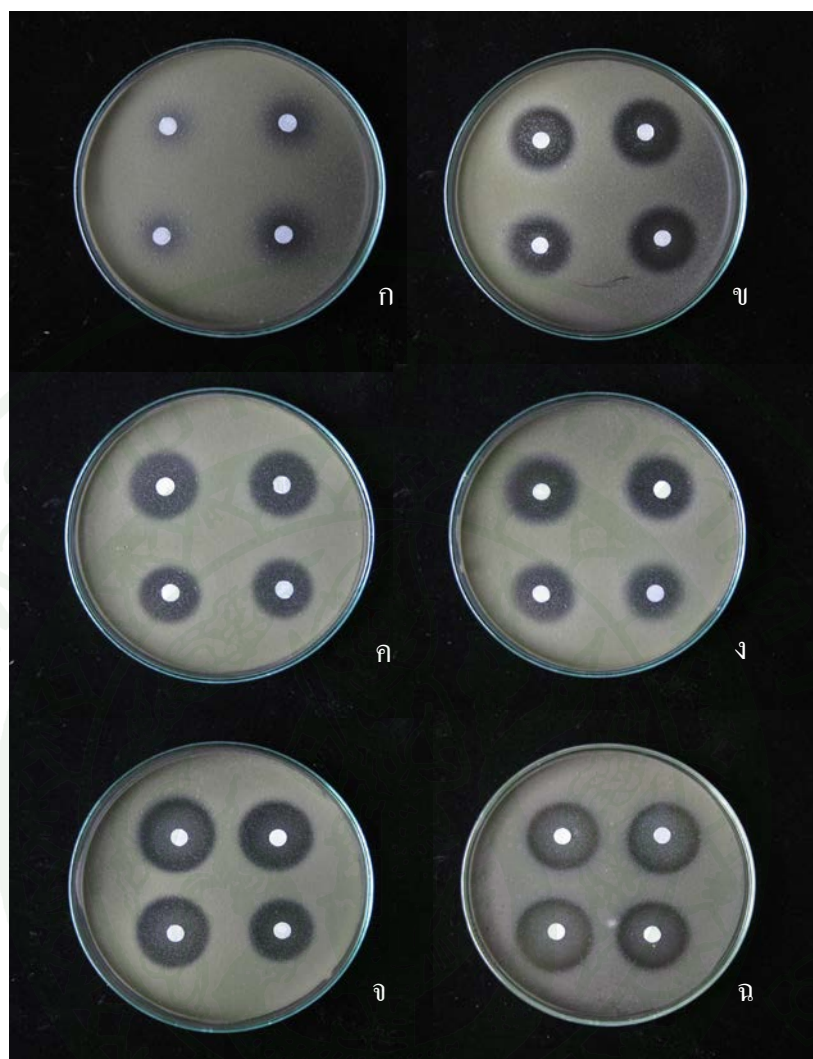
ภาพที่ 16 แสดงปริมาณ (เปอร์เซ็นต์) และชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากลองกองที่เป็นโรคผลเน่า หลังจากการจุ่มน้ำร้อนร่วมกับ prochloraz นาน 3 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

6. ผลการตรวจสอบปริมาณสารตกค้างของสารเคมีบนผลลองกอง

จากการทำกราฟมาตรฐานสารตกค้างของสารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 0 10 20 30 40 50 และ 60 ppm ทำให้ได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างของ clear zone (มิลลิเมตร) กับปริมาณสารเคมี prochloraz และได้สมการถดถอยแบบเส้นตรงเชิงเดี่ยว (Simple Liner Regression) คือ $y = 0.1331x + 6.08$ (ภาพที่ 17 และ 18)

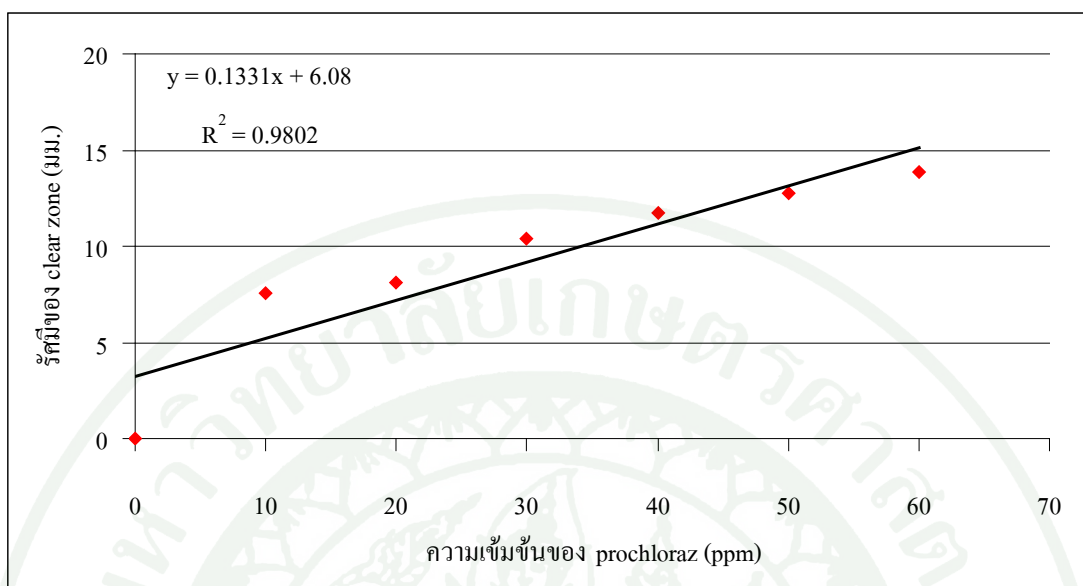
จากการทดลองควบคุมโรคผลเน่าของผลลองกองด้วยสารเคมีชนิดต่างๆ พบว่า prochloraz ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคสูงที่สุด จึงทำการตรวจสอบปริมาณสารตกค้างบนผลลองกอง หลังการจุ่มข้อผลหลังการเก็บเกี่ยวด้วย prochloraz ที่ความเข้มข้น 750 ppm โดยวิธี bioassay พบว่า ไม่มีสารตกค้างในเปลือกลองกองบริเวณด้านใน แม้จะตรวจสอบทันทีหลังการจุ่มด้วย prochloraz แสดงว่า prochloraz ติดอยู่บริเวณผิวเปลือกด้านนอกเท่านั้น ไม่ได้ซึมผ่านเข้าไปด้านในเปลือกหรือในเนื้อผล แต่พบสารตกค้างในเปลือกบริเวณด้านนอก โดยเกิด clear zone บนจานเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีที่ตรวจสอบทันทีหลังการจุ่ม ในระหว่างการเก็บรักษา 1 2 และ 3 วัน (ภาพที่ 19) ซึ่งมีรัศมีของ clear zone กว้าง 9.975 8.575 7.050 และ 6.175 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยคำนวณจากสมการถดถอยแบบเส้นตรงเชิงเดี่ยว พบปริมาณสารเคมีตกค้าง 29.26 18.75 7.29 และ 0.71 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 12) ซึ่งค่ามาตรฐานสารพิษตกค้าง หรือ maximum residue limits (MRL) ที่กำหนดให้มีในอาหารของ Codex อนุญาตให้มีสารเคมี prochloraz ตกค้างในผลไม้ที่กินเปลือกไม่ได้ ไม่เกิน 7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส้มและพริกตกค้างได้ไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และสารที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันคือ imazalil อนุญาตให้มีสารตกค้างในกล้วย สตอร์เบอร์รี่ แดงโม พลับ ไม่เกิน 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ ส้มไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนในมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติเรื่องสารพิษตกค้าง : ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด ไม่พบว่า prochloraz เป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตรและไม่มีรายงานค่า MRL (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ [มกอช.], 2551)

การรายงานค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างที่กำหนดให้มีในอาหารของ Codex นั้นไม่มีรายงานสารตกค้างบนผลลองกอง จึงได้เปรียบเทียบสารตกค้างของ prochloraz กับผลไม้ที่กินเปลือกไม่ได้ พบว่าสารที่ตกค้างบนเปลือกลองกองด้านนอกในวันที่ 3 หลังการจุ่มข้อผลด้วย prochloraz มีปริมาณ 0.71 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งถือว่าปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสามารถส่งออกได้



ภาพที่ 17 ลักษณะของ clear zone จากการทดสอบมาตรฐานสารพิษตกค้างของสารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี bioassay

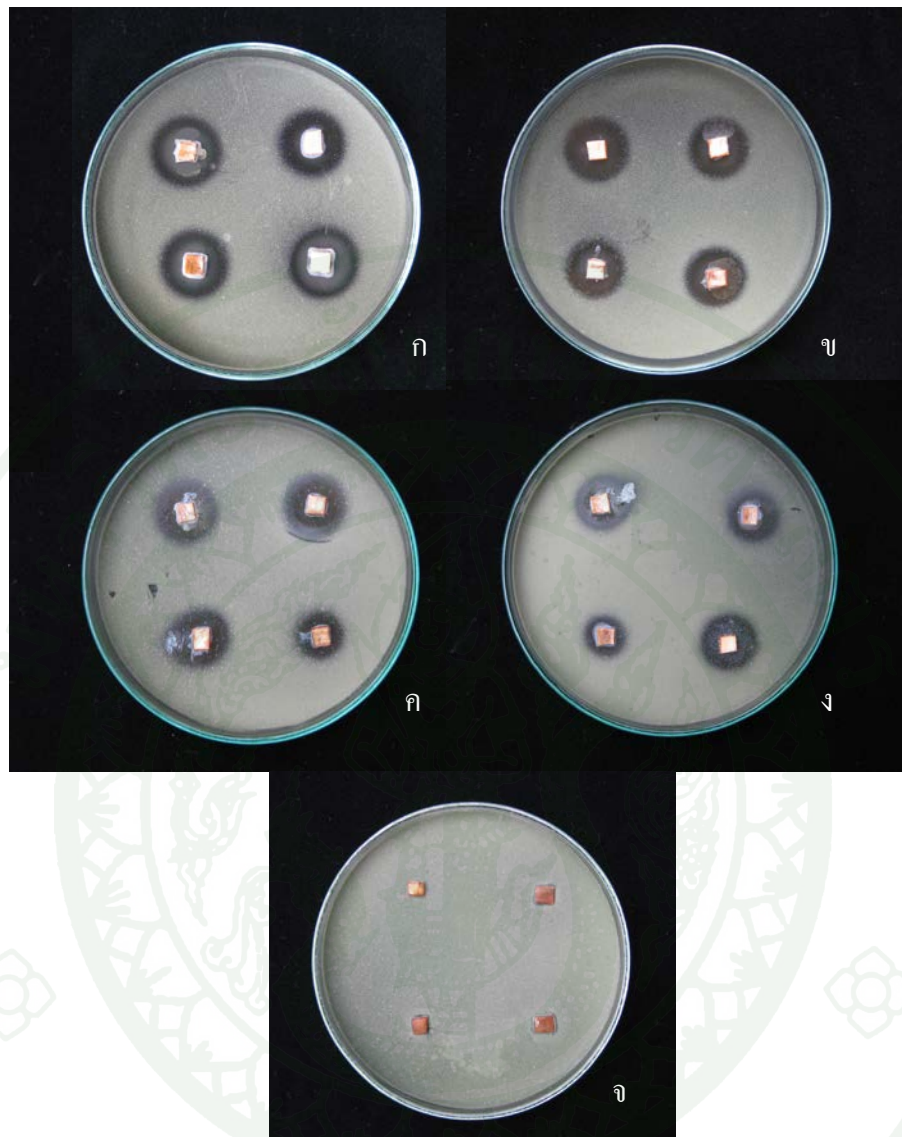
- ก. prochloraz ที่ความเข้มข้น 10 ppm
- ข. prochloraz ที่ความเข้มข้น 20 ppm
- ค. prochloraz ที่ความเข้มข้น 30 ppm
- ง. prochloraz ที่ความเข้มข้น 40 ppm
- จ. prochloraz ที่ความเข้มข้น 50 ppm
- ฉ. prochloraz ที่ความเข้มข้น 60 ppm



ภาพที่ 18 มาตรฐานสารตกค้างของสารเคมี prochloraz : กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างของ clear zone (มิลลิเมตร) กับปริมาณสารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 0 10 20 30 40 50 และ 60 ppm โดยสมการถดถอยแบบเส้นตรงเชิงเดียว (Simple Liner Regression) คือ $y = 0.1331x + 6.08$ โดยที่

y = ความกว้างรัศมีของ clear zone (มิลลิเมตร)

x = ความเข้มข้นของสารเคมี (ppm)



ภาพที่ 19 ลักษณะของ clear zone จากการทดสอบสารพิษตกค้างของสารเคมี prochloraz บนผล
ลองกองที่ได้รับการจุ่มด้วย prochloraz ความเข้มข้น 750 ppm โดยวิธี bioassay

- ก. เปลือกลองกองด้านนอกหลังจากจุ่มด้วย prochloraz ทันที
- ข. เปลือกลองกองด้านนอกหลังจากจุ่มด้วย prochloraz 1 วัน
- ค. เปลือกลองกองด้านนอกหลังจากจุ่มด้วย prochloraz 2 วัน
- ง. เปลือกลองกองด้านนอกหลังจากจุ่มด้วย prochloraz 3 วัน
- จ. เปลือกลองกองด้านในหลังจากจุ่มด้วย prochloraz ทันที

ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ยรัศมีของ clear zone (มิลลิเมตร) จากการทดสอบสารพิษตกค้างของสารเคมี prochloraz บนผลลองกองที่ได้รับการจุ่มด้วย prochloraz ความเข้มข้น 750 ppm และเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 วัน โดยวิธี bioassay และปริมาณสารตกค้างที่คำนวณจากสมการถดถอยแบบเส้นตรงเชิงเดี่ยว (Simple Liner Regression)

ระยะเวลาที่เก็บรักษา (วัน)	ค่าเฉลี่ยรัศมีของ clear zone (มิลลิเมตร)	ปริมาณสารตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
0 ^{3/}	9.975 a ^{1/}	29.26 ^{2/}
1	8.575 b	18.75
2	7.050 c	7.29
3	6.175 c	0.71

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธี DMRT

^{2/} คำนวณจากสมการถดถอยแบบเส้นตรงเชิงเดี่ยว $y = 0.1331x + 6.08$

^{3/} ตรวจสอบสารตกค้างทันทีหลังการจุ่มด้วย prochloraz

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคป็นดำ คือเชื้อรา *Leptoxyphium* sp. โดยที่ลำดับนิวคลีโอไทด์มีความเหมือนกับเชื้อรา *Leptoxyphium madagascariense* CBS 124766 97 เปอร์เซ็นต์ *Melanized limestone* CR-2004 strain TRN125 AY 559360.1 97 เปอร์เซ็นต์ มากที่สุด แต่ลักษณะทางสัณฐานวิทยามีความเหมือนกับเชื้อรา *Leptoxyphium madagascariense* และจากการทำแผนภูมิต้นไม้พบว่ามีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อรา *Leptoxyphium madagascariense* และ *Leptoxyphium fumago*

เชื้อรา *Leptoxyphium* sp. บนผลลองกองจะเริ่มเห็นเป็นอาการป็นดำที่บริเวณของ EFNs บนผลก่อน เป็นเชื้อราที่มีการสร้าง synnemata เส้นใยมีสีน้ำตาลเข้ม มี septate สปอร์สี่ใส สร้างรวมกันอยู่เป็นกลุ่มคล้ายหยดน้ำค้างสีขาวกระจายอยู่ทั่วบนโคโลนี เมื่อนำมาศึกษาความงอกของสปอร์ พบว่าเชื้อราชนิดนี้ไม่สร้าง appressorium และจะเริ่มงอกในชั่วโมงที่ 17

การเกิดโรคของเชื้อสาเหตุโรคป็นดำในระยะต่างๆ ของการเจริญของผลตั้งแต่การพัฒนาดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยว พบว่าจะเริ่มพบการเข้าทำลายบริเวณ EFNs ที่ผลอายุ 45 วัน มีอัตราเพิ่มขึ้นตามอายุของผลและลดลงเมื่อผลอายุได้ 80 วัน เมื่อนำดอกและผลมาแยกเชื้อสาเหตุยังพบเชื้อรา *Phomopsis* sp. *Fusarium* sp. *Cladosporium* sp. *Lasiodiplodia theobromae* *Leptoxyphium* sp. *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Trichoderma* sp. ซึ่งทุกระยะพบเชื้อรา *Phomopsis* sp. ในปริมาณที่สูงกว่าเชื้ออื่นๆ ยกเว้นในระยะดอกตูมที่พบเชื้อรา *Fusarium* sp. ในปริมาณที่สูงกว่า โดยเชื้อรา *Phomopsis* sp. *C. gloeosporioides* *Fusarium* sp. และ *L. theobromae* เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าของลองกองหลังการเก็บเกี่ยว

จากการตรวจสอบชนิดและปริมาณน้ำตาลของน้ำหวานที่ได้จาก EFNs ของผลลองกอง โดยวิธี HPLC พบน้ำตาล 3 ชนิด คือ fructose sucrose และ glucose มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ อย่างน้อย 32 °Brix ซึ่งผลในช่วงนี้จะไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อรา *Leptoxyphium* sp. เมื่อนำน้ำหวานมาเจือจางและทดสอบความงอกของสปอร์เชื้อรา *Phomopsis* sp. *C. gloeosporioides* และ *Leptoxyphium* sp. พบว่าที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 20.0 °Brix สปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis* sp.

Leptoxylum sp. และ *C. gloeosporioides* จะงอกที่ 87.3 54.3 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis* sp. และ *Leptoxylum* sp. จะมีปริมาณความงอกจะลดลงตามความเข้มข้นของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

เมื่อตรวจดูด้วยกล้อง SEM พบว่า EFNs ของอายุผล 20-80 วันหลังดอกบาน มีรูปทรงค่อนข้างกลมและที่อายุผลต่างๆ ขนาดของ EFNs นั้นแตกต่างกันเล็กน้อย บริเวณผิวเปลือกพบขนปริมาณมาก แต่ไม่พบขนบริเวณบน EFNs ซึ่งด้านบนของ EFNs มีชื่อเรียกว่า secretory pole ผิวเรียบ ไม่พบรอยแตกแยก แต่พบรูเปิดบริเวณรอบ ๆ secretory pole ซึ่งน่าจะเป็นช่องทางที่น้ำหวานถูกขับออกมาภายนอกผล

เชื้อรา *Leptoxylum* sp. เริ่มเจริญอยู่บนส่วนของ EFNs และแผ่ออกไปบนขนของเปลือกลองกอง ซึ่งไม่พบการเข้าทำลายลงในเนื้อเยื่อพืช เมื่อผลลองกองมีอายุเพิ่มมากขึ้น พบว่าบริเวณ secretory tissue ของ EFNs มีการสะสมของ lignin และ suberin มากขึ้น ซึ่งการสร้าง lignin ของเซลล์พืชนั้นนอกจากจะทำให้ผนังเซลล์แข็งแรงขึ้นแล้วยังมีส่วนช่วยในการป้องกันตนเองจากเชื้อสาเหตุโรคพืชด้วย

การศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราที่ติดมากับผลลองกองหลังการเก็บเกี่ยวพบว่า มีเชื้อราเพียง 5 ชนิดเท่านั้น คือเชื้อรา *Phomopsis* sp. *L. theobromae* *Pestalotiopsis* sp. *Fusarium* sp. และ *C. gloeosporioides* ที่สามารถก่อให้เกิดโรคกับผลลองกองที่ทำแผลก่อนการปลูกเชื้อรา ซึ่งจะแสดงอาการหลังจากการปลูกเชื้อ 5 วัน โดยมีการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคแตกต่างกัน การปลูกเชื้อที่ไม่ทำแผลและบริเวณ EFNs ไม่พบการเกิดโรคในทุกเชื้อรา และการปลูกเชื้อรา *Leptoxylum* sp. ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคป็นดำทั้งที่ทำแผล ไม่ทำแผล และบริเวณ EFNs ไม่พบการเกิดโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยว อาจเนื่องมาจากเชื้อราชนิดนี้มีการเจริญอยู่แค่บริเวณผิวผลเท่านั้น

การควบคุมโรคป็นดำ โดยการใช้สารเคมี azoxystrobin และสารชีวอินทรีย์ *Bacillus subtilis* พบว่า azoxystrobin สามารถลดการเกิดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่กรรมวิธีที่จุ่มด้วยแบคทีเรีย *B. subtilis* ไม่สามารถควบคุมโรคได้ เนื่องจากสารจับใบมีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์แบคทีเรีย *B. subtilis* และ การใช้สารเคมี mancozeb และ carbendazim ควบคุมโรคป็นดำ 1 สัปดาห์ ก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่าทั้ง 2 กรรมวิธีไม่สามารถควบคุมโรคได้

การควบคุมโรคปื้นดำ โดยการใช้สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite พ่นข้อผลลองกองทุก 2 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่า sodium hypochlorite สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดีที่สุด แต่เมื่อเก็บเกี่ยวแล้วนำมาเก็บรักษา พบว่ามีปริมาณผลร่วงมาก สารเคมีที่ให้ประสิทธิภาพรองลงมาคือ carbendazim และ mancozeb

การควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยว โดยการใช้สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ฉีดพ่นก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่า carbendazim สามารถลดการเกิดโรคและลดการร่วงของข้อผลได้ดีที่สุด และเมื่อนำผลลองกองที่เกิดโรคผลเน่าหลังการเก็บรักษามาแยกเชื้อเพื่อดูชนิดและปริมาณของเชื้อรา โดยกรรมวิธีที่พ่นด้วย carbendazim พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. ในปริมาณที่น้อยที่สุด

การควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวโดยจุ่มผลลองกองด้วย prochloraz imazalil sodium hypochlorite และ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 750 ppm พบว่า prochloraz สามารถลดการเกิดโรคและสามารถลดการร่วงของข้อผลได้ดีที่สุด จากการนำผลลองกองที่เป็นโรคผลเน่ามาแยกเชื้อสาเหตุ พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. *C. gloeosporioides* *L. theobromae* *Leptoxylum* sp. *Fusarium* sp. และ *Cladosporium* sp. โดยในกรรมวิธีที่จุ่มด้วย prochloraz ไม่พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุหลักของโรคผลเน่า แต่พบคือเชื้อรา *L. theobromae* เพียงชนิดเดียว

การควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยว โดยการจุ่มข้อผลลองกองด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45 และ 49 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที พบว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส สามารถลดการเกิดโรคผลเน่าได้ดีที่สุด และเป็นกรรมวิธีที่พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. น้อยที่สุด แต่ที่อุณหภูมิ 49 องศาเซลเซียส สามารถลดการร่วงของผลได้ดีที่สุด

การควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มข้อผลลองกองด้วย prochloraz และ prochloraz ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส สามารถลดการเกิดโรคผลเน่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ และการจุ่มด้วย prochloraz เพียงอย่างเดียวสามารถลดการร่วงของผลได้ดีที่สุด โดยทั้ง 2 กรรมวิธี ไม่สามารถควบคุมโรคผลเน่าของลองกองที่เกิดจากเชื้อรา *L. theobromae* ได้

จากการตรวจสอบปริมาณ prochloraz ที่ตกค้างบนผลลองกองหลังการจุ่มซ่อผลด้วย prochloraz ที่ความเข้มข้น 750 ppm โดยวิธี bioassay พบว่าไม่มีสารตกค้างในเปลือกลองกอง บริเวณด้านใน แม้จะตรวจสอบทันทีหลังการจุ่มด้วย prochloraz แต่พบสารตกค้างในเปลือก บริเวณด้านนอก โดยเกิด clear zone บนจานเลี้ยงเชื้อ เมื่อนำมาคำนวณพบว่ามีปริมาณสารตกค้างที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคในวันที่ 3 หลังการจุ่มซ่อผล ตามข้อกำหนดของ Codex

ข้อเสนอแนะ

การใช้สารเคมีควบคุมโรคผลเน่าของลองกองสามารถปฏิบัติได้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว แต่การปฏิบัติก่อนการเก็บเกี่ยวนั้นอาจทำให้สารเคมีที่ใช้มีประสิทธิภาพลดลง เนื่องจากช่วงฤดูที่ลองกองออกผลผลิตนั้นตรงกับฤดูฝน แตกต่างจากการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวซึ่งมีความสะดวก รวดเร็ว สารเคมีมีประสิทธิภาพเต็มที่ และสามารถลดการเกิดโรคได้ดีเช่นเดียวกัน แต่ควรใช้สารเคมีที่มีพิษตกค้างต่ำ สลายตัวเร็ว เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและลดการกีดกันทางการค้า ซึ่งวิธีการจุ่มน้ำร้อนก็มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ แต่ประสิทธิภาพดีไม่เท่าการใช้สารเคมี การจุ่มน้ำร้อนจึงเป็นทางเลือกหนึ่งของการจัดการโรคที่ราคาถูก ไม่มีสารตกค้าง ปลอดภัยทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมศุลกากร. 2550. สถิติการนำเข้าและส่งออก. แหล่งที่มา:

<http://www.customs.go.th/Statistic/StatisticIndex2550.jsp>, 9 กันยายน 2551.

จรัสศรี นวลศรี และ มงคล แซ่หลิม. 2547. การเก็บรวบรวมพันธุ์พืชสกุลยางสาต (*Lansium domesticum* Correa) และการประเมินความแปรปรวนของแหล่งเชื้อพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ. แหล่งที่มา: <http://kb.psu.ac.th/psukb/handle/2553/5309>, 8 มกราคม 2553.

จินตนา ชะนะ และ รมภพ บรรเจิดเชิดชู. 2534. โรคผลเน่าของมังคุดที่เกิดจากเชื้อ *Botryodiplodia* และการควบคุม, น. 297-305. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ทักษมัย ธนไพศาลกิจ, ผ่องเพ็ญ จิตอารีรัตน์ และ คุสิต ประดับศรี. 2548. ผลของสารเคลือบผิวไคโตแซน ต่อเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าและคุณภาพของเงาะพันธุ์โรงเรียนภายหลังการเก็บเกี่ยว, น. 56. ใน สัมมนาทางวิชาการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว/หลังการผลิตแห่งชาติครั้งที่ 3. เพชรบุรี.

นพรัตน์ พันธวานิช. 2528. การเจริญเติบโตของผล ดัชนีการเก็บเกี่ยวและการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวของผลลองกอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิพนธ์ วิสารทนนท์. 2542. โรคไม้ผลเขตร้อนและการป้องกันกำจัด. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ หลักสูตรหมอฟืช-ไม้ผล ฉบับที่ 1 โครงการเพื่อบรรเทาผลกระทบทางสังคมเนื่องจากวิกฤตการณ์ทางเศรษฐกิจ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นฤมล มานีพพาน. 2537. การปลูกและขยายพันธุ์ลองกอง ผลไม้เศรษฐกิจเงินล้านที่มีอนาคตสดใส. สำนักพิมพ์ ส่งเสริมอาชีพธุรกิจเพชรกระรัต จำกัด, กรุงเทพฯ.

ภูวดล บุตรรัตน์. 2532. การศึกษาพัฒนาการของดอก ผลและเมล็ดลองกอง, น. 379-391. ใน

การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 27 (สาขาพืช).

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รณภพ บรรเจิดเชิดชู, รัตยา พงศ์พิสุทธา และ สมศิริ แสงโชติ. 2539. โรคที่เกิดกับผลทุเรียนหลัง

การเก็บเกี่ยว, น. 148-152 ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่**

34 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วาสนา ณ ฝัน, นิธิยา รัตนานนท์ และนันทริญา นุเสน. 2550. ผลของการเคลือบผิวไคโตซานต่อ

การยืดอายุการเก็บรักษาผลลองกอง, น. 56. ใน **การประชุมวิชาการวิทยาการหลังการเก็บ**

เกี่ยวแห่งชาติครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ.

ศูนย์สารสนเทศการเกษตร. 2550. สถิติการผลิตการเกษตรตามแหล่งปลูก พืชลองกอง ปี 2550.

กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สมใจ แก้วสร. 2548. โรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลลองกองและการควบคุมโรคก่อนเก็บเกี่ยวด้วย

สารเคมี และชีวภัณฑ์ควบคุมเชื้อรา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,

กรุงเทพฯ.

สมใจ แก้วสร และ สมศิริ แสงโชติ. 2546. โรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลลองกองและผลของการฉีด

พ่นสารเคมีและชีวภัณฑ์ก่อนเก็บเกี่ยวที่มีต่อโรค. ว. วิทย. กษ. 34 (4-6) (พิเศษ) : 68-71.

สมพร จันทเดช. 2535. การปลูกลองกอง. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

สมศิริ แสงโชติ, นวลวรรณ ฟ้ารุ่งแสง และ อุดม ฟ้ารุ่งแสง. 2540. การเข้าทำลายของผลเงาะก่อน

และหลังการเก็บเกี่ยวของเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคผลเน่า และการควบคุมโรคผลเน่า

ภายหลังการเก็บเกี่ยว, น. 108-116. ใน **การประชุมทางวิชาการของ**

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรกิตติ ศรีกุล, มนตรี อิศรไกรศีล, จำเป็น อ่อนทอง และชาย โฆรวิธ. 2539. ความสัมพันธ์ระหว่าง การเจริญเติบโต การออกดอก และติดผลของลองกองในรอบปี กับปริมาณคาร์โบไฮเดรตและธาตุ N P และ K, น. 168-183. ใน เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ ประจำปี 2539. ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

สุรัช มัจฉาชีพ. 2540. ลองกอง, น. 9-21. ใน เอกสารการสอนวิชาไม้ผลเมืองร้อน. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, กรุงเทพฯ.

สุนันต์ สุภัทรพันธุ์. 2526. สรีรวิทยาการเจริญเติบโตพืชสวน. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุวรรณ ปัญญา. 2549. การควบคุมโรคผลเน่าของลองกองภายหลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้น้ำยาพาราสด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2549. ลองกอง. ม.ป.ท.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2551. สารพิษตกค้าง : ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. แหล่งที่มา: <http://www.acfs.go.th/standard/codexMRL.php>, 10 ธันวาคม 2553.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2552. ค่าสารพิษตกค้าง (MRL) ที่กำหนดให้มีในอาหารของ Codex. แหล่งที่มา: <http://www.acfs.go.th/standard/codexMRL.php>, 10 ธันวาคม 2553.

อรุณี พวงมี. 2533. การควบคุมโรคผลเน่าของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ระยะก่อนและหลังเก็บเกี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุดมเดช นาคประเสริฐ, ดำรงค์ศักดิ์ เต๋ยววนิช และทวีศักดิ์ กลิ่นคง. 2543. ประสิทธิภาพของ
อมิสตา 25 เอสซี (azoxystrobin) ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส
(*Colletotrichum gloeosporioides*) ของมะม่วงภายหลังการเก็บเกี่ยว, น. 110-111. ใน
การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 4: เทคโนโลยีการอารักขาพืชในทศวรรษ
หน้า, กรุงเทพฯ.

อุไรวรรณ นามศรี. 2541. การเจริญของละอองเกสรของลองกอง ดูดู (*Aglaia dookoo* Griff.) และ
นางสาว (*Aglaia domestica* Pelleg.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Adisa, V. A. and A. O. Fajola. 1982. Pectinolytic enzymes associated with the soft rot of *Citrus
sinensis* caused by *Aspergillus aculeatus* and *Botryodiplodia theobromae*.
Mycopathology 77: 632-646.

Baker, H. G. and I. Baker. 1982. Chemical constituents of nectar in relation to pollination
mechanisms and phylogeny, pp. 131–171. In M. Nitecki, eds. **Biochemical Aspects of
Evolutionary Biology**, University of Chicago Press.

_____ and _____. 1973. Amino acids in nectar and their evolutionary significance.
Nature 241: 543–545.

_____ and _____. 1975. Studies of nectar-constitution and pollinator–plant coevolution,
pp. 100–140. In L. E. Gilbert and P.H. Raven, eds. **Coevolution of Animals and Plants**.
University of Texas Press.

Batista, A. C. and R. Ciferri. 1963. The sooty-molds of the family Asbolisiaceae. **Quaderno** 31:
1–229.

Blüthgen, N. and K. Reifenrath. 2003. Extrafloral nectaries in an Australian rainforest: structure
and distribution. **Aust. J.Bot.** 51: 515–527.

- Bowden, B. N. 1970. The sugars in the extrafloral nectar of *Andropogon gayanus* var. *Bisquamulatus*. **Phytochemistry** 9: 2315-2318.
- Brent, K. J. and D. W. Hollomon. 2007. **Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed**. Fungicide Resistance Action Committee. UK.
- Caldwell, D. L. and K. O. Gerhardt. 1986. Chemical analysis of peach extrafloral nectary exudates. **Phytochemistry** 25: 41-43.
- Cambell, C. L. and L. V. Madden. 1990. **Introduction to plant disease epidemiology**. A Wiley – Interscience Publication. USA.
- Carter, C. and R. W. Thornburg 2004. Is the nectar redox cycle a floral defense against microbial attack?. **Plant Sci.** 9: 320-324.
- Chakrabarti, N. and B. Nandi. 1978. Qualitative estimation of enzyme in *Botryodiplodia theobromae* in culture. **Indian Phytopath.** 29: 431-432.
- Cheewangkoon, R., J. Z. Groenewald, B. A. Summerell, K. D. Hyde, C. To-anun and P. W. Crous. 2009. *Myrtaceae*, a cache of fungal biodiversity. **Persoonia** 23: 55–85.
- Durkee, L. T. 1982. The floral and extrafloral nectaries of *Passiflora*. II–The extrafloral nectary. **Am. J. Bot.** 69: 1420–1428.
- Eckert, J. W. 1983. Control of postharvest disease with antimicrobial agents, pp. 256-283. In M. Lieberman eds. **Postharvest Phytiology and Crop Preservation**. Plenum Press, New York.
- Fourie, J. F. and G. Holz. 1998. Effects of Fruit and Pollen Exudates on Growth of *Botrytis cinerea* and Infection of Plum and Nectarine Fruit. **Plant Dis.** 82: 165-170.

Griebel, C. and G. Hess. 1940. The vitamin C content of flower nectar of certain *Labiatae*.

Zeit. Untersuch. Lebensmitt. 79: 168–171.

Hong, S. I., H. H. Lee and D. Kim. 2007. Effects of hot water treatment on the storage stability of Satsuma mandarin as a postharvest decay control. **Postharvest Biol. Tec.** 43: 271–279.

Hughes S. J. 1976. Sooty molds. **Mycologia** 68: 451–691.

Jlin, V. B., A. J. Roy and B. S. Rana. 1988. Chemical control of citrus sooty mould caused by *Chaetothyrrium citri* (Am.) Fisher. **Progressive Horticulture** 20: 176-178.

Johnson, G. I. and S. Sangchote. 1994. Control of postharvest disease of tropical fruits: challenges for the 21th century, pp. 140-161. *In* B. R. Champ, E. Highley and G. I. Johnson, eds. **Post-harvest Handling of Tropical Fruit**. Proceedings of an International Congress, Chaing Mai, Thailand.

Khan, S. H., J. Aked and N. Magan. 2001. Control of the anthracnose pathogen of banana (*Colletotrichum musae*) using antioxidants alone and in combination with thiabendazole and imazalil. **Plant Pathol.** 50: 601-608.

Koptur, S. 1992. Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants, pp. 81–129. *In* E. Bernays, eds. **Insect-Plant Interactions**. CRC Press, Boca Raton.

Kyle, C. 2001. **The evolution of microsatellites**: <http://www.biology.ualberta.ca/courses.hp/biol606/Lecture.98.09.Kyle.html>. November 8, 2002.

Lersten, N. R. and R. W. Pohl. 1985. Extrafloral nectaries in *Cipadessa* (Meliaceae). **Ann. Bot.** 56: 363–366.

- _____ and S. R. Rugenstein. 1982. Foliar nectaries in mahogany (*Swietenia* Jacq.). **Ann. Bot.** 49: 397–401.
- McDade, L. A. and M. D. Turner. 1997. Structure and development of bracteal nectary glands in *Aphelandra* (Acanthaceae). **Am. J. Bot.** 84: 1–15.
- Morellato, L. P. C. and P. S. Oliveira. 1994. Extrafloral nectaries in the tropical tree *Guarea macrophylla* (Meliaceae). **Can. J. Bot.** 72: 157–160.
- Nagaraja Rao, K. S., K. R. Sreekantiah and T. N. Ramachandra Rao. 1971. Postharvest infection of coconut kernel by *Botryodiplodia theobromae* and note on the hydrolytic enzyme secreted by the fungus. **Indian Phytopath.** 24: 815-819.
- Nascimento, E. A. and K. Del-Claro. 2010. Ant visitation to extrafloral nectarines decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropics savanna. **Flora** (In Press).
- Neergaard, E. D. 1997. **Methods in Botanical Histopathology**. Karger, Basel, Switzerland.
- Okigbo, R. N. and M. I. Osunode. 2003. Fungal leaf spot diseases of mango (*Mangifera indica* L.) in Southeastern Nigeria and biological control with *Bacillus subtilis*. **Plant Protect. Sci.** 39: 70–77.
- Olesen, T., L. Nacey, N. Wiltshire and S. Brien. 2004. Hot water treatments for the control of rots on harvested litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. **Postharvest Biol. Tec.** 32: 135–146.
- Orozco, S. M. 1991. Control of citrus leaf spot (*Alternaria limicola*) and other diseases of Mexican lemon, (*Citrus aurantifolia*) with Mancozeb and detergent sprays. **Revista Mexicana de Fitopatología** 9: 129-133.

Paiva, É. A. S., R. A. Buono and M. N. Delgado. 2007. Distribution and structural aspects of extrafloral nectaries in *Cedrela fissilis* (Meliaceae). **Flora** 202: 455–461.

Paiva, E. A. S., H. C. Morais, R. M. S. Isaias, D. M. S. Rocha and P. E. Oliveira. 2001. Occurrence and structure of extrafloral nectaries in *Pterodon pubescens* Benth. and *Pterodon polygalaeflorus* Benth. (Fabaceae-Papilionoideae). **Pesq. Agr. Bras.** 36: 219-224.

Pantastico, Er. B., D. B. Mendoza and R. M. Abilay. 1968. Some chemical and physiological changes during storage of lanzone (*L. domesticum* Correa.). **Phil. Agri.** 52: 505–517.

Prakash, O., 1991. Sooty mould disease of mango and its control. **International Journal of Tropical Plant Diseases** 9: 277-280.

Prusky, D. 1989. Use of *Bacillus subtilis* and related organisms as biofungicide. **Pestic. Sci.** 27: 133-140.

_____ and C. L. Wilson. 1984. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. **Plant Dis.** 68: 753-756.

_____, I. Kobiler, M. Akerman and I. Miyara. 2006. Effect of acidic solutions and acidic prochloraz on the control of postharvest decay caused by *Alternaria alternate* in mango and persimmon fruit. **Postharvest Biol. Tec.** 42: 134–141.

_____, H. D. Ohr, N. Grech, S. Campbell, I. Kobiler, G. Zaubermann, and Y. Fuchs. 1995. Evaluation of antioxidant butylated hydroxyanisole and fungicide prochloraz for control of post-harvest anthracnose of avocado fruit during storage. **Plant Dis.** 79: 797-800.

- _____, I. Fuchs, I. Kobiler, I. Roth, A. Weksler, Y. Shalom, E. Falik, G. Zauberman, E. Pesis, M. Akerman, O. Yekutiely, A. Weisblum, R. Regev and L. Artes. 1999. Effect of hot water brushing, prochloraz treatment and waxing on the incidence of black spot decay caused by *Alternaria alternata* in mango fruit. **Postharvest Biol. Tec.** 15: 165–174.
- Rebollar, A., L. V. Madden and M. A. Ellis. 2005. **Efficacy of azoxystrobin, pyraclostrobin, potassium phosphite, and mefenoxam for control of strawberry leather rot caused by *Phytophthora cactorum*.** Available Source, <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2005/leather/>, June 17, 2010.
- Rodriguez-Arce, A. L. and N. Diaz. 1992. The stability of beta-carotene in mango nectar. **J. Agric. Univ. P.R. Rio Piedras. P.R.** 76: 101–102.
- Sangchote, S. 1987. Postharvest disease of mango fruits and their losses. **Kasetsart Journal (Natural Science)** 21: 81-85.
- _____ and R. Pongpisuta. 1998. Fruit rot of mangoteen and their control. *In* **Proceeding of the 7th International Congress of Plant Pathology**. Edinburgh, Scotland. 9-16 August 1998. ICPP 98 Abstracts.
- Sanger, F., S. Nicklen and A. R. Coulson. 1977. Chain sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA.** 74: 5463-5467.
- Sholberg, P. L., A. Marchi and J. Bechard. 1995. Biocontrol of postharvest disease of apple using *Bacillus* spp. Isolated from stored apples. **Microbial** 41: 247-252.
- Singh, V. and B. J. Deverall. 1984. *Bacillus subtilis* as a control agent against fungal pathogens of citrus fruit. **Trans. Br. Mycol. Soc.** 83: 487-490.

Solereder, H. 1908. **Systematic Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. I. Clarendon Press, Oxford.

Spalding, D. H. 1982. Resistance of mango pathogens to fungicides used to control postharvest diseases. **Plant Dis.** 66: 1185-1186.

Sundravadana, S., D. Alice, S. Kuttalam and R. Samiyappan. 2006. Control of mango anthracnose by azoxystrobin. **Tunisian Journal of Plant Protection** 1: 109-114.

_____, _____, _____ and _____. 2007. Efficacy of azoxystrobin on *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. growth and on controlling mango anthracnose. **Journal of Agricultural and Biological Science** 2: 10-15.

Utkhede, R. S. and P. L. Sholberg. 1986. *In vitro* inhibition of plant pathogen by *Bacillus subtilis* and *Enterobacter aerogenes* and *in vitro* control of two postharvest cherry diseases. **Can. J. Microbial.** 32: 963-967.

Vance, C. P., T. K. Kirk and R. T. Sherwood. 1980. Lignification as a mechanism of disease resistance. **Annu. Rev. Phytopathol.** 18: 259-298.

Vawdrey, L. L., P. Langdon and D. Westerhuis. 2010. Aetiology, effect of chemicals, and influence of fruit exudates, insects and fruit maturity on the incidence of fruit speckle of banana. **Australasian Plant Pathology** 39: 524-529.

Vogel, S. (1969) Flowers offering fatty oil instead of nectar (Abstract No. 229). In **XI International Botanical Congress, 24 August – 2 September 1969 and the International Wood Chemistry Symposium 2-4 September 1969, Seattle, WA, USA**

- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Homes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Res.** 23: 4407-4414.
- Wade, N. L., E. E. Kavanagh and M. Sepiah. 1993. Effects of modified atmosphere storage on banana postharvest diseases and the control of bunch main-stalk rot. **Postharvest Bio. Tec.** 3: 143-154.
- Weising, K., H. Nybom, K. Wolff and W. Meyer. 1995. **DNA Fingerprinting in Plants and Fungi.** CRC Press, Queensland.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, pp. 315-322. *In* M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T. J. White, eds. **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications.** Academic Press Inc. New York.
- Yacob, O. and S. Subhadarbandhu. 1995. **The Production of Economic Fruit in South East Asia.** Oxford University Press, Oxford.
- Zietkiewicz, E., A. Rafalski and D. Labuda. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) – anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics** 20: 176-183.





ภาคผนวก ก

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่งสด	200 g.
Dextrose	20 g.
วุ้น	15 g.
น้ำ	1,000 ml.

2. การทำ paraffin section

2.1 สูตรการเตรียมสารการเตรียมสาร Formalin-Acetic acid-Alcohol (FAA) 100 ml.

ethyl alcohol 50 %	90 ml.
glacial acetic acid	5 ml.
commercial formaline (40% formaldehyde)	5 ml.

2.2 สูตรการเตรียมสาร series consists of series alcohol 100 ml.

- 50 : น้ำ 50 ml. + 95% ethyl alcohol 40 ml. + TBA* 10 ml.
- 70 : น้ำ 30 ml. + 95% ethyl alcohol 50 ml. + TBA 20 ml.
- 85 : น้ำ 15 ml. + 95% ethyl alcohol 50 ml. + TBA 35 ml.
- 95 : 95% ethyl alcohol 45 ml. + TBA 55 ml.
- 100 : absolute alcohol 25 ml. + TBA 75 ml.
- TBA : TBA 100 ml.

* TBA = tertiary butyl alcohol อาจใช้ butyl alcohol หรือ n-butyl alcohol แทน

2.3 สูตรน้ำยาล้างเครื่องแก้ว

โปแตสเซียมไดโครเมท	100 g.
กรดกำมะถันเข้มข้น	500 ml.
น้ำ	1,000 ml.

2.4 สูตรการเตรียมสาร Haupt' s adhesive

1. ละลาย gelatin 1 g. ในน้ำ 100 ml. ที่ 90 °C (ใช้ปิเกอร์ตั้งบน hot plate เมื่ออุณหภูมิถึง 90 °C จึงใส่ gelatin แล้วใช้แท่งแก้วคน อย่าให้เกิดฟอง)
2. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิ 30 °C หลังจากนั้นเติม glycerine 15 ml.
3. กรองสารละลายโดยใช้กระดาษกรอง เพื่อให้สาร Haupt' s adhesive สะอาด
4. หลังจากนั้นเก็บไว้ในตู้เย็น (ช่องธรรมดา)

2.5 สูตรการเตรียมสีย้อม

- xylene : absolute ethyl alcohol อัตราส่วน 1:1
- series of ethyl alcohol : absolute, 95%, 70% และ 50%
- stock solution of safranin : safranin 1 g. ละลายใน 95% ethyl alcohol 100 ml. (ก่อนใช้ต้องผสมกับน้ำอัตราส่วน 1:1)
- counterstain with fast green : fast green 0.5 g. + clove oil 50 ml. + 95% ethyl alcohol 50 ml.
- differentiate the fast green : clove oil 50 ml. + absolute ethyl alcohol 25 ml. + xylene 25 ml.

2.5.1 การย้อมสี

1. แช่สไลด์ลงใน xylene นาน 5 นาที
2. แช่สไลด์ลงใน xylene : alcohol ในอัตราส่วน 1:1 นาน 5 นาที
3. แช่สไลด์ลงใน alcohol series อย่างละ 5 นาที (absolute, 95%, 70%, 50%)
4. แช่สไลด์ลงใน safranin นาน 1-24 ชั่วโมง
5. แช่สไลด์ด้วยน้ำสะอาด
6. จุ่มสไลด์แบบผ่านใน ethyl alcohol 70% ที่เติมกรด lactic เล็กน้อย, ethyl alcohol 95%, absolute ethyl alcohol อย่างรวดเร็ว
7. แช่สไลด์ลงใน fast green 30 วินาที
8. แช่สไลด์ลงใน Differentiate the fast green 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที
9. แช่สไลด์ลงใน xylene 3 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที
10. ทำสไลด์ถาวร โดยเมื่อเอาสไลด์ออกจาก xylene แล้ว ให้หยด permount ลงบนริมสไลด์ แล้วค่อยๆ วาง cover slide โดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ



ภาคผนวก ข

ตารางผนวกที่ ข1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณความงอกสปอร์เชื้อรา
Leptoxyphium sp. (เปอร์เซ็นต์) โดยทดสอบบนอาหาร WA ที่อุณหภูมิ
 25-28 องศาเซลเซียส

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	8	53365.136	6670.642	1599.760*
Error	36	150.112	4.170	
Total	44	53515.248		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 CV = 3.917

ตารางผนวกที่ ข2 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณความงอกสปอร์เชื้อรา
Leptoxyphium sp. (เปอร์เซ็นต์) ต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่มีความหวาน
 ต่างๆ (ได้จาก EFNs ของผลลองกอง) ที่ 25 ชั่วโมง

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	8	12822.556	1602.819	678.841*
Error	27	63.750	2.361	
Total	35	12886.306		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 CV = 5.324

ตารางผนวกที่ ข3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณความงอกสปอร์เชื้อรา *Phomopsis* sp. (เปอร์เซ็นต์) ต่อปริมาณของแฉ่งที่ละลายน้ำได้ที่ความหวานต่างๆ (ได้จาก EFNs ของผลลองกอง) ที่ 25 ชั่วโมง

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	8	18499.722	2312.465	96.167*
Error	27	649.250	24.946	
Total	35	19148.972		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
CV = 7.564

ตารางผนวกที่ ข4 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณความงอกสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (เปอร์เซ็นต์) ต่อปริมาณของแฉ่งที่ละลายน้ำได้ที่ความหวานต่างๆ (ได้จาก EFNs ของผลลองกอง) ที่ 25 ชั่วโมง

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	8	13844.556	1730.569	140.001*
Error	27	333.750	12.361	
Total	35	14178.306		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
CV = 8.651

ตารางผนวกที่ ข5 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการเกิดโรคของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* *Pestalotiopsis* sp. *Fusarium* sp. *Phomopsis* sp. *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Leptoxylum* sp. บนผลลองกอง หลังจากปลูกเชื้อโดยการทำแผล แล้วบ่มไว้ในอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	5	75500	15100	22.038*
Error	54	37000	685.185	
Total	59	112500		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
CV = 34.901

ตารางผนวกที่ ข6 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* *Pestalotiopsis* sp. *Fusarium* sp. *Phomopsis* sp. *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Leptoxylum* sp. บนผลลองกอง หลังจากปลูกเชื้อโดยการทำแผล แล้วบ่มไว้ในอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	5	1161.334	232.267	115.691*
Error	49	98.375	2.008	
Total	54	1259.709		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
CV = 0.191

ตารางผนวกที่ ข7 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การเพิ่มขึ้นของโรคปื้นดำโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมี azoxystrobin และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว โดยจุ่มสารทุก 2 สัปดาห์

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	2	372211.008	186105.504	192.523*
Error	6	5800.000	966.667	
Total	8	378011.008		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
CV = 1.365

ตารางผนวกที่ ข8 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การเพิ่มขึ้นของโรคปื้นดำโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมี carbendazim และ mancozeb ควบคุม 1 สัปดาห์ ก่อนการเก็บเกี่ยว

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	2	5989.789	2994.895	2.995*
Error	6	6000.000	1000.000	
Total	8	11989.789		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
CV = 3.180

ตารางผนวกที่ ข9 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การเพิ่มขึ้นของโรคปื้นดำโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนาของโรค (area under the disease progress curve- AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว โดยฉีดพ่นสารทุก 2 สัปดาห์

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	7563778.472	1890944.618	3636.432*
Error	10	5200.000	520.000	
Total	14	7568978.472		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
CV = 1.466

ตารางผนวกที่ ข10 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการพ่นด้วยสารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ก่อนการ เก็บเกี่ยว แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	47266	11816	17.06*
Error	45	31161	692	
Total	49	78427		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
CV = 5.363

ตารางผนวกที่ ข11 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการร่วงของช่อผล
 ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการพ่นด้วยสารเคมี carbendazim
 mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ก่อนการเก็บเกี่ยว แล้วเก็บ
 รักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	53006	13251	18.49*
Error	45	32242	716	
Total	49	85248		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 CV = 6.114

ตารางผนวกที่ ข12 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของ
 ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มด้วยสารเคมี imazalil
 prochloraz sodium hypochlorite และ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 750
 ppm นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	33556	8389	11.20*
Error	35	26206	749	
Total	39	59762		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 CV = 9.491

ตารางผนวกที่ ข13 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการร่วงของช่อผล
 ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มด้วยสารเคมี imazalil
 prochloraz sodium hypochlorite และ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 750
 ppm นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	26711	6678	7.39*
Error	35	31609	903	
Total	39	58320		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 CV = 17.828

ตารางผนวกที่ ข14 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของ
 ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ นาน
 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	3	15189	5063	4.88*
Error	28	29061	1038	
Total	31	44250		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 CV = 11.173

ตารางผนวกที่ ข15 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการร่วงของข้อผล
ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ
นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	3	9416	3139	2.91*
Error	28	30151	1077	
Total	31	39567		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
CV = 19.470

ตารางผนวกที่ ข16 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการเกิดโรคผลเน่าของ
ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนร่วมกับสารเคมี นาน
3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	3	58655	19552	32.58*
Error	36	21603	600	
Total	39	80257		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
CV = 8.495

ตารางผนวกที่ ข17 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การลดลงของการร่วงของข้อผล
 ลองกอง (เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บเกี่ยวโดยการจุ่มน้ำร้อนร่วมกับสารเคมี
 นาน 3 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	3	36179	12060	12.20*
Error	36	35589	989	
Total	39	71768		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 CV = 18.658

ตารางผนวกที่ ข18 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของ clear zone (มิลลิเมตร) จากการ
 ทดสอบสารพิษตกค้างของสารเคมี prochloraz บนผลลองกองที่ได้รับการจุ่ม
 ด้วย prochloraz ความเข้มข้น 750 ppm และเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 วัน โดย
 วิธี bioassay

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	3	33.807	11.269	29.445*
Error	12	4.592	.383	
Total	15	38.399		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 CV = 7.791

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวธัญมน สัมศิริ
เกิดวันที่	25 มิถุนายน พ.ศ. 2527
สถานที่เกิด	อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (การจัดการศัตรูพืช) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์	- เนตรนภิส เขียวขำ สัมศิริ แสงโชติ และธัญมน สัมศิริ. 2553. การเกิดโรคของผลมังคุด (<i>Garcinia mangostana</i>) ในภาคตะวันออกของประเทศไทย ว.วิทย.กษ. 41:1(พิเศษ): 275-278. - สัมศิริ แสงโชติ เนตรนภิส เขียวขำ และธัญมน สัมศิริ. 2553. โรคปื้นดำของผลลองกอง (<i>Aglaia dookkoo</i> Griff.) ในระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว ว.วิทย. กษ. 41:1 (พิเศษ): 361-364. - สัมศิริ แสงโชติ เนตรนภิส เขียวขำ และธัญมน สัมศิริ. 2553. การเกิดโรคปื้นดำบนผลลองกอง (<i>Aglaia dookkoo</i> Griff.): การเกิดโรค ความสูญเสีย และการควบคุมโรคในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9. 124-125. - สัมศิริ แสงโชติ เนตรนภิส เขียวขำ ธัญมน สัมศิริ และสวิตา สุวรรณรัตน์. 2553. โรคผลเน่าของลองกอง (<i>Aglaia dookkoo</i> Griff.) และการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว. การสัมมนาวิชาการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวแห่งชาติ ครั้งที่ 8. (อยู่ในระหว่างการตีพิมพ์)