



วิทยานิพนธ์

กระบวนการของการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Syd.) E. J. Butler & Bisby สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของผลแก้วมังกร (*Hylocereus undatus* (Haw) Brit. & Rose.) และการควบคุม

Infection Process of *Colletotrichum capsici* (Syd.) E. J. Butler & Bisby, Causal Pathogen of Anthracnose on Pitaya Fruit (*Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose.), and Its Control

นางสาวชิดชนก เกษี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. ๒๕๕๓

.....
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช)

.....
ปริญญา

.....
โรคพืช

สาขา

.....
โรคพืช

ภาควิชา

เรื่อง กระบวนการของการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Syd.) E. J. Butler & Bisby
สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของแก้วมังกร (*Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose.)
และการควบคุม

Infection Process of *Colletotrichum capsici* (Syd.) E.J. Butler & Bisby, Causal Pathogen
of Anthracnose on Pitaya Fruit (*Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose.), and Its Control

นามผู้วิจัย นางสาวชิตชนก เกษี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....
(..... รองศาสตราจารย์สมศิริ แสงโชติ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....
(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์เนตรนภิส เพียวำ, Dr.rer.nat.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....
(..... อาจารย์จินวัฒน์ ยัพวัฒนพันธ์, วท.ด.)

หัวหน้าภาควิชา

.....
(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์อนงค์นุช สาสนรักกิจ, วท.ด.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....
(..... รองศาสตราจารย์กัญญา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

กระบวนการของการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Syd.) E. J. Butler & Bisby
สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของผลแก้วมังกร (*Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose.)
และการควบคุม

Infection Process of *Colletotrichum capsici* (Syd.) E. J. Butler & Bisby, Causal Pathogen
of Anthracnose on Pitaya Fruit (*Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose.), and Its Control

โดย

นางสาวชัชชนก เกษี

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)
พ.ศ. 2558

ชิดชนก เกษี 2558: กระบวนการของการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Syd.) E. J. Butler & Bisby สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของผลแก้วมังกร (*Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose.) และการควบคุม ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สมศิริ แสงโชติ, Ph.D. 88 หน้า

การสำรวจโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรในจังหวัดสมุทรสาคร นครราชสีมา จันทบุรี และเลย พบความสูญเสียมากที่สุดที่จังหวัดสมุทรสาคร 75.0 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นจังหวัดเลย ซึ่งไม่ได้วัดปริมาณความสูญเสีย การจำแนกโดยวิธีทางสัณฐานวิทยาและทางชีวโมเลกุลพบว่าสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* และ *Colletotrichum gloeosporioides* การเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ตั้งแต่ระยะคุดดอกจนถึงระยะก่อนการเก็บเกี่ยว (8 สัปดาห์) พบเชื้อรา *C. gloeosporioides* เข้าทำลายที่ในระยะก่อนการเก็บเกี่ยวสูงสุดในผลอายุ 8 สัปดาห์ คือ 10.0 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *C. capsici* เข้าทำลายสูงสุด 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อายุผล 7 สัปดาห์ การเข้าทำลายผลหลังการเก็บเกี่ยวของเชื้อรา *C. capsici* พบว่า conidia ของเชื้อราเริ่มสร้าง germ tube และ appressorium ภายหลังการปลูกเชื้อ 3 ชั่วโมง และสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 24 คือ 89.4 เปอร์เซ็นต์ โดยการบ่มเชื้อที่ระยะเวลาดังกล่าวก่อให้เกิดโรค 80.0 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา *C. capsici* เริ่มเข้าทำลายชั้น epidermis ของผลในวันที่ 2 ภายหลังจากปลูกเชื้อ เริ่มสร้าง acervuli ในบริเวณที่เข้าทำลายและแสดงอาการของโรคในวันที่ 4 พบว่า ปริมาณ titratable acidity (TA), total soluble solid (TSS) และ ascorbic acid ไม่แตกต่างทางสถิติกับผลปกติ

การใช้สารเคมี prochloraz ฟ่นก่อนการเก็บเกี่ยว 10 วัน พบว่าไม่สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนส การจุ่มผลภายหลังการเก็บเกี่ยวในสารเคมี prochloraz 500 ppm 3 นาที ลดการเกิดโรคจากการปลูกเชื้อได้ 80.0 เปอร์เซ็นต์ สำหรับผลที่ติดเชื้อตามธรรมชาติการจุ่มผลในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส 1 นาที ลดการเกิดโรคได้ 36.6 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การจุ่มผลในสารเคมี prochloraz 250 ppm 1 นาที ลดการเกิดโรคได้ 59.8 เปอร์เซ็นต์

Chitchanok Kasee 2015: Infection Process of *Colletotrichum capsici* (Syd.) E. J. Butler & Bisby, Causal Pathogen of Anthracnose on Pitaya Fruit (*Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose.), and Its Control. Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Associate Professor Somsiri Sangchote, Ph.D. 88 pages.

Anthracnose disease of pitaya fruit in Samut Sakhon, Nakhonratsima, Chanthaburi and Loei provinces were conducted. Losses were estimated except fruit from Loei province, Samut Sakhon was the highest at 75.0 %. Identification of *Colletotrichum* spp. by their morphological characteristics and molecular analysis was performed. The results showed that *Colletotrichum capsici* and *Colletotrichum gloeosporioides* were causal organisms of anthracnose. Infection of *Colletotrichum* spp. in the field starting from bud stage to mature stage (8 weeks) was investigated. The highest fruit infection were showed at 8 weeks of its development at 10.0% whereas *C. capsici* was at 7 weeks at 1.5 %. Conidia of *C. capsici* produced germ tube and formed appressoria at 3 hrs. after inoculation on harvest fruits. After 24 hrs., conidial germination was the highest at 89.4% and disease incidence at 80.0% was shown. *C. capsici* infected into epidermal cell of fruit at 2 days after inoculation, starting to produce acervuli in the infected area and symptom start to develop at 4 days. Titratable acidity (TA), total soluble solid (TSS) and ascorbic acid of infected fruit were not significantly different with non-infected fruits.

Prochloraz was sprayed at 10 days before harvest could not control anthracnose disease on the harvested fruits. Postharvest treatment by dipping the fruits in prochloraz at concentration 500 ppm for 3 min, reduced disease incidence to 80% on inoculated fruits. Fruits naturally infection were dipped in hot water at 53°C for 1 min, reduced disease incidence to 36.6% whereas dipped prochloraz concentration at 250 ppm for 1 min decreased disease incidence to 59.8%

Student's signature

Thesis Advisor's signature

/ /

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สมศิริ แสงโชติ ประธานกรรมการที่ปรึกษา
วิชาเอก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เนตรนภิส เขียวขำ และอาจารย์ ดร.ชินวัฒน์ ยั้ววัฒนพันธ์
กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้
สมบูรณ์ยิ่งขึ้นและมีคุณค่าทางด้านวิชาการ

ขอขอบพระคุณเกษตรกรอำเภอบางช่อง จังหวัดนครราชสีมา เกษตรกรอำเภอบ้านแพ้ว
จังหวัดสมุทรสาคร และ เกษตรกรอำเภอรือ จังหวัดเลย ที่อนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์ในการ
ทำวิจัยอย่างเต็มที่ ตลอดจนให้คำแนะนำที่ดีและเป็นประโยชน์ต่องานวิจัย

ขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ทุกคนในภาควิชาโรคพืช รวมถึงเพื่อนตอย มิว พลอย และพี่คู่ย
ที่ให้ความช่วยเหลือทั้งร่างกาย แรงใจ ให้คำปรึกษาและคำแนะนำดีๆ ในการทำวิทยานิพนธ์จน
สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2557 จากสำนักงาน
คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยครั้งนี้

ประโยชน์และคุณค่าจากวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ผู้วิจัยขอบอกแด่คุณพ่อจำลอง - คุณแม่พรทิพย์
เกษิ และผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่เป็นกำลังใจและช่วยสนับสนุนด้านการศึกษาตลอดมา

ชิดชนก เกษิ
กุมภาพันธ์ 2558

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	15
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	26
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	63
สรุปผลการทดลอง	63
ข้อเสนอแนะ	64
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	65
ภาคผนวก	75
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	76
ภาคผนวก ข ตารางแสดงผลความแปรปรวนทางสถิติ	80
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	88

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของเนื้อผลแก้วมังกร (<i>Hylocereus</i> spp.)	7
2	สารพิษตกค้างที่กำหนดให้มีในผักและผลไม้ของ Codex	14
3	การสำรวจการเกิดโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกร ที่เกิดจากเชื้อรา <i>C. capsici</i> และเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i>	26
4	การเกิดโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกร ภายหลังจากปลูกเชื้อรา <i>C. capsici</i> และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง	36
5	การเกิดโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ภายหลังจากใช้วิธีการควบคุมโรคโดยวิธีการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 51 53 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จุ่มน้ำเปล่าที่อุณหภูมิห้อง เป็นชุดควบคุม	54
6	การเกิดโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ภายหลังจากการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส สารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 250 ppm และน้ำร้อนร่วมกับสารเคมี prochloraz 250 ppm นาน 1 นาที จุ่มน้ำเปล่าที่อุณหภูมิห้องเป็นชุด ควบคุม	59

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข1	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การงอก germ tube ของ conidia เชื้อรา <i>C. capsici</i> บนผลแก้วมังกร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 จนถึง ชั่วโมงที่ 24
ข2	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การงอก appressorium ของ conidia เชื้อรา <i>C. capsici</i> บนผลแก้วมังกร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 จนถึง ชั่วโมงที่ 24
ข3	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการเกิดโรค แอนแทรกโนสของแก้วมังกร ภายหลังจากปลูกเชื้อรา <i>C. capsici</i> และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง
ข4	วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (titratable acidity, TA) ของแก้วมังกรภายหลังจากอาการของ โรคแอนแทรกโนสปรากฏวันที่ 2
ข5	วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (titratable acidity, TA) ของแก้วมังกรภายหลังจากอาการของโรค แอนแทรกโนสปรากฏวันที่ 4
ข6	วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ทั้งหมด (total soluble solid , TSS) ของแก้วมังกรภายหลังจาก อาการของโรคแอนแทรกโนสปรากฏวันที่ 2
ข7	วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) ของแก้วมังกรภายหลังจากอาการ ของโรคแอนแทรกโนสปรากฏวันที่ 4
ข8	วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) ปริมาณกรดแอสคอบิกของ แก้วมังกรภายหลังจากอาการของโรคแอนแทรกโนสปรากฏวันที่ 2
ข9	วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) ปริมาณกรดแอสคอบิกของ แก้วมังกรภายหลังจากอาการของโรคแอนแทรกโนสปรากฏวันที่ 4

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ข10	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรกซ์ในสไบนระยะก่อนการเก็บเกี่ยว โดยวิธีการใช้สารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 0 500 750 และ 1,000 ppm	85
ข11	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรกซ์ในสไบนระยะหลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 51 53 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที	86
ข12	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการเกิดโรคแอนแทรกซ์ในสไบนระยะหลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการใช้สารเคมี imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 500 ppm	86
ข13	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของความรุนแรงของโรคแอนแทรกซ์ในสไบนระยะหลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการใช้สารเคมี imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 500 ppm	87
ข14	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการเกิดโรคแอนแทรกซ์ในสไบนระยะหลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส ร่วมกับการใช้สารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 ppm	87

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	พื้นที่ปลูกแก้วมังกรในเขตอ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี และ อ.ภูเรือ จ.เลย	27
2	ลักษณะโรคแอนแทรคโนสบนผลแก้วมังกรที่เกิดจากเชื้อรา <i>C. capsici</i> และลักษณะรูปร่าง ของเชื้อรา <i>C. capsici</i>	29
3	ลักษณะโรคแอนแทรคโนสบนผลแก้วมังกรที่เกิดจากเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> และลักษณะรูปร่าง ของเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i>	30
4	แสดงขนาด PCR product ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกร	32
5	ระยะการพัฒนาของดอกจนถึงระยะผลก่อนเก็บเกี่ยว (ระยะที่ 1-ระยะที่ 8)	34
6	ชนิดและปริมาณเชื้อรา (เปอร์เซ็นต์) ที่แยกได้จากระยะการพัฒนาการของดอกจนถึง ระยะผลก่อนเก็บเกี่ยว (ระยะที่ 1 – ระยะที่ 8)	35
7	การงอกของ conidia ของเชื้อรา <i>C. capsici</i> บนผิวของผลแก้วมังกร ภายหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 6 12 และ 24 ชั่วโมง	38
8	เปอร์เซ็นต์การงอกของ germ tube และ appressorium ของเชื้อรา <i>C. capsici</i> ที่ผิวของผลแก้วมังกร ภายหลังจากการปลูกเชื้อแล้วที่ 3 6 9 12 18 21 และ 24 ชั่วโมง	38
9	ภาพถ่ายด้วยกล้อง SEM แสดง conidia ของเชื้อรา <i>C. capsici</i> บนผิวแก้วมังกร ภายหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 12 ชั่วโมง	40
10	ลักษณะเนื้อเยื่อแก้วมังกรปกติ และเนื้อเยื่อที่มีการเจริญของเชื้อรา <i>C. capsici</i> ภายหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 2 วัน โดยวิธี paraffin section	42

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
11	ลักษณะการเจริญของเชื้อรา <i>C. capsici</i> บนเนื้อเยื่อผิวของผล แก้วมังกร ภายหลังจากปลูกเชื้อไปแล้ว 4 วัน และแก้วมังกรที่แสดง อาการของโรคโดยวิธี paraffin section	43
12	การเกิดโรคของผลพริกเมื่อทำการปลูกเชื้อ <i>C. capsici</i> ที่แยกได้จาก โรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกร	44
13	การเกิดโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรที่บริเวณผิว และบริเวณ เนื้อด้านใน ภายหลังจากทำการปลูกเชื้อ <i>C. capsici</i> แล้วอาการของ โรคปรากฏวันที่ 2 และวันที่ 5	45
14	เปอร์เซ็นต์ titratable acidity ของแก้วมังกรภายหลังจากปรากฏ อาการของโรคแอนแทรคโนสปรากฏวันที่ 2 และวันที่ 4	46
15	ค่า total soluble solid ,TSS (เปอร์เซ็นต์) ของแก้วมังกรภายหลังจาก ปรากฏอาการของโรคแอนแทรคโนสแล้ว 2 และ 4 วัน	47
16	ปริมาณกรดแอสคอบิกของผลแก้วมังกรที่ปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อ ภายหลังจากปรากฏอาการของโรคแอนแทรคโนสแล้ว 2 และ 4 วัน	48
17	ลักษณะของโครมาโตแกรมของน้ำตาลแต่ละชนิดในแก้วมังกรปกติ และแก้วมังกรที่เป็นโรคแอนแทรคโนส ที่วิเคราะห์โดย HPLC	50
18	ลักษณะการเจริญของโคโลนีของเชื้อรา <i>C. capsici</i> บนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมี prochloraz และ imazalil ที่ความเข้มข้น 0 125 250 500 และ 1,000 ppm	52
19	การเกิดโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรภายหลังการเก็บเกี่ยว เมื่อทำการพ่นสารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 0 500 750 และ 1,000 ppm ในระยะก่อนเก็บเกี่ยว 10 วัน	53
20	การควบคุมการเกิดโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรที่เกิดขึ้นตาม ธรรมชาติ โดยใช้วิธีการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 51 53 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที	55

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
21	การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา <i>C. capsici</i> ภายหลังการควบคุมโรคโดยวิธีการจุ่มสารเคมี imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm	57
22	อาการของโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรที่เกิดจากการปลูกเชื้อเชื้อรา <i>C. capsici</i> 24 ชั่วโมง แล้วนำมาจุ่มสารเคมี imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้น 250, 500 ppm	58
23	อาการของโรคแอนแทรคโนสของผลแก้วมังกรภายหลังจากใช้วิธีการจุ่มน้ำร้อน สารเคมี prochloraz และร่วมกันระหว่างน้ำร้อน และสารเคมี prochloraz ควบคุมโรค	60

**กระบวนการของการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Syd.) E. J. Butler
& Bisby สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของผลแก้วมังกร (*Hylocereus undatus* (Haw.)
Brit. & Rose.) และการควบคุม**

**Infection Process of *Colletotrichum capsici* (Syd.) E. J. Butler & Bisby,
Causal Pathogen of Anthracnose on Pitaya Fruit (*Hylocereus undatus* (Haw.)
Brit. & Rose.), and Its Control**

คำนำ

แก้วมังกร (dragon fruit) มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้เขตร้อน (Mizrahi *et al.*, 1997) เป็นพืชที่นิยมปลูกในเวียดนาม (Sergio *et al.*, 2011) มีการนำเข้ามาปลูกในประเทศไทยประมาณ 7 - 8 ปีที่ผ่านมา ส่วนใหญ่พบแหล่งปลูกแก้วมังกรในภาคกลางและภาคตะวันออก ชนิดที่นิยมปลูกคือ *Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose. (เนื้อขาวเปลือกแดง) และ *Hylocereus costaricensis* (เนื้อแดงเปลือกแดง) (นิคดา และ ทวีทอง, 2550) แก้วมังกรเป็นผลไม้เศรษฐกิจชนิดใหม่ที่มีแนวโน้มทางการตลาดที่ดี เนื่องจากได้รับความนิยมจากผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ ปลูกง่าย ต้นทุนไม่สูงมาก มีความทนทาน เป็นพืชที่จัดอยู่ในตระกูลเดียวกับกระบองเพชร ให้ผลผลิตเร็ว มีคุณค่าทางโภชนาการสูง อุดมไปด้วยวิตามินซีและคลอโรฟิลล์ อีกทั้งยังมีกากใยสูง แคลอรีต่ำ นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณในการป้องกันโรค เช่น เบาหวาน ความดันโลหิตสูง เป็นต้น (รักษาสา, 2552) สภาพภูมิอากาศของประเทศไทยมีความเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแก้วมังกร เช่น แสงสว่าง และอุณหภูมิ ซึ่งแก้วมังกรเป็นพืชวันยาวต้องการแสงมากกว่า 8 ชั่วโมง ในการสร้างตาดอก (Chau, 1998) ช่วงการออกดอกอยู่ในช่วงเดือนมีนาคม และติดผลตั้งแต่เดือนเมษายน ด้วยลักษณะภูมิอากาศของประเทศไทยเป็นแบบร้อนชื้น ซึ่งมีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคพืชเจริญเติบโตและแพร่กระจายได้ดี เกษตรกรประสบปัญหาการระบาดของโรคและแมลง ทำให้ผลผลิตเกิดความเสียหายและผลผลิตที่มีคุณภาพมีปริมาณลดลง เกษตรกรใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคและศัตรูพืช แต่พบปัญหาการใช้สารป้องกันกำจัดไม่ถูกต้อง ปัญหาโรคพืชของแก้วมังกรที่ก่อให้เกิดความเสียหายและลดจำนวนผลผลิต เช่น โรคเน่าเปียก (Wet rot) โรคผลเน่า (Fruit rot) โรคลำต้นจุด (Stem rot) และโรคแอนแทรกโนส (anthracnose) ที่พบเป็นปัญหาสำคัญภายหลังการเก็บเกี่ยว Masanto *et al.* (2009) รายงานการระบาดของโรคแอนแทรกโนสในหลายพื้นที่ของ

ประเทศมาเลเซีย สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีลักษณะอาการบริเวณแผลมีสีน้ำตาลแดง มีสีเหลือง (halo) ล้อมรอบแผล กลางแผลเป็นสีน้ำตาล พบความรุนแรงของโรคมามากที่สุดที่มะละกา ส่วนประเทศไทยพบเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในแปลงปลูกแก้วมังกรของเกษตรกรในหลายจังหวัด เช่น จันทบุรี ระยอง ราชบุรี สมุทรสาคร และนครปฐม เชื้อราสาเหตุโรคที่พบคือ *Collectotrichum* sp. ที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสบนผล และ *C. gloeosporioides* ที่ก่อให้เกิดแอนแทรคโนสบนลำต้น (พรพิมล และ คณะ, 2550) งานวิจัยนี้จึงมีเป้าหมายเพื่อศึกษาเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนผลแก้วมังกรจากแหล่งเพาะปลูกในจังหวัดต่างๆ ตลอดจนกระบวนการติดเชื้อและการเข้าทำลายของเชื้อรา เพื่อเป็นแนวทางในการหาวิธีการป้องกันการเกิดโรคที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ เพิ่มผลผลิตและเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพในการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก

วัตถุประสงค์

1. จำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนผลแก้วมังกรโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางชีวโมเลกุล
2. ศึกษาลักษณะการติดเชื้อและกระบวนการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนผลแก้วมังกร
3. ศึกษาคุณภาพของแก้วมังกรภายหลังการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค
4. ศึกษาการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว

การตรวจเอกสาร

ลักษณะโดยทั่วไปของแก้วมังกร

แก้วมังกร (dragon fruit หรือ pitaya) เป็นพืชในวงศ์ Cactaceae สกุล *Hylocereus* เป็นพืชท้องถิ่นทางตอนใต้ของประเทศเม็กซิโกและอเมริกากลาง (Mizrahi *et al.*, 1997) นำมาปลูกครั้งแรกในทวีปเอเชียที่ประเทศเวียดนาม แล้วจึงกระจายไปยังประเทศอื่นๆ ในประเทศไทยมี 3 ชนิด (นิตา และ ทวีทอง, 2550; อุไรวรรณ และ เรวัตติ, 2550) คือ

- *Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose. (เนื้อขาวเปลือกแดง) เปลือกสีชมพูสด ปลายกลีบสีเขียว รสหวานอมเปรี้ยวหรือหวานจัด
- *Hylocereus megalanthus* (เนื้อขาวเปลือกเหลือง) เปลือกสีเหลือง ผลเล็กกว่าชนิดอื่น เนื้อสีขาว มีเมล็ดน้อยและมีขนาดใหญ่ รสหวาน
- *Hylocereus costaricensis* (เนื้อแดงเปลือกแดง) หรือพันธุ์คอสตาริกา เปลือกสีแดงจัด ผลเล็ก และมีรสหวานกว่าชนิดเนื้อขาวเปลือกแดง

ลำต้น เป็นกระบองเพชรประเภทเลื้อย ลำต้นยาวประมาณ 5 เมตร มีลักษณะเป็นแฉก 3 แฉก สีเขียว อวบน้ำ มีหนามกระจุกอยู่ที่ข้างตาเป็นช่วงๆ ลำต้นจริงมีลักษณะเป็นแกนกลางสีน้ำตาล มีเนื้อเยื่ออวบน้ำหุ้มอยู่รอบนอกเป็นแฉกเพื่อทำหน้าที่สะสมน้ำ อาหาร และยังทำหน้าที่สังเคราะห์แสง โดยการสังเคราะห์แสงจะเกิดในเวลากลางคืน ปากใบปิดตอนกลางวันและเปิดในเวลากลางคืน บางครั้งเรียกพืชตระกูลนี้ว่าพืชแคม (CAM) มีช่วงการเจริญเติบโตของลำต้นในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงมีนาคม ซึ่งน้อยกว่าช่วงการออกดอก ช่วงนี้แก้วมังกรจะเริ่มแตกกิ่งอ่อนใหม่ตามบริเวณข้อด้านข้างของลำต้น

ราก มี 2 ประเภท คือ รากใต้ดินและรากบนดิน (รากอากาศ) ซึ่งทำหน้าที่คล้ายกันคือ ดูดน้ำและแร่ธาตุอาหาร รากบนดินจะมีปริมาณมากกว่ารากใต้ดิน

ดอก ดอกขนาดใหญ่ ลักษณะดอกมีสีแดงปนสีขาวเล็กน้อย กลีบดอกมีสีขาวยาวเรียงซ้อนกันเป็นรูปกรวยขนาดใหญ่ บานตอนกลางคืน ประมาณ 19.00 น. เป็นต้นไป บานเต็มที่เมื่อเวลา 23.00 น. รังไข่มีขนาดใหญ่ แข็งแรง กลีบเลี้ยงสีเขียวอ่อนและสีน้ำตาลอ่อนหุ้มอยู่โดยรอบ ดอกตูม

มีขนาดใหญ่ความยาวประมาณ 30 เซนติเมตรขึ้นไป สีกีบดอกบางชนิดสามารถใช้จำแนกชนิดพันธุ์ได้ เกสรตัวผู้มีสีเหลืองอ่อนมากกว่า 500 อันขึ้นไป เกสรตัวเมียมีลักษณะกลม สีเขียวอ่อน ปลายเป็นแฉกแยกจากกันมีมากกว่า 10 แฉก ในขณะที่ดอกตูมเต็มพร้อมบานแต่กีบดอกยังไม่แยกจากกัน เกสรตัวผู้จะปล่อยับละอองเกสรออกมา ในปริมาณมาก แก้วมังกรออกดอกในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนกันยายน ในช่วงสภาพวันยาวหรือช่วงฤดูฝน กิ่งที่สามารถออกดอกได้จะเป็นกิ่งแก่เต็มที่ หรือกิ่งกำลังแก่ (รภัสสา, 2552)

กระบวนการเกิดและพัฒนาของดอก

1. ระยะการเจริญเต็มวัย (maturation stage) ต้นแก้วมังกรที่มีความสมบูรณ์ สามารถออกดอกได้ ระยะที่พืชโตเต็มวัยจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของพืช พันธุ์พืช ฤดูกาล และสภาพแวดล้อม ต้นแก้วมังกรที่มีความสมบูรณ์ สามารถออกดอกได้เมื่ออายุ 6 - 7 เดือน หลังปลูกจากกิ่งปักชำ (Chang and Yen, 1997)

2. ระยะชักนำ (induction stage) การเปลี่ยนแปลงขั้นแรกในการเกิดดอก พืชเริ่มมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นหรือชักนำจากปัจจัยต่างๆ ที่จะทำให้ระยะพัฒนาการเปลี่ยนเป็นระยะเจริญพันธุ์ เช่น แสง อุณหภูมิ อายุ ความสมบูรณ์ของต้น เป็นระยะที่พืชมีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการสร้างสารเมตาบอไลต์ต่างๆ ภายในเซลล์ เพื่อสังเคราะห์ฮอร์โมนที่กระตุ้นการออกดอก และทำลายฮอร์โมนนี้ไปยังส่วนเนื้อเยื่อที่ตาหรือยอดเพื่อเปลี่ยนเป็นตาดอก

3. ระยะการเกิดตาดอก (initiation of floral primordia) เป็นระยะที่เริ่มเห็นการเปลี่ยนแปลงของตาที่จะเจริญเป็นดอก (floral primordia) โดยเซลล์เนื้อเยื่อเจริญเริ่มขยายตัว ทำให้มีการพองตัวของตาดอก (floral bud) การที่กิ่งจะออกดอกได้ ตาต้องพัฒนาเป็นตาดอกเสียก่อนภายใต้ข้อกำหนดของปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสม (สุรพงษ์, 2545)

ผล ผลของแก้วมังกรเป็นผลชนิดเบอรี่ (berry) การเจริญเติบโตของผลเป็นแบบ sigmoidal curve คือ ช่วงแรกมีการเจริญเติบโตและขยายผลอย่างรวดเร็วและการเจริญเติบโตจะคงที่เมื่อเข้าสู่วัยบริบูรณ์ (อุไรวรรณ และ เรวัติ, 2550) ส่วนของผลมีการพัฒนามาจากส่วนของรังไข่และฐานรองดอกที่อยู่รอบรังไข่ ส่วนของเปลือกเจริญมาจากฐานรองดอก และจะมีชั้นบางๆ ด้านในของเปลือก ซึ่งเจริญมาจากผนังรังไข่ ส่วนของเนื้อผลเป็นการพัฒนามาจากก้านชูเมล็ด (funiculi) ซึ่ง

เชื่อมต่อกับผนังรังไข่ (Gibson and Nobel, 1986) ลักษณะรูปทรงเป็นทรงกลมรีหรือกลมแล้วแต่ชนิดพันธุ์ ผลอ่อนมีสีเขียวแก่ หลังผสมเกสรแล้วจะติดผลเล็กขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 เซนติเมตรที่บริเวณโคนดอก ดอกที่มีการผสมเกสรสำเร็จจะปรากฏเป็นผลสีเขียวขนาดเล็กด้านล่างเสมอ โดยการเจริญเติบโตตั้งแต่ตูมดอกจนถึงระยะดอกบาน ใช้เวลาประมาณ 15 – 18 วัน (นฤมล, 2537) สีของเปลือกผลเมื่อดิบเป็นสีเขียว เมื่อสุกมีสีแดงม่วงหรือสีบานเย็น การเปลี่ยนสีผิวผลเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงแดงเมื่อผลมีอายุ 25-28 วัน และเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงทั้งผลเมื่อผลอายุ 31 วัน ผลแก้วมังกรเติบโตและแก่พร้อมเก็บเกี่ยว หลังจากดอกบานไปแล้ว 30 วัน หรือจากผลเริ่มเปลี่ยนสีแล้ว 3-4 วัน (ปริญญา และ จลองชัย, 2548) ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม คือ 28 - 30 วัน หลังจากดอกบาน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม สิ่งที่สามารถใช้เป็นดัชนีการเก็บเกี่ยวผลได้ คือ จำนวนวันหลังดอกบาน สีผิวผล ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solid, TSS) ปริมาณกรดในน้ำคั้น (total acidity, TA) และระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวอยู่ในช่วงผลมีอายุ 31 วัน หลังดอกบาน To *et al.* (2002) ได้ศึกษาคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลแก้วมังกรในประเทศเวียดนาม พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวแก้วมังกรเพื่อให้มีคุณภาพคืออยู่ที่ 28-30 วันหลังดอกบาน ผลแก้วมังกรส่วนใหญ่มีน้ำหนักประมาณ 300-600 กรัม มีเมล็ดสีดำเล็กๆคล้ายเมล็ดงาหรือเมล็ดแมงลักกระจายฝังอยู่ทั่วเนื้อ แก้วมังกรเป็นไม้ผลเศรษฐกิจชนิดใหม่ที่กำลังได้รับความนิยมและมีการบริโภคอย่างแพร่หลาย เนื่องจากชื่อที่เป็นมงคล ส่วนใหญ่นิยมรับประทานสด มีรสชาติหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย แก่กระหายน้ำได้ดี นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยคุณค่าทางสารอาหาร ทั้งแร่ธาตุ วิตามิน โยอาหาร มีแคลอรีต่ำ บำรุงผิวพรรณ กระดูกและฟันแข็งแรง ช่วยดูดซับสารพิษต่างๆ ออกจากร่างกาย เช่น สารตกค้างจากยาฆ่าแมลงที่มากับผัก สารตกค้าง เช่น ตะกั่ว ที่มาจากควันท่อไอเสียรถยนต์ และสารอื่นๆ และยังช่วยลดการเกิดโรคมะเร็งอีกด้วย (ใจทิพย์ และ คณะ, 2553)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของเนื้อผลแก้วมังกร (*Hylocereus* spp.)

ลักษณะ	หน่วย	<i>Hylocereus</i> spp.
ค่าความเป็นกรด-เบส		4.3 – 4.7
น้ำหนักแห้ง	เปอร์เซ็นต์	12 ± 1
ความหนาแน่น (20 °C)	กรัม ต่อ ตารางเซนติเมตร	1.04 ± 0.01
ปริมาณกรดทั้งหมด (TA)	กรัม ต่อ ลิตร	2.4 – 3.4
กรดมาลิก	กรัม ต่อ ลิตร	6.2 - 8.2
กรดซิตริก	กรัม ต่อ ลิตร	0.95 – 1.2
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS)	องศาบริก	7.1 – 10.7
โปรตีน	กรัม ต่อ ลิตร	1.2 – 1.25
ไขมัน		1.17 – 1.43
กลูโคส	กรัม ต่อ ลิตร	30-103
ฟรุ็กโทส	กรัม ต่อ ลิตร	19 – 29
แร่ธาตุ	กรัม ต่อ ลิตร	
เพคติน	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม	65-136
กรดแอสโคบิก	กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร	1.6 – 3.5
กรดดีไฮโดรแอสโคบิก	กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร	1.1 – 3.6
วิตามินซีทั้งหมด	มิลลิกรัม ต่อ ลิตร	3.2 – 5.8
เบตาไซยานิน	กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร	530 – 717
ใยอาหาร	μM GACb equ.g ⁻¹	3.2 ± 0.1
สารประกอบฟีนอลิก		5.6 – 7.4

ที่มา: Bellec and Vaillant (2011)

สุรพงษ์ (2545) รายงานว่าเมื่อต้นแก้วมังกรเจริญเติบโตอย่างปกติและมีความสมบูรณ์ดีประกอบด้วยช่วงวันยาว ต้นแก้วมังกรจะเริ่มออกดอกในช่วงเดือนเมษายน ระยะเวลาการออกดอกประมาณ 6 เดือน ตั้งแต่เดือนเมษายนถึงกันยายน โดยมากออกดอกบริเวณปลายกิ่ง อายุของกิ่งที่จะออกดอกได้จะเป็นกิ่งที่แก่ กิ่งที่กำลังแก่หรือกิ่งที่มีอายุมากกว่าเพศลดเล็กน้อย ประเทศในกลุ่มยุโรปนิยมบริโภคแก้วมังกรมาก โดยส่วนใหญ่นำเข้าจากประเทศอิสราเอล รองลงมา คือ ประเทศเวียดนาม

และมีบางส่วนจากประเทศไทย (Humphreys, 2005) แก้วมังกรมีอัตราการหายใจ 41-79 มิลลิลิตร คาร์บอนไดออกไซด์ต่อกิโลกรัมต่อชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 – 23 องศาเซลเซียส และมีการผลิต เอทิลีน 0.01-0.09 ไมโครลิตรเอทิลีนต่อกิโลกรัมต่อชั่วโมง ในระหว่างการเจริญเติบโตและการพัฒนา (Sergio *et al.*, 2011) จึงจัดว่าแก้วมังกรเป็นผลไม้ชนิด non climacteric fruit (Hoa *et al.*, 2006; Bellec *et al.*, 2006) จึงต้องรอให้ผลแก่เต็มที่จึงจะเก็บเกี่ยวได้ความหวานและสีผิวมีโอกาส บ่มให้ดีขึ้นเล็กน้อยภายหลังการเก็บเกี่ยว อัตราการหายใจจะค่อยๆลดลงเรื่อยๆ การเปลี่ยนแปลง ของสารอาหารและสารประกอบต่างๆในผลมีน้อย ความหวานจึงไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไป “ระยะทิ้งให้ลิ้มต้น” (วินศ, 2549) ปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานของแก้วมังกรเพื่อการส่งออก เกษตรกรจะเก็บเกี่ยวแก้วมังกรเมื่อผลเปลี่ยนเป็นสีแดง การผลิต แก้วมังกรส่วนใหญ่จึงพบปัญหา ผลมีขนาดเล็กไม่สม่ำเสมอ ผลปริแตก ซึ่งทำให้ผลของแก้วมังกรมีคุณภาพต่ำ เนื่องจากแก้วมังกรเป็น ผลไม้ประเภท non climacteric จึงต้องมีดัชนีการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมในระยะที่เหมาะสม เพราะว่า เมื่อเก็บเกี่ยวผลแก้วมังกรเร็วเกินไปจะทำให้มีรสเปรี้ยว หรือถ้าเก็บเกี่ยวช้าเกินไป จะทำให้ผลแก้ว มังกรเกิดการเสื่อมสภาพได้ง่าย มีอายุการวางขายสั้น (สุรพงษ์, 2545) นอกจากนี้ปัญหาที่สำคัญต่อ การผลิตแก้วมังกรที่สำคัญอีกอย่างหนึ่ง คือปัญหาทางด้านโรคพืช โดยพบโรคระบาดทั้งที่ลำต้น และผลทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก เกษตรกรมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชมาก ทำให้ ต้นทุนการผลิตสูง (พรพิมล และ คณะ, 2550) อายุของเนื้อเยื่อของผลสุกเต็มที่ที่มีความไวต่อการ เข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชและก่อให้เกิดการเน่าภายหลังการเก็บเกี่ยว (Valiuskaite *et al.*, 2006)

โรคของแก้วมังกร

Apipunyakom *et al.* (2012) รายงานการสำรวจโรคแก้วมังกรจากแหล่งปลูกแก้วมังกรใน จังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม ราชบุรี ปทุมธานี ระยอง จันทบุรี สมุทรปราการ นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย และกรุงเทพฯ พบโรคของแก้วมังกร ดังนี้

โรคเน่าเปื่อยที่ดอก เกิดจากเชื้อรา *Choanephora sp.* โดยเชื้อราเจริญอยู่บนส่วนของ ดอกแก้วมังกร สร้างเส้นใยฟู เจริญขึ้นมาเหนือส่วนของดอก พบระบาดมากในช่วงที่อากาศ มีความชื้นสูง บางครั้งพบเชื้อรา *Aspergillus niger* เจริญร่วมอยู่ด้วย

โรคผลเน่า เกิดจากเชื้อรา *Drechslera cactivora* ซึ่งพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคมากที่สุด โรคผลเน่าของแก้วมังกรนั้นมีรายงานพบที่ประเทศไต้หวัน โดย Wang and Lin (2005) ได้ศึกษาโรคลำต้นเน่าของ peanut cactus สีเหลือง และผลเน่าของแก้วมังกร พบว่าสาเหตุของโรคทั้ง 2 ชนิดเกิดจากเชื้อราชนิดเดียวกัน และได้ศึกษาพืชอาศัยของเชื้อชนิดนี้ พบพืชอาศัยในวงศ์ Cactaceae และพืชชนิดอื่น ได้แก่ *Astrophyllum asterias*, *Cereus jamacaru*, *Echinocactus grusonii*, *Echinocereus chloranthus*, *Echinopsis calochlora*, *Espostoa melanostele* และ *Hylocereus* sp. (เนื้อสีแดง) Taba *et al.* (2007) รายงานพบโรคผลเน่าของแก้วมังกร สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Bipolaris cactivora* ในโรงเรือนหลังเก็บเกี่ยว ที่เมือง Itoman จังหวัด Okinawa ประเทศญี่ปุ่นในปี 2006 Ellis (1971) รายงานการพบเชื้อรา *D. cactivora* เป็นสาเหตุโรคพืชของตระกูล Cactaceae ระบาดในทวีปยุโรป พรพิมล และ คณะ (2550) รายงานการพบโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคเท่ากับ 32.5 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ในปี 2006 มีรายงานการศึกษาโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของแก้วมังกรที่เมือง Itoman พบเชื้อราสาเหตุคือ *B. cactivora* และพิสูจน์โรคแล้วพบว่าเชื้อราชนิดนี้เป็นสาเหตุของผลเน่าแก้วมังกรจริง ซึ่งมีลักษณะอาการแตกต่างจากโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* (Taba *et al.*, 2007) ศราวุธ และ คณะ(2555) รายงานการสำรวจโรคผลเน่าของแก้วมังกรภายหลังการเก็บเกี่ยวในจังหวัดสมุทรสาคร นครราชสีมา และจันทบุรี พบมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Dothiorella dominicana*, *C. gloeosporioides*, *C. capsici* และ *Bipolaris cactivora* โดยพบว่าเชื้อรา *D. dominicana*, *C. gloeosporioides* สามารถเข้าทำลายตั้งแต่ในระยะเริ่มสร้างดอก

โรคลำต้นจุด ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Dothiorella* sp. ลักษณะอาการเริ่มแรกจะเห็นแผลจุดกลมเล็กๆ สีเหลืองคล้ายหัวเข็มหมุด ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้นและเชื้อราสร้างส่วนขยายพันธุ์สีดำเจริญอยู่บริเวณแผล ต่อมาแผลตรงกลางจะแตกออก แผลกระจายไปทั่วลำต้น หรือบางครั้งก็เกิดอยู่รอบตาที่เป็นหนาม โรคนี้มีความรุนแรงต่อการผลิตแก้วมังกรมากพบการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคมากที่สุดในจังหวัดจันทบุรี (พรพิมล และ คณะ, 2550) Valencia *et al.* (2003) รายงานการพบโรคลำต้นจุดเกิดบนลำต้นของแก้วมังกรสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Botryosphaeria dothidea* (Anamorphic state: *Fusicoccum* sp.) พบระบาดในประเทศเม็กซิโก Sutton (1980) ได้รายงานว่า *Colletotrichum* sp. เป็นเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญในพืชหลายชนิด เข้าทำลายเกือบทุกส่วนของพืช ตั้งแต่ต้นกล้า ใบ ลำต้น ดอก ผล มีพืชอาศัยมากถึง 470 สกุล พบเชื้อรานี้ในทางแถบร้อนชื้นและกึ่งร้อน มีการกระจายตัวอยู่ในเขตต่างๆ ทั่วไปในโลก Kim *et al.* (2000) รายงานพบเชื้อรา *Glomerella*

cingulata (anamorph: *C. gloeosporioides*) บนกิ่งตอนของพืชตระกูล Cactus ที่ประเทศเกาหลี พืชแสดงอาการน้ำสีเหลืองน้ำตาลบริเวณแผล ที่ส่วนของลำต้นทำให้ลำต้นเน่าในประเทศไทย พบเป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญหลายชนิด เช่น มะม่วง (พิสุทธิ, 2553), กล้วยไม้ (นิยมรัฐ, 2544) รวมถึงแก้วมังกร (Masanto *et al.*, 2009) เชื้อราชนิดนี้สร้างสปอร์รูปร่างแตกต่างกันแล้วแต่ชนิด (species) พบว่าเชื้อรานี้เข้าทำลายแบบแฝง (latent infection) ตั้งแต่ผลยังเป็นสีเขียวอยู่บนต้น โดยเชื้อราพักตัวอยู่และพัฒนาแสดงอาการภายหลังจากที่ผลไม้นั้นถูกเก็บเกี่ยว และนำมาบ่มหรือเก็บรักษาเป็นระยะเวลาหนึ่ง (Chema and Karmarket, 1950)

โรคผลเน่าและโรคแอนแทรคโนสบนลำต้น ซึ่งเชื้อสาเหตุคือเชื้อรา *C. gloeosporioides* ลักษณะอาการคือ พบแผลสีน้ำตาลแดง มีวงสีเหลืองซีดล้อมรอบ เจริญเป็นวงซ้อนกันอยู่ตรงขอบริมเถา ถ้าอาการรุนแรงมาก แผลจะเน่า และมักพบส่วนของ conidia สีชมพูอมส้มเจริญอยู่บนแผล ลักษณะเป็นเมือก โรคแอนแทรคโนสที่เกิดบนลำต้นสาเหตุเกิดจาก *C. gloeosporioides* พบเปอร์เซ็นต์การเกิดและความรุนแรงของโรคน้อยกว่าโรคผลจุด Palmateer and Ploetz (2007) รายงานพบโรคแอนแทรคโนสบนลำต้นของแก้วมังกร สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ระบาดใน Miami-Dade County ประเทศสหรัฐอเมริกา Masanto *et al.* (2009) รายงานพบโรคแอนแทรคโนสบนผลของแก้วมังกร สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ครั้งแรกที่ประเทศมาเลเซีย โดยสำรวจโรคของแก้วมังกรระหว่างเดือนธันวาคม 2550 ถึงสิงหาคม 2551 เก็บตัวอย่างส่วนที่เป็นโรคบริเวณลำต้นและผลมาศึกษาสาเหตุของโรคในห้องปฏิบัติการ และพบโรคนี้ระบาดรุนแรงมากที่สุดที่มะละกา โดยมีการเกิดโรคและความรุนแรงของโรค เท่ากับ 57.30 และ 21.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่พบการระบาดของโรคนี้น้อยที่สุดที่รัฐกลันตัน โดยพบการเกิดโรคและความรุนแรงของโรค เท่ากับ 6.70 และ 4.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Awang *et al.* (2009) มีรายงานการพบโรคผลเน่าที่เกิดจาก *C. gloeosporioides* เช่นกัน และโรค brown rot ซึ่งมีเชื้อสาเหตุคือ *Monilinia fructicola* ที่พบในประเทศมาเลเซีย โดยพบว่าแก้วมังกรเป็นผลไม้ที่มีความอ่อนแอต่อการถูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *M. fructicola* เข้าทำลาย ความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ 10^4 และ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ก่อให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ขนาดของแผลที่เกิดจากเชื้อต่างกันโดยที่ความเข้มข้นของสปอร์ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีความกว้างของแผลมากกว่าคือ 5.84 ตารางเซนติเมตร ในขณะที่ความเข้มข้นของสปอร์ที่ 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีความกว้างของแผลเพียง 0.60 ตารางเซนติเมตร และในประเทศบราซิล Takahashi *et al.* (2008) ได้รายงานการพบเชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนผลแก้วมังกรเนื้อสีเหลือง (*H. megalanthus*) เป็นครั้งแรก

การเข้าทำลายของเชื้อรา *C. capsici* บนผลพริก Adikaram *et al.* (1983); รัตนา (2542) รายงานว่าสปอร์ของเชื้อราสามารถงอกเข้าทำลายผลพริกที่ยังไม่แก่ได้ ลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. capsici* บนผลพริก พบว่าสปอร์เริ่มงอกที่ 12 ชั่วโมง สร้าง germ tube และ appressorium ภายใน 24 ชั่วโมง มีการสร้างเส้นใยเล็กๆ (infection hyphae) แทะผ่านชั้น cuticle ลงมาได้เพียงเล็กน้อย (รัตนา, 2542) ขณะที่ Manandhar *et al.* (1985) พบว่าเมื่อทำการปลูกเชื้อรา *C. truncatum* ลงบนผิวใบของต้นถั่วเหลืองไปแล้ว 4 ชั่วโมง conidia จะเริ่มสร้าง germ tube และ appressorium ถึง 70.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เชื้อรา *Glomerella glycines* ascospore จะเริ่มสร้าง germ tube และ appressorium 25 เปอร์เซ็นต์ ที่ 6 ชั่วโมง และ 40 เปอร์เซ็นต์ ที่ 12 ชั่วโมง ภายหลังจากการปลูกเชื้อ Pring *et al.* (1995) รายงานว่า conidia ของเชื้อรา *C. capsici* บน hypocotyls ของ cowpea เมื่อเริ่มมีการงอก จะมีการสร้างผนังกั้น(septum) ตามแนวขวางที่ส่วนกลางของสปอร์ และเมื่อเริ่มมีการยึดติดกับผิวพืชจะมีการสร้างสารบางอย่างระหว่าง appressorium และผิวหน้าของพืช การศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในเนื้อเยื่อผลฝรั่งของ Moraes *et al.* (2013) พบว่า เชื้อรามีการเข้าทำลายโดยตรงผ่าน penetration peg ในชั่วโมงที่ 48 และมีการเข้าทำลาย vesicle ภายใน epidermal cell ในชั่วโมงที่ 96 (4 วัน) ขณะที่สังเกตเห็นโครงสร้างของเชื้อราที่เข้าไปแทรกอยู่ตามส่วนของ epidermal และ parenchyma cell ของพืชเมื่อผ่านไป 120 ชั่วโมง (วันที่ 5)

คุณภาพภายหลังการเก็บเกี่ยว

ในช่วงระยะที่ผลไม้สุกจะมีการเปลี่ยนแปลงทางฟิสิกส์และชีวเคมี เช่น การนุ่มของผลหรือการอ่อนตัวของเนื้อเยื่อเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ซึ่งสูญเสียความตึงของเซลล์เกิดการย่อยสลายขององค์ประกอบของผนังเซลล์จากเอนไซม์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเซลล์ โดยทั่วไปเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและองค์ประกอบของผนังเซลล์และ middle lamella (Huber, 1983) การสลายตัวของแป้ง ไขมัน และการเสื่อมสภาพของเซลล์ (Tucker and Seymour, 1991) การเปลี่ยนสีของผลเนื่องจากการสูญเสียเม็ดคลอโรพลาสต์ การสลายตัวของคลอโรฟิลล์ และการสังเคราะห์รงควัตถุชนิดใหม่ขึ้นมา เช่น คาโรทีนอยด์แอนโทไซยานิน การหายใจและการผลิตเอทิลีนเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในผลไม้ประเภท climacteric ที่ในช่วงการสุกของผล เอทิลีนจะถูกสร้างขึ้นมาเป็นจำนวนมาก โดยพบว่าอัตราการหายใจและปริมาณเอทิลีนมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด การเปลี่ยนแปลงของสารเคมีบางชนิด เช่น น้ำตาลเพิ่มขึ้นอันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล (จิรา, 2531; นพดล, 2537; Leopold และ Kriedemann, 1975) และอาจมีการเปลี่ยนไขมันให้เป็นน้ำตาล (สุรนนต์, 2526) รวมทั้งการนำเข้าน้ำตาลจากส่วนอื่นๆ ของ

พีช (Whiting, 1970) ระหว่างการสุกพบว่ามีสารสังเคราะห์โปรตีนเพิ่มขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดต่างๆ (จิรา, 2531) ปริมาณกรดที่ลดลงเนื่องจากถูกใช้ป็นสารตั้งต้นในการหายใจ (Ulrich, 1970) กรดอินทรีย์ชนิดต่างๆในพีชส่วนใหญ่เป็นกรดที่อยู่ในวัฏจักรเครบ (Krebs' cycle) ซึ่งถูกสร้างขึ้นระหว่างเกิดขบวนการหายใจภายในเซลล์ โดยการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรตแล้วสะสมอยู่ในแวคิวโอล พบว่าปริมาณกรดในผลไม้จะผันแปรขึ้นอยู่กับความอ่อนแก่ของผล โดยผลอ่อนมีปริมาณกรดมากกว่าผลที่แก่ และจะลดลงมากเมื่อเก็บรักษาไว้ในสภาพที่อุณหภูมิสูง (สุรพงษ์, 2531) นอกจากนี้ยังเกิดการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญคือการเกิดกลิ่นและรสชาติที่เปลี่ยนไป โดยเป็นผลร่วมกันของสารประกอบต่างๆ เช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ สารประกอบ phenolic และสารประกอบ volatile (Seymour *et al.*, 1993) ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของน้ำตาลในผลแก้วมังกรเนื้อสีขาวและเนื้อสีแดงโดย HPLC (High Performance Liquid Chromatography) พบว่าเนื้อแก้วมังกรเนื้อสีขาว ปริมาณ $\frac{1}{4}$ ผล จะมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 6.26 กรัม โดยเป็นน้ำตาลฟรุ็กโตส 1.81 กรัม และน้ำตาลกลูโคส 4.45 กรัม ขณะที่เนื้อสีแดงมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 4.54 กรัม เป็นน้ำตาลฟรุ็กโตส 0.90 กรัม และน้ำตาลกลูโคส 3.64 กรัม (พิมพ์ และ คณะ, 2549) Pesis *et al.* (2012) รายงานการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลกีวี่เมื่อเชื้อรา *Botrytis cinerea* เข้าทำลาย พบว่าในบริเวณที่มีอาการของโรคและบริเวณที่เชื้อรามีการบุกรุก (invasion zone) มีปริมาณ TSS ลดลง ซึ่งการลดลงนี้เกี่ยวข้องกับน้ำตาลกลูโคสที่หายไป ในขณะที่ปริมาณของน้ำตาลฟรุ็กโตสไม่มีการเปลี่ยนแปลง และค่า pH มีค่าต่ำลง เป็นส่วนของปริมาณกรดซิตริก กรดออกซาลิก และกรดฟูลิกที่เพิ่มขึ้น Osman *et al.* (2011) รายงานการใช้ *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 ร่วมกับ 1-methyl cyclopropane ภายหลังการเก็บเกี่ยวผลมะละกอจะช่วยลดอาการของโรคแอนแทรคโนสและโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis* sp. ได้ในระหว่างการเก็บรักษา และยังคงคุณภาพของผลมะละกอไว้อีกด้วย

การควบคุมโรค

การควบคุมโรคก่อนการเก็บเกี่ยว การใช้สารเคมี benomyl 250 ppm และ prochloraz 500 ppm พ่นผลมะม่วงบนต้นภายในแปลง สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสของผลมะม่วง ภายหลังการเก็บเกี่ยวได้ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้พ่นสารเคมี (Dodd *et al.*, 1991) การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวมีหลายวิธีทั้งวิธีทางฟิสิกส์ สารเคมี ทางชีววิธี หรือการเขตกรรม โดยการใช้สารเคมีเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก เนื่องจากให้ผลดีในการควบคุมและสะดวกใช้สำหรับเกษตรกร สำหรับสารเคมีที่นิยมใช้กับผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวมีหลายชนิด เช่น carbendazim thiabendazole

mancozeb azoxystrobin imazalil และ prochloraz สำหรับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่มีการเข้าทำลายแบบแฝง การใช้สารในกลุ่ม benzimidazole ซึ่งเป็นสารเคมีประเภทดูดซึมมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อราหลายชนิด และสารเคมีในกลุ่มนี้ยังสามารถซึมลงในผิวที่เป็น wax ของผลผลิตไปยังจุดที่เชื้อเข้าทำลายอยู่ได้ แต่เชื้อราบางชนิดมีความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่มนี้ เช่น *Penicillium digitatum* และ *Botrytis cinerea* (Brent and Hollomon, 2007) Khan *et al.* (2001) รายงานการใช้ imazalil ร่วมกับสารเคมี butylated hydroxyanisole (BHA) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของกล้วย ที่เกิดจากเชื้อรา *C. musae* พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ 63-80 เปอร์เซ็นต์ และการจุ่มกล้วยในสารเคมี imazalil ความเข้มข้น 250 ppm นาน 3 นาที ร่วมกับการเก็บรักษาในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษากล้วยได้นาน 30 วัน และเมื่อปอกให้สุกก็ไม่ปรากฏอาการของโรคแอนแทรคโนส การตรวจหาสารพิษตกค้างที่ผิวพบในปริมาณ 44 ppm (ทศพร, 2535)

การใช้น้ำร้อนในการควบคุมโรคภายหลังการเก็บเกี่ยว ถูกนำมาใช้ในพืชผลหลายชนิด โดยการใช้ความร้อนเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพดีในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้าทำลายแบบแฝงอยู่ในผลผลิต (Burchill, 1964; Couey and Follstad, 1966) โดยพบว่าการจุ่มน้ำร้อนสามารถกระตุ้นหรือชักนำให้พืชต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช (Pavoncello *et al.*, 2001) การใช้ความร้อนควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง โดยการจุ่มผลในน้ำร้อนช่วงอุณหภูมิ 45-60 องศาเซลเซียส พบว่าการจุ่มผลที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และที่ 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคดีที่สุด (Pennock and Maldonado, 1962)

Prochloraz เป็นสารในกลุ่ม benzimidazole ที่มีสารออกฤทธิ์ค่อนข้างกว้าง Muirhead *et al.* (1982) รายงานการใช้สารเคมี prochloraz ปริมาณ 1 กรัม (a.i.) ต่อลิตร สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสของผลโอคาโดภายหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *G. cingulata* var. minor และยัง สามารถควบคุมเชื้อรา *D. aromatica* และ *B. theobromae* สาเหตุโรค stem-end rot นิพนธ์ (2542) พบว่าการจุ่มผลมะม่วงใน น้ำร้อน 50 องศาเซลเซียส ผสม benomyl 500 ppm หรือ prochloraz 200 ppm นาน 5-10 นาที ลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส แต่ prochloraz ไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคข้าวผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สรายุทธ และ คณะ (2555) รายงานการใช้ prochloraz เข้มข้น 400 ppm ฉีดพ่นผลแก้วมังกรก่อนการเก็บเกี่ยว 10 วัน พบว่าสามารถลดอาการของโรคผลเน่าได้เล็กน้อย และการจุ่มผลแก้วมังกรภายหลังการเก็บเกี่ยวใน prochloraz เข้มข้น 400 ppm เป็นเวลา 3 นาที สามารถลดโรคแอนแทรคโนสจาก 80.0 เปอร์เซ็นต์ เหลือ 6.6 เปอร์เซ็นต์ แต่

มีข้อควรระวังของการใช้สารเคมี คือ การมีสารพิษตกค้าง (pesticide residue)(ตารางที่ 2) ซึ่งหมายถึง สารตกค้างในสินค้าเกษตรที่เกิดจากการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร และให้ความหมายรวมถึงกลุ่มอนุพันธ์ของวัตถุอันตรายทางการเกษตรนั้น ได้แก่ สารจากกระบวนการเปลี่ยนแปลง (conversion products) สารจากกระบวนการสร้างและสลาย (metabolites) สารจากการทำปฏิกิริยา (reaction product) และสารที่ปนอยู่ในวัตถุอันตราย ทางเกษตร (impurities) ที่มีความเป็นพิษอย่างมีนัยสำคัญ โดยปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (maximum residue limit for pesticide; MRL) ที่กำหนดโดยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตร มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมสารพิษตกค้างต่อกิโลกรัมสินค้าเกษตร (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ [มกอช.], 2552)

ตารางที่ 2 สารพิษตกค้างที่กำหนดให้มีในผักและผลไม้ของ Codex

ชนิดสารเคมี	ชนิดของสินค้า	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
prochloraz	ผลไม้ที่กินเปลือกไม่ได้	7
	ส้ม	10
	พริก	10
	เห็ด	2
imazalil	ส้ม	5
	กล้วย	2
	แตงโม	2
	แอปเปิ้ล	5
	สตอเบอรี่	2
	แตงกวา	0.5
	มันฝรั่ง	5

ที่มา: สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ [มกอช.], (2552)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ศึกษาการเกิดโรคแอนแทรกโนสของผลแก้วมังกร ซึ่งปลูกในแปลงต่างๆ ในประเทศไทย และเชื้อสาเหตุ

สุ่มผลแก้วมังกรจากแหล่งปลูกต่างๆ ได้แก่ อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี และ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา แหล่งละ 100 ผล นำมาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง มาเชื้อที่ผิวด้วย แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาไว้ในตู้อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) ตรวจสอบอาการของโรคแก้วมังกรเมื่อผลเปลี่ยนสีเต็มที่ โดยตรวจนับจำนวนผลที่แสดงอาการของโรคและความรุนแรงของโรคที่ปรากฏบนผลแก้วมังกร โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวที่เป็นโรคเทียบกับพื้นที่ผิวของทั้งผล

2. การจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของผลแก้วมังกร

2.1 ศึกษาลักษณะของเชื้อสาเหตุโรค

นำผลแก้วมังกรที่แสดงอาการโรคแอนแทรกโนสบนผล โดยสุ่มผลมาจากแหล่งปลูกต่างๆ กันข้างต้น นำส่วนของผลแก้วมังกรที่เป็นโรคมาดัดเนื้อเยื่อพืช (cross section) เพื่อดูการสร้างส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อที่เกิดบริเวณแผล ศึกษาลักษณะรูปร่าง สีและขนาดของ conidia ภายใต้กล้อง compound microscope และแยกเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธี tissue transplanting โดยตัดเนื้อเยื่อของเปลือกแก้วมังกรบริเวณรอยต่อระหว่างส่วนที่แสดงอาการโรคกับส่วนเนื้อเยื่อปกติ ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร นำมาฆ่าเชื้อที่ผิวนอกด้วยสารละลาย sodium hypochlorite 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที หลังจากนั้นจึงล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (distilled water) อีก 1 ครั้ง ผึ่งเนื้อเยื่อให้แห้งบนกระดาษทิชชูที่ฆ่าเชื้อแล้ว นำชิ้นพืชมาวางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มไว้ในตู้อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน เพื่อใช้ศึกษาลักษณะของเชื้อรา ได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาดและสีของโคโลนี โดยนำลักษณะของราดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดรา ได้แก่ เอกสารของ Sutton (1980), Ellis (1971, 1976), Carmichael *et al.* (1980) และรายงานของสำนักวิจัยและพัฒนาวิชาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร (2557)

2.2 การจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสโดยวิธีทางชีวโมเลกุล

2.2.1 การเตรียมเชื้อรา

นำเชื้อราที่แยก conidia เดี่ยวแล้ว มาทำ conidia แววนลอย (conidial suspension) โดยเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วเทลงบนอาหาร PDA ที่มีเชื้อราเจริญอยู่ที่ผิวอาหารเป็นเวลา 7 วัน ใช้แท่งแก้วอุดที่ผิวอาหารเบาๆ กรองแยก conidia ด้วยผ้าขาวบางฆ่าเชื้อ จากนั้นดูด conidial suspension ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหาร malt broth (MB) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่อยู่ในขวดชมพู่มะนาวโดยเขย่าบน rotary shaker ที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเส้นใยภายในขวด มากรองโดยใช้กระดาษกรอง ล้างเส้นใยด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วผ่านกระดาษกรอง นำเส้นใยที่ได้ไปสกัดดีเอ็นเอ

2.2.2 การสกัดดีเอ็นเอ (Alexander *et al.*, 2007)

นำเส้นใยที่ได้จากการกรองปริมาณ 50 มิลลิกรัม มาบดในโกร่งด้วยไนโตรเจนเหลวและนำมาใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตร (microcentrifuge) จากนั้นเติม solution I 300 ไมโครลิตร (30 mM Tris-HCl, pH 8 ; 0.1M 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) ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบดที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติม solution III 192 ไมโครลิตร (60 ml. 5M KOAC ; 11.5 ml. 96% acetic acid และ 28.5 ml. H₂O) และ chloroform 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นน้ำแข็ง 10 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดส่วนใสข้างบนย้ายลงหลอดใหม่ เติม absolute alcohol ในอัตราส่วน 1:1 กลับหลอดไปมาเพื่อให้สารละลายผสมกัน แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้งและล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70 เปอร์เซ็นต์ alcohol โดยดูด alcohol ใส่ในหลอดที่มีดีเอ็นเอ กลับหลอดไปมา จากนั้นเท alcohol ทิ้ง ผึ่งตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE (10 mM Tris-HCl pH 8 และ 1 mM EDTA) 30 ไมโครลิตร หลังจากนั้นตรวจสอบ genomic DNA โดยเทคนิคอะกาโรสอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose electrophoresis) บนอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ ใน 0.5xTBE buffer เวลา 25 นาที กระแสไฟ 135 โวลต์ โดยใช้ novel juice dye 1 ไมโครลิตร ผสมกับ genomic DNA ที่สกัดได้ 5 ไมโครลิตร นำไปหยอดลงในอะกาโรสเจล

เพื่อตรวจผล ก่อนนำไปตรวจดูแถบดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง gel documentation (SYNGENE BIO IMAGING) โดยใช้ marker 100 bp เป็นตัวเปรียบเทียบ

2.2.3 ปฏิกิริยา PCR (Polymerase Chain Reaction)

2.2.3.1 การใช้ universal primer ITS1 และ ITS4 สำหรับการจำแนกเชื้อราสาเหตุโรค

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจะใช้ปริมาตรรวมของปฏิกิริยา 50 ไมโครลิตร โดยการเตรียมส่วนผสมหลักสำหรับทำ PCR (master mix) ก่อน ซึ่งประกอบด้วย

10x PCR buffer	5	ไมโครลิตร
MgCl ₂ (2.5 mM)	2	ไมโครลิตร
Deoxy nucleotide triphosphate (dNTP)	2.5	ไมโครลิตร
Primer ITS 1 (20 µl)	0.5	ไมโครลิตร
Primer ITS 4 (20 µl)	0.5	ไมโครลิตร
Sterile dH ₂ O	37.5	ไมโครลิตร
Taq DNA polymerase	1	ไมโครลิตร

Primer ITS 1 มีลำดับเบส 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'

Primer ITS 4 มีลำดับเบส 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3' (White *et al*, 1990)

จากนั้นนำ master mix ดังกล่าวใส่ในหลอด PCR ที่มี DNA template ปริมาตร 1 ไมโครลิตร นำใส่ในเครื่อง thermal cycle รุ่น Mini Cycler PTC-150 โดยจำนวนรอบในการทำ PCR คือ 35 รอบ ใช้เวลาและอุณหภูมิในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอดังนี้

initial denaturation	อุณหภูมิ 95 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 1X TBE buffer เวลา 30 นาที กระแสไฟ 100 โวลต์ โดยใช้ dye novel juice ผสมกับ PCR product ก่อนเช็คผลด้วยเครื่อง Gel Documentation โดยใช้ marker 100 bp

2.2.3.2 การใช้ specific primer CcapF และ CcapR สำหรับการจำแนกเชื้อรา

C. capsici

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจะใช้ปริมาตรรวมของปฏิกิริยา 50 ไมโครลิตร โดยส่วน ผสมหลักของปฏิกิริยา PCR (master mix) จะใช้เหมือนกับข้อ 2.2.3.1 แต่เปลี่ยน primer เป็นดังนี้

Primer CcapF มีลำดับเบส 5'GTAGGCGTCCCCTAA AAAGG 3'

Primer CcapR มีลำดับเบส 5'CCCAATGCGAGACGAAATG 3' (Torres *et al.*, 2011)

นำ master mix ใส่ในหลอด PCR ที่มี DNA template ปริมาตร 1 ไมโครลิตร นำใส่ในเครื่อง Thermal Cycle รุ่น MiniCycler PTC-150 โดยจำนวนรอบในการทำ PCR คือ 25 รอบ ใช้เวลาและอุณหภูมิในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอดังนี้

initial denaturation	อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที
denaturation	อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.30 นาที
annealing	อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.30 นาที
extension	อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที
final extension	อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

ตรวจสอบคุณภาพของ PCR product โดยเทคนิคอะกาโรสอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis)

2.2.3.3 การวิเคราะห์ลำดับเบส (Sequencing analysis)

วิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR โดยส่ง PCR products ไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการภายนอก บริษัท macrogens ประเทศเกาหลี

2.2.4 การเปรียบเทียบลำดับเบส

นำลำดับเบสที่ได้มาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank เพื่อตรวจสอบความคล้ายคลึงในระดับสกุลและสปีชีส์กับฐานข้อมูล

3. ระยะการเข้าทำลายผลของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในแปลงปลูก

ติดฉลากที่ช่อดอกแก้วมังกรในระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะการเกิดตุ่มดอกจนถึงระยะเก็บเกี่ยวในพื้นที่สวนเกษตรกร โดยเลือกต้นแก้วมังกรที่อยู่บริเวณใกล้เคียงกัน และมีช่อดอกหรือผลที่อายุเท่ากัน สุ่มเลือกช่อดอก 10 ช่อต่อต้น จำนวน 10 ต้น เพื่อใช้ในการศึกษาปริมาณการเกิดโรคแอนแทรคโนส ขณะเดียวกันเก็บตัวอย่างตุ่มดอก ดอกตูม ดอกบาน ผลเขียว และผลที่พร้อมเก็บเกี่ยวจากต้นที่ติดฉลากไว้ นำมาแยกเชื้อเพื่อตรวจหาการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสด้วยวิธี tissue transplanting ตามที่กล่าวแล้วข้างต้น เมื่อเชื้อราเจริญขึ้น จึงแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์และจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคต่อไป

4. ศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อราและการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลแก้วมังกร

4.1 ระยะเวลาในการเข้าทำลายผลหลังการเก็บเกี่ยว

เลี้ยงเชื้อรา *C. capsici* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 5-7 วัน เพื่อให้เกิดการสร้าง conidia จากนั้นเติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้ท่วมบนอาหารที่มี conidia ของเชื้อราอยู่ ใช้แท่งแก้วอกลีบบนผิวอาหารเบาๆ เพื่อให้ conidia หลุดออกมา นำ conidial suspension ที่ได้ไปกรองผ่านผ้าขาวบางฆ่าเชื้อ เตรียม conidia ให้ได้ความเข้มข้น 10^6 conidia ต่อมิลลิลิตรโดยวัดด้วย hemacytometer แล้วนำ conidial suspension ที่เตรียมได้ พ่นลงบนผิวของแก้วมังกรที่ล้างด้วยน้ำเปล่าและฆ่าเชื้อที่ผิวหน้าด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการปลูกเชื้อนำผลแก้วมังกรไปบ่มไว้ในสภาพชื้นที่

อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง แล้วจึงเก็บรักษาที่อุณหภูมิ
ดังกล่าว หาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *Colletotrichum* sp. โดยตรวจผลการเกิด
โรคและความรุนแรงของโรคบนผลแก้วมังกรหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 - 7 วัน

4.2 การเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสหลังการเก็บเกี่ยว

4.2.1 ศึกษาการงอกของเชื้อราบนผลแก้วมังกร

เตรียม conidial suspension เช่นเดียวกับข้อ 4.1 จากนั้น ฟัน conidial
suspension ความเข้มข้น 10^6 conidia ต่อมิลลิลิตร ลงบนผิวของผลแก้วมังกรชนิดเนื้อสีขาวเปลือก
สีแดง (*H. undatus*) บ่มแก้วมังกรไว้ในสภาพที่มีความชื้น ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วตรวจ
นับการงอกของ conidia และการสร้าง appressoria จำนวน 5 ซ้ำๆ ละ 100 conidia ทุกๆ 1 ชั่วโมง
หลังปลูกเชื้อเป็นระยะเวลานาน 3 6 9 12 15 18 21 และ 24 ชั่วโมง แล้วลอกผิวแก้วมังกร
ออกวางบนสไลด์แก้ว ตรวจสอบการงอกของ conidia ภายใต้นก้องจุลทรรศน์

4.2.2 ศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อราบนเนื้อเยื่อของผลแก้วมังกรด้วย SEM

ตัดเนื้อเยื่อบริเวณผิวของผลแก้วมังกรที่ปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ซึ่งบ่ม
เชื้อในสภาพที่มีความชื้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เป็นชิ้นขนาด
ประมาณ 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร แช่ชิ้นตัวอย่างพืชใน 1 เปอร์เซ็นต์ osmium tetra oxide เป็น
ระยะเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นดึงน้ำออกจากเซลล์พืช โดยแช่ในเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ (ethanol
series ความเข้มข้น: 10 20 50 75 และ 95 เปอร์เซ็นต์) ความเข้มข้นละ 10 นาที และดึงแอลกอฮอล์
ออกจากเซลล์พืชด้วย critical point dried ใน liquid carbondioxide จากนั้นนำตัวอย่างพืชวางบน
aluminum stub แล้วนำไปเคลือบด้วยทอง (Balzers SCD 040) ตรวจสอบการงอกของ conidia และการ
สร้าง appressorium ภายใต้นก้อง SEM

4.2.3 การศึกษาโครงสร้างของเซลล์พืชและเชื้อสาเหตุโรคบนผิวแก้วมังกรด้วยวิธี paraffin section (Neergaard, 1997)

เตรียม conidial suspension เช่นเดียวกับข้อ 4.1 จากนั้นปั่น conidial suspension บนผิวของแก้วมังกร จากนั้นทำการบ่มไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รอจนแก้วมังกรแสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส ตัดเปลือกของแก้วมังกรบริเวณที่มีอาการโรคเป็นชิ้นขนาดประมาณ 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร นำเนื้อเยื่อแช่ในสารละลาย FAA (formalin-acetic acid – alcohol) เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง เพื่อหยุดการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคและคงสภาพเซลล์ จากนั้นดึงน้ำออกจากเซลล์พืช โดยแช่ใน tertiary butyl alcohol ความเข้มข้นต่างๆ (alcohol series ความเข้มข้น: 50 70 85 95 และ 100) เป็นเวลาความเข้มข้นละ 1 วัน เมื่อครบทุกความเข้มข้นแล้วจึงเท alcohol series ออก แล้วแช่ด้วย TBA : paraffin oil อัตราส่วน 1:1 เป็นระยะเวลา 1 วัน หลังจากนั้นดูดสารละลายออกมา แล้วเทด้วย paraffin เหลวที่หลอมแล้วใส่ตัวอย่างพอท่วมเนื้อเยื่อ หลังจากนั้นนำเข้าตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ทำซ้ำ 2 ครั้ง แล้วฝังเนื้อเยื่อพืชลงใน paraffin โดยเติม paraffin เหลวลงไปจนเต็มแบบพิมพ์ และจัดเรียงชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อพืชให้เป็นระเบียบ ทิ้งให้ paraffin แข็งตัวอย่างน้อย 24 ชั่วโมง นำแท่ง paraffin ที่มีเนื้อเยื่อพืชฝังอยู่ภายในออกจากแบบพิมพ์ แล้วตัดเป็นชิ้นติดบนแท่งไม้ ตัดแต่งให้แท่ง paraffin เรียบเสมอกัน ตัดด้วยเครื่อง rotary microtome ตัดชิ้นส่วนที่ตัดได้บนแผ่นสไลด์ หยดด้วยสารละลาย formalin ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำชิ้นส่วนวางบนสารละลายเพื่อให้ paraffin ยึดตัวออก วางแผ่นสไลด์บน slide warmer ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส และย้อมสีเนื้อเยื่อพืชด้วย safranin O และ fast green (ภาคผนวก) และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound

4.2.4 การเข้าทำลายของเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรบนผลพริก

เตรียม conidial suspension เช่นเดียวกับข้อ 4.1 จากนั้นปั่น conidial suspension ของเชื้อรา *C. capsici* ที่แยกได้จากโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกร ลงบนผลพริกพันธุ์บางช้างที่อยู่บนดินภายในโรงเรือน โดยใช้ผลพริกที่ทำแผลด้วยเข็มเย็บและไม่ทำแผล เมื่อปลูกเชื้อแล้วบ่มผลพริกไว้ในสภาพที่มีความชื้น ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง รอจนผลพริกบนต้นแสดงอาการของโรค

5. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลแก้วมังกรภายหลังการการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

5.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (titratable acidity, TA) ในผล ทำการคัดเลือกผลแก้วมังกร ที่มีขนาดและความสุกใกล้เคียงกันจำนวน 10 ลูก ล้างทำความสะอาดผลแก้วมังกรด้วยน้ำเปล่าและแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอก ปลุกเชื้อรา *C. capsici* ที่มีความเข้มข้น conidia 10^6 conidia ต่อมิลลิลิตร ลงบนผิวแก้วมังกร โดยวิธีการพ่น conidial suspension จากนั้นบ่มในสภาพชื้นเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจวัดปริมาณกรดซิตริกที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อแก้วมังกรปรากฏอาการของโรคแล้ว โดยนำเนื้อของแก้วมังกรบริเวณส่วนที่เป็นโรคกลึงไปจากผิวผล 0.5 เซนติเมตร ปริมาณ 10 กรัม นำไปบดให้ละเอียด กรองน้ำคั้นปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ทำการปรับปริมาตรของน้ำคั้นด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร นำสารละลายน้ำคั้นที่ได้มาทำการไทเทรตด้วย 0.1 N NaOH จนกระทั่งสารละลายที่ไทเทรตได้มี pH = 8.1 ใช้ฟีนอล์ฟทาไลน์เป็นอินดิเคเตอร์ เมื่อถึงจุดยุติสารละลายจะได้เป็นสีชมพู ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำๆ ละ 5 ผล คำนวณการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (%TA) ดังสมการต่อไปนี้

$$\%TA = \frac{[(N \text{ NaOH})(\text{ml. NaOH})(\text{meq. wt. of citric acid})]}{\text{ปริมาตรของน้ำคั้นแก้วมังกร (ml)}} \times 100$$

N base = Normality ของสารละลาย NaOH

ml. NaOH = ปริมาณของสารละลาย NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต

meq. wt. of citric acid = น้ำหนักโมเลกุลของ citric acid เท่ากับ 0.06404

5.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) ที่เปลี่ยนแปลงในผลิตผลภายหลังการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. capsici* เตรียมผลแก้วมังกรสำหรับการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4.1 ตรวจวัดปริมาณ TSS โดยใช้เครื่อง hand refractometer (ATAGO N-1E) นำน้ำคั้นของเนื้อแก้วมังกรมาหยดลงบนปริซึมของ refractometer เพื่อวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำๆ ละ 5 ผล

5.3 ปริมาณกรดแอสคอร์บิก หาปริมาณวิตามินซี ตามวิธีการของ AOAC method 967.21 (the association of analytical communities) (2000) โดยดัดแปลงวิธีดังนี้ คือ ใส่น้ำคั้นแก้วมังกรปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดเมต้าฟอสฟอริกอะซิติก (metaphosphoric acid-acetic acid)

ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นทำการไทเทรตด้วย 2,6 ไดคลอโรอินโดฟีนอล (2,6 – dichloro indophenol) จนถึงจุดยุติที่มีสีชมพูอย่างน้อย 5 วินาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณวิตามินซี ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณวิตามินซี (มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร)} = \frac{[(0.02)(T-B)(100)]}{(S-B)}$$

T = ปริมาณ 2,6 – dichloro indophenol ที่ใช้ไทเทรตกับน้ำคั้นแก้วมังกร

B = ปริมาณ 2,6 – dichloro indophenol ที่ใช้ไทเทรตกับสารละลายวิตามินซีมาตรฐาน

5.4 ปริมาณและชนิดของน้ำตาลกลูโคสและฟรุ็กโตส เตรียมผลแก้วมังกรสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของน้ำตาลเช่นเดียวกับในข้อ 5.1 จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC (high performance liquid chromatography) ที่ บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. การควบคุมโรคแอนแทรกสนของแก้วมังกร

6.1 การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* ภายในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีภายในห้องปฏิบัติการโดยวิธี poisoned food technique นำสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ prochloraz และ imazalil ที่ความเข้มข้น 0 125 250 500 และ 1,000 ppm ทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. capsici* โดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะที่ปลายเส้นใย ย้ายมาวางบนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมีความเข้มข้นต่างๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้จำนวน 5 ซ้ำ ต่อระดับความเข้มข้นต่อชนิดสารเคมี ตรวจผลโดยวัดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา นำสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงสุดมาควบคุมโรคก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว

6.2 การควบคุมโรคแอนแทรคโนสในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว

ติดฉลาก (tag) ผลแก้วมังกรที่อยู่บนต้นในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว 10 วัน โดยเลือกผลแก้วมังกรที่อยู่บริเวณใกล้เคียงกัน มีอายุผลใกล้เคียงกัน สุ่มทำเครื่องหมายผลแก้วมังกรทั้งหมด 80 ผล จากนั้นพ่นสารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 500 750 และ 1,000 ppm และพ่นน้ำเปล่า (ชุดควบคุม) โดยพ่นน้ำเปล่าและสารเคมีความเข้มข้นละ 20 ผล เมื่อเก็บเกี่ยวผลแก้วมังกรแล้วนำมาบ่มต่อจนผลแก้วมังกรเปลี่ยนสีเต็มที่ จึงตรวจนับการเกิดโรค

6.3 การควบคุมโรคแอนแทรคโนสในระยะหลังการเก็บเกี่ยว

6.3.1 การควบคุมโรคแอนแทรคโนสด้วยวิธีทางกายภาพโดยวิธีจุ่มผลน้ำร้อน นำผลแก้วมังกรจากสวนเกษตรกรที่เก็บเกี่ยวมาจากเขต อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา จำนวน 120 ผล แบ่งเป็นการทดลอง 4 ชุดๆละ 30 ผล แต่ละชุดนำมาจุ่มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 51 53 และ 55 องศาเซลเซียส และน้ำเปล่าที่อุณหภูมิห้องสำหรับชุดควบคุม เป็นเวลา 1 นาที อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการบ่มผลแก้วมังกรจนอาการของโรคปรากฏ ตรวจผลการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส

6.3.2 การควบคุมโรคแอนแทรคโนสโดยใช้สารเคมี นำผลแก้วมังกรจำนวน 150 ผล มาปลูกเชื้อโดยการพ่น conidial suspension ของ *C. capsici* ปริมาณ 10^6 conidia ต่อมิลลิลิตร และบ่มไว้ในสภาพชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำผลแก้วมังกรมาจุ่มสารเคมี imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm เป็นเวลา 3 นาที ในชุดควบคุมจุ่มผลแก้วมังกรในน้ำเปล่าที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลอง 3 ชุดๆละ 10 ผล จากนั้นทำการบ่มผลแก้วมังกรจนอาการของโรคปรากฏ ตรวจผลการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส

6.3.3 การควบคุมโรคแอนแทรคโนสโดยใช้สารเคมีร่วมกับการใช้น้ำร้อน นำผลแก้วมังกรจากสวนเกษตรกรที่เก็บเกี่ยวมาจากเขต อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร จำนวน 120 ผล แบ่งเป็นการทดลอง 4 ชุดๆละ 30 ผล โดยชุดที่หนึ่งนำมาจุ่มในน้ำร้อนโดยใช้อุณหภูมิที่ดีที่สุดที่สามารถควบคุมโรคได้จากการทดลองข้อ 6.3.1 ชุดที่สองนำมาจุ่มในสารเคมีที่ดีที่สุดจากการทดลองข้อ 6.3.2 ชุดที่สามใช้น้ำร้อนที่ดีที่สุดร่วมกัน ชุดที่สี่จุ่มน้ำเปล่าที่อุณหภูมิห้อง

สำหรับเป็นชุดควบคุม ทำการบ่มผลแก้วมังกรจนอาการของโรคปรากฏ ตรวจสอบผลการเกิดโรคและ
ความรุนแรงของโรคแอนแทรกคโนส

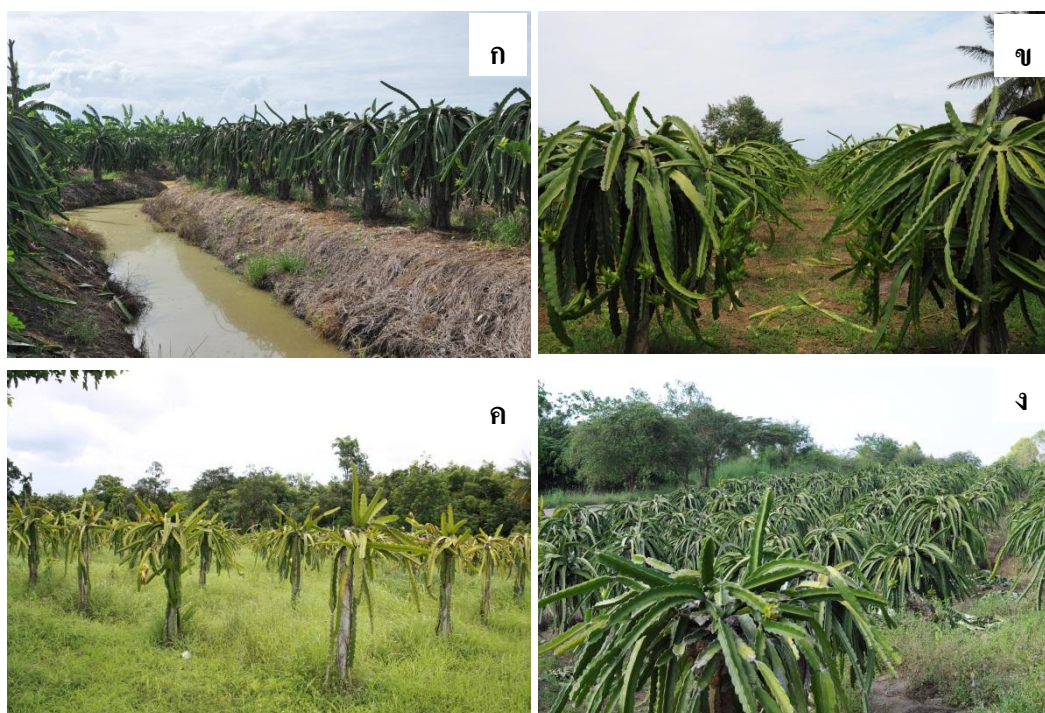
ผลและวิจารณ์

1. ศึกษาการเกิดโรคแอนแทรคโนสและเชื้อสาเหตุของผลแก้วมังกรซึ่งปลูกในพื้นที่ปลูก จังหวัดต่างๆ

การสำรวจโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกร จาก อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร และอ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา พบเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Colletotrichum capsici* พบการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* มากที่สุด คือ 75.0 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ จ.สมุทรสาคร ขณะที่เชื้อรา *C. capsici* ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคมามากที่สุด คือ 55.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอาการของโรคจะปรากฏขึ้นที่บริเวณส่วนปลายผลเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเป็นบริเวณที่พัฒนามาจากฐานรองดอกและบริเวณกลีบผลซึ่งเนื้อเยื่อมีความบอบบางมากกว่าบริเวณอื่นของผล ทั้งนี้พื้นที่สวนแก้วมังกรในเขต อ.บ้านแพ้ว มีลักษณะเป็นร่องสวน (ภาพที่ 1ก) จึงมีความชื้นสูง ทำให้เหมาะกับการดำรงชีวิตและแพร่ระบาดของเชื้อราสาเหตุโรคมมากกว่าสวนใน อ.ปากช่อง อ.ท่าใหม่ ที่ลักษณะสวนเป็นพื้นที่ราบ และ อ.ภูเรือ ที่พื้นที่ปลูกเป็นที่ลาดเอียง (ภาพที่ 1 ข-ง) พรพิมล และ คณะ (2550) ได้ศึกษาการจัดการโรคพืชที่เหมาะสมในการผลิตแก้วมังกรในจังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม ราชบุรี ปทุมธานี ระยอง จันทบุรี สมุทรปราการ นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงรายและกรุงเทพฯ รายงานการพบโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* มีการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 32.5 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 3 แสดงการสำรวจการเกิดโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* และเชื้อรา *C. gloeosporioides*

แหล่งปลูก	<i>C. capsici</i>		<i>C. gloeosporioides</i>	
	การเกิดโรค (เปอร์เซ็นต์)	ความรุนแรง ของโรค (เปอร์เซ็นต์)	การเกิดโรค (เปอร์เซ็นต์)	ความรุนแรง ของโรค (เปอร์เซ็นต์)
อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี	45.0	25.0	41.0	10.0
อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา	59.0	40.0	59.0	12.0
อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร	69.0	55.0	75.0	34.0



ภาพที่ 1 แสดงพื้นที่ปลูกแก้วมังกรในเขตอ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร (ก.) อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา (ข.) อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี (ค) และ อ.ภูเรือ จ.เลย (ง.)

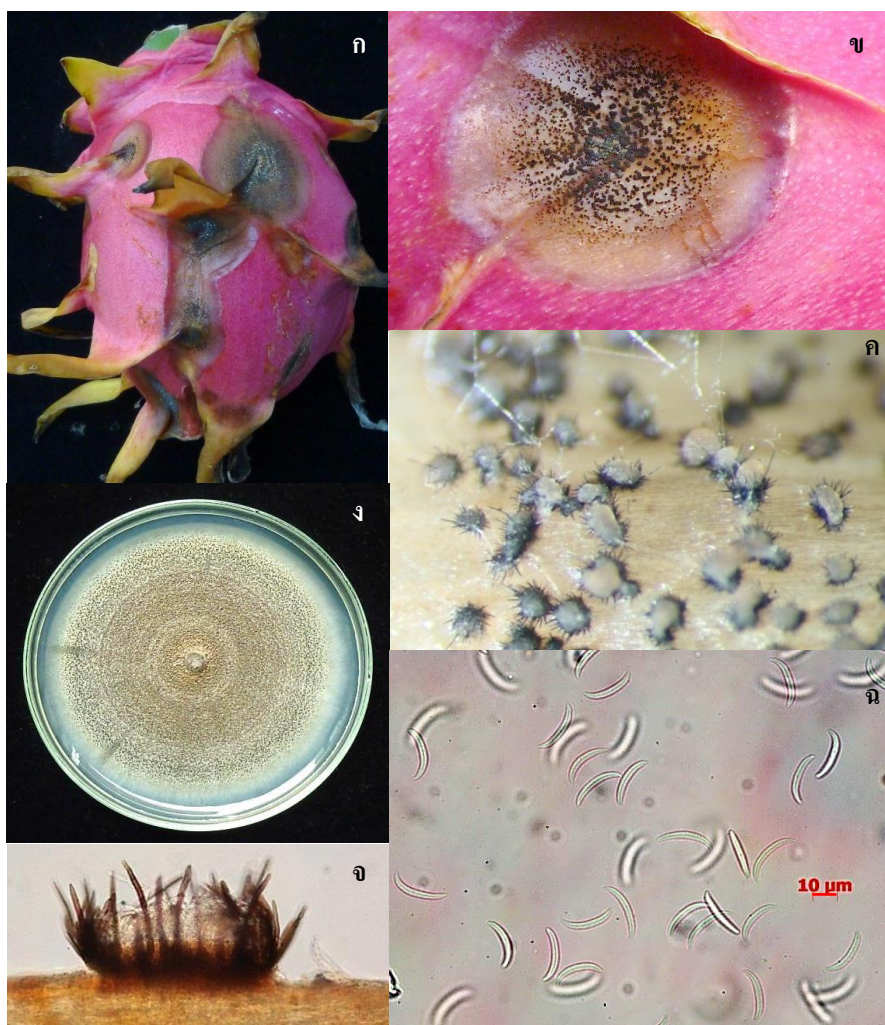
2. การจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของผลแก้วมังกร

2.1 ศึกษาลักษณะของเชื้อสาเหตุโรค

โรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* จะเริ่มเกิดให้เห็นอาการเป็นจุดสีน้ำตาลดำ ในระยะเริ่มแรก ขนาดของแผลจะขยายขนาดใหญ่ขึ้น มีการยุบตัวของเนื้อเยื่อผิวผลบริเวณแผล และสังเกตเห็นส่วนของ acervulus ของเชื้อรา (ภาพที่ 2 ก - ค) เมื่อนำมาตัดเนื้อเยื่อตามขวางแล้วส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า conidia ของเชื้อรา มีรูปร่างแบบเสี้ยว (falcate) ปลายแหลม ไม่มีสี ไม่มีผนังกัน conidia มีขนาด $20.9 - 23.1 \times 2.8 - 3.0$ (เฉลี่ย 22.1×2.9) ไมโครเมตร (ภาพที่ 2 ค) ตามรายงานของ Sutton (1980) conidia ของ *C. capsici* มีขนาด $18.0 - 23.0 \times 3.5 - 4.0$ ไมโครเมตร conidia เกิดอยู่ภายใน acervulus เชื้อรา มีการสร้าง setae สีดำชัดเจน (ภาพที่ 2 จ) เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA โคโลนีมีเส้นใยสีขาวเทาบริเวณผิวอาหาร สร้าง conidia สีส้มและสีดำ เป็นจุดเรียงเป็นวงบนอาหาร (ภาพที่ 2 ง) ได้โคโลนีสีเหลืองและดำ จากการจำแนกลักษณะทาง

หลักฐานวิทยาพบว่าเชื้อรานี้คือ *C. capsici* ตรงกับการรายงานของสำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร (2557) เชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรภายหลังการเก็บเกี่ยว ผู้บริโภคนักสังเกตเห็นอาการของโรคได้ชัดเจนในระหว่างที่ผลิตผลอยู่ในตลาด อาการของโรคที่ปรากฏมีผลต่อปัญหาทางการตลาด เนื่องจากทำให้ผลแก้วมังกรตกเกรด มีอายุการวางจำหน่ายสั้นลงและราคาถูกลง

เชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นอีกหนึ่งสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในผลแก้วมังกร เช่นเดียวกัน การแสดงอาการในระยะเริ่มแรกจะคล้ายกับอาการที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* เมื่อแผลขยายขนาดใหญ่ขึ้นเนื้อเยื่อของแก้วมังกรจะนํ้า เริ่มยุบตัวและเน่าละ (ภาพที่ 3 ก) สังเกตเห็นกลุ่มของ conidia เป็นเมือก conidia ของเชื้อราเป็นสีส้มชัดเจนที่บริเวณแผล (ภาพที่ 3 ข) เมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า conidia ของเชื้อราเป็นรูปร่างแบบทรงกระบอกปลายมน (rod shape) ไม่มีสี ไม่มีผนังกัน conidia มีขนาด $12.7 - 13.0 \times 3.4 - 3.5$ (เฉลี่ย 12.9×3.5) ไมครอน (ภาพที่ 3 ง) ตรงกับรายงานของ Sotton (1980) conidia มีขนาด $9.0 - 24.0 \times 3.0 - 4.5$ ไมครอน เมื่อนำเชื้อราไปเลี้ยงบนอาหาร PDA โคโลนีมีเส้นใยสีขาวเทา เส้นใยฟูเล็กน้อยจากผิวอาหาร (ภาพที่ 3 ค) พบ conidia สีส้มเจริญเป็นวงบนอาหารได้โคโลนีมีสีเหลืองคล้ายฟางข้าว มีจุดสีดำกระจายทั่วอาหาร จากการจำแนกทางลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าเชื้อรานี้คือ *C. gloeosporioides* ตรงกับการรายงานของสำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร (2557)



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะโรคแอนแทรคโนสบนผลแก้วมังกรที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* และลักษณะ

รูปร่าง ของเชื้อรา *C. capsici*

ก. ผลแก้วมังกรที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici*

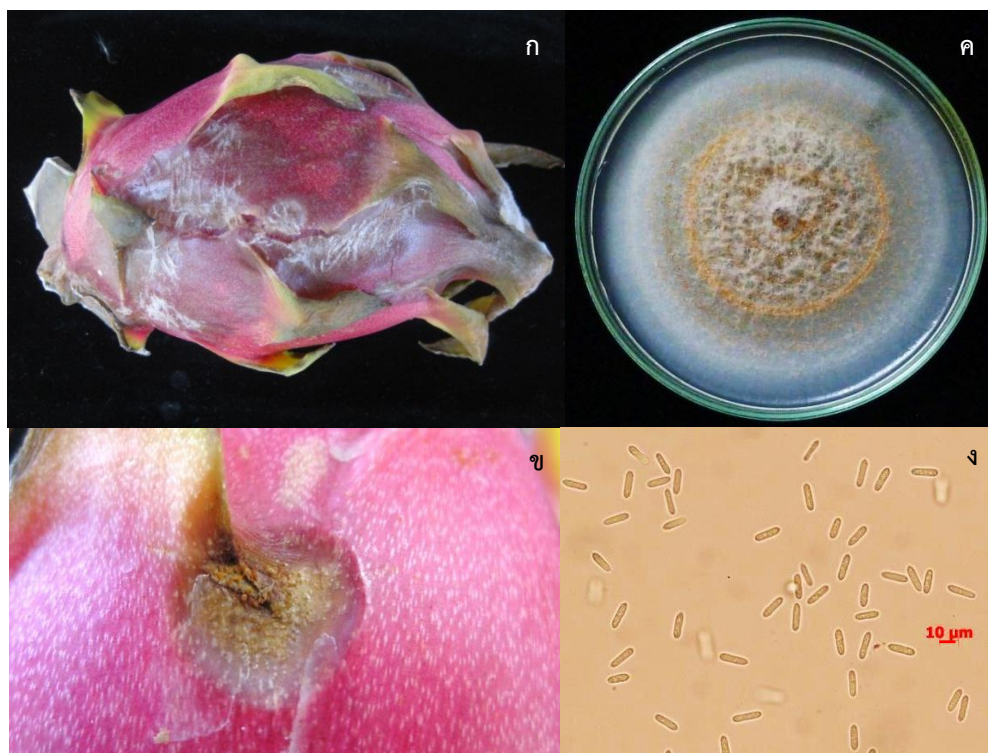
ข. ผลที่เกิดจากโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรที่เชื้อรามีการสร้างกลุ่ม acervuli

ค. ลักษณะของ acervulus บนเนื้อเยื่อแก้วมังกร ภายใต้กล้อง stereo microscope

ง. ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. capsici* บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

จ. ลักษณะของ acervulus บนเนื้อเยื่อแก้วมังกร โดยการตัดเนื้อเยื่อตามขวาง จากกล้อง compound microscope กำลังขยาย 200 เท่า

ฉ. conidia ของเชื้อรา *C. capsici* ภายใต้กล้อง compound microscope กำลังขยาย 200 เท่า

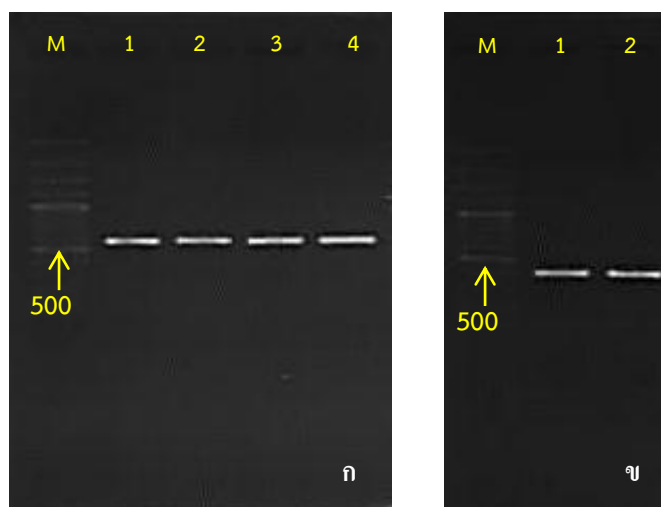


ภาพที่ 3 แสดงลักษณะโรคแอนแทรคโนสบนผลแก้วมังกรที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* และลักษณะรูปร่างของเชื้อรา *C. gloeosporioides*

- ก. ผลแก้วมังกรที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides*
- ข. แผลที่เกิดจากโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรที่เชื้อรามีการสร้าง acervuli
- ค. ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน
- ง. ลักษณะ conidia ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ภายใต้อุปกรณ์ compound microscope กำลังขยาย 200 เท่า

2.2 การจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสโดยวิธีทางชีวโมเลกุล

เมื่อทำการเพิ่มปริมาณ DNA ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกร ที่แยกจากแหล่งปลูก อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร (ไอโซเลต CC_BP และ Cg_BP) อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา (ไอโซเลต CC_PCH) และ อ.ภูเรือ จ.เลย (ไอโซเลต Cg_L) ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ specific primer สำหรับเชื้อรา *C. capsici* กับไอโซเลต CC_PCH และไอโซเลต CC_BP พบว่ามี band เกิดขึ้นที่ขนาด 394 bp (ภาพที่ 4 ข) ซึ่งตรงกับรายงานของ Torres *et al.* (2011) ที่ใช้ specific primer นี้ในการยืนยันเชื้อรา *C. capsici* ออกจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. อื่นๆ รวมถึงเชื้อราต่างชนิดกัน และเมื่อใช้ universal primer ITS1 และ ITS4 เพิ่มปริมาณ DNA ที่บริเวณ conserve regions ของ internal transcribed spacer rRNA gene (ITS1-5.8s-ITS2) พบว่า PCR products ของเชื้อรา *C. capsici* และเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีขนาดประมาณ 490 bp (ภาพที่ 4 ก) เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการวิเคราะห์มาเปรียบเทียบกับในฐานข้อมูลของ GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) พบว่าไอโซเลต CC_PCH และไอโซเลต CC_BP ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นเชื้อรา *C. capsici* มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับเชื้อรา *C. capsici* KM213014.1 100.0 เปอร์เซ็นต์ มากที่สุด รองลงมาคือ *C. truncatum* KJ781343.1 100.0 เปอร์เซ็นต์ และ *C. truncatum* KJ780718.1 100.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่างกับการรายงานของ Guo *et al.* (2014) ที่จำแนกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรในประเทศจีน โดยใช้ยีนส์ที่ตำแหน่งของ ITS และ β -tubulin แล้วพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสที่ผล คือ เชื้อรา *C. truncatum* เช่นเดียวกับ Vijaya *et al.* (2014) ที่ศึกษาโรคแอนแทรคโนสบนลำต้นของแก้วมังกรที่ประเทศมาเลเซีย พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคคือเชื้อรา *C. truncatum* ขณะที่ไอโซเลต Cg_BP มีความเหมือนกับเชื้อรา *C. asianum* KM233240.1 100.0 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลต Cg_L มีความเหมือนกับ *C. gloeosporioides* KM203586.1 100.0 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4 แสดงขนาด PCR product ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรและ marker 100 bp (M)

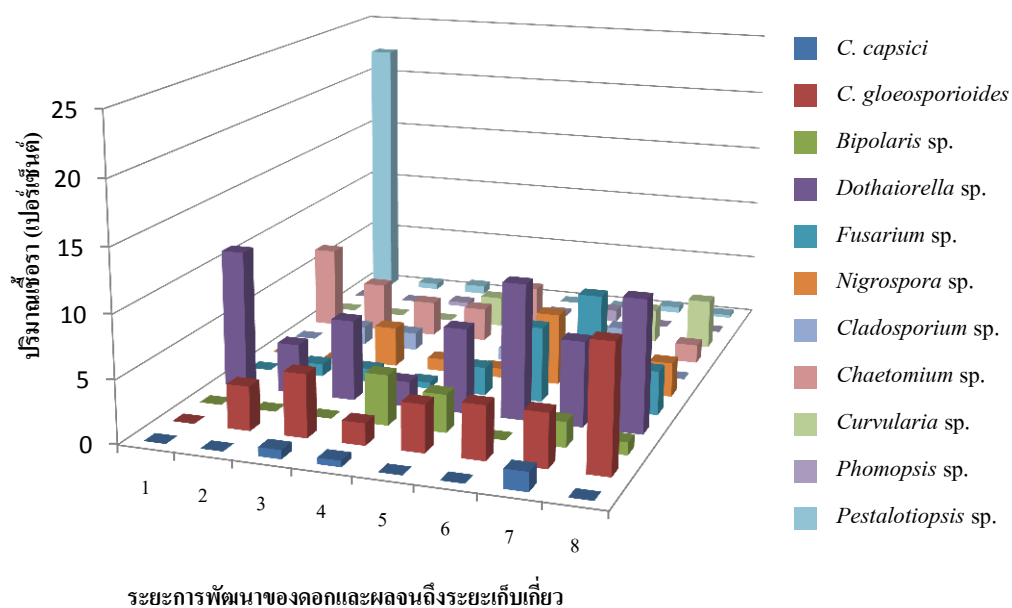
- ก. PCR product ของเชื้อราขนาดประมาณ 490 bp เมื่อใช้ universal primer ITS1 และ ITS4 โดย
- 1 คือ ไอโซเลท CC_PCH
 - 2 คือ ไอโซเลท CC_BP
 - 3 คือ ไอโซเลท Cg_BP
 - 4 คือ ไอโซเลท Cg_L
- ข. PCR product ของเชื้อราขนาดประมาณ 394 bp เมื่อใช้ specific primer CcapF และ CcapR โดย
- 1 คือ ไอโซเลท CC_PCH
 - 2 คือ ไอโซเลท CC_BP

3. ระยะการเข้าทำลายผลของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในแปลงปลูก

การเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* และเชื้อรา *C. gloeosporioides* ตั้งแต่ระยะการพัฒนาคอกผลจนถึงระยะเก็บเกี่ยว รวม 8 ระยะ ในแต่ละระยะมีอายุของผลต่างกัน 1 สัปดาห์ (ภาพที่ 5 ก-ข) ในพื้นที่สวนเกษตรกร อ.ปากช่อง ช่วงเดือนมิถุนายน ถึงสิงหาคม พบการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. capsici* ในระยะที่ 2 3 และ 7 (ภาพที่ 5 ข ค และ ข) โดยพบการเข้าทำลายมากสุดในระยะที่ 7 (ภาพที่ 5 ข) คือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ บริเวณที่พบเชื้อราสาเหตุโรคส่วนใหญ่คือ บริเวณส่วนล่างของผลซึ่งเป็นส่วนที่พัฒนามาจากฐานรองดอกในช่วงระยะที่ 4 (ภาพที่ 5 ง) เมื่อคอกมีการพัฒนาทำให้ส่วนกลีบดอกหลุดไป เนื้อเยื่อพืชบริเวณนี้จะมีรอยแผลง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค ขณะที่เชื้อรา *C. gloeosporioides* มีการเข้าทำลายแก้วมังกรตั้งแต่ระยะที่ 2 จนถึงระยะที่ 8 โดยในระยะที่ 8 พบการเข้าทำลายมากสุด คือ 10.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือระยะที่ 6 คือ 4.8 เปอร์เซ็นต์ และระยะที่ 5 คือ 4.3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำแก้วมังกรตั้งแต่ระยะเริ่มเกิดดอก (ระยะที่ 1) จนถึงระยะก่อนเก็บเกี่ยว (ระยะที่ 8) มาแยกเชื้อสาเหตุยังพบเชื้อรา *Chaetomium* sp. *Fusarium* sp. *Nigrospora* sp. *Cladosporium* sp. *Curvularia* sp. *Phomopsis* sp. *Rhizopus* sp. และ *Pestalotiopsis* sp. ซึ่งเป็นเชื้อราที่ไม่ก่อให้เกิดโรคในแก้วมังกร ขณะที่สุวรรณ (2549) รายงานว่าพบเชื้อรา *Fusarium* sp. และ *Phomopsis* sp. เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าของลองกองได้ นอกจากนี้ยังพบเชื้อรา *Dothiorella* sp. และ *Bipolaris* sp. ซึ่งเป็นสาเหตุโรคผลเน่าของแก้วมังกรพบมากสุดในระยะที่ 1 และระยะที่ 4 คือ 11.1 และ 4.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยเชื้อรา *Chaetomium* sp. และ *Dothiorella* sp. จะพบในทุกระยะการพัฒนาผลของแก้วมังกร (ภาพที่ 6) เชื้อรา *Fusarium* sp. เป็นเชื้อราที่พบที่บริเวณด้านล่างของผลซึ่งเป็นส่วนที่พัฒนามาจากฐานรองดอกมาก่อน เชื้อรา *Rhizopus* sp. พบมากในระยะที่ 4 ซึ่งเป็นระยะดอกบาน ในระยะนี้เนื้อเยื่อของกลีบดอกจะมีความบอบบางง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา Williamson *et al.* (1987) พบเชื้อรา *Botrytis cinerea* เข้าทำลายในระยะดอกของราสเบอร์รี่ พบว่าเชื้อราเข้าทำลายในช่วงระยะที่ดอกบาน มีผลทำให้เกิดโรคผลเน่าได้มากกว่าในระยะที่เป็นดอกตูม ขณะที่การเข้าทำลายของเชื้อรา *B. cinerea* ในผลพริกระยะต่างๆ พบว่าการเข้าทำลายของเชื้อราในระยะก่อนการเก็บเกี่ยวไม่มีผลต่อการเกิดโรคผลเน่าสีเทา (grey mold rot) และพบว่าการเข้าทำลายของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวก่อให้เกิดโรคมามากที่สุด (Thong *et al.*, 2013) สรายุทธ และ คณะ (2555) รายงานการสำรวจโรคผลเน่าของแก้วมังกรภายหลังการเก็บเกี่ยวในจังหวัดสมุทรสาคร นครราชสีมา และ จันทบุรี พบมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *D. dominicana*, *C. gloeosporioides*, *C. capsici* และ *B. cactivora* โดยพบว่า *D. dominicana*, *C. gloeosporioides* สามารถเข้าทำลายตั้งแต่ในระยะเริ่มสร้างดอก



ภาพที่ 5 ระยะการเจริญของผลแก้วมังกรตั้งแต่เริ่มตูมดอกจนถึงระยะก่อนเก็บเกี่ยว
(ระยะที่ 1 – ระยะที่ 8) โดยในแต่ละระยะมีอายุห่างกัน 1 สัปดาห์



ภาพที่ 6 แสดงชนิดและปริมาณของเชื้อรา (เปอร์เซ็นต์) ที่แยกได้จากระยะการพัฒนารของดอกและผลจนถึงระยะเก็บเกี่ยว ระยะที่ 1 – ระยะที่ 8 (ภาพที่ 5 ก-ข) จากสวนเกษตรกร อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

4. ศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อราและการเกิดโรคแอนแทรกโนสบนผลแก้วมังกร

4.1 ระยะเวลาในการเข้าทำลายผลหลังการเก็บเกี่ยว

เมื่อปลูกเชื้อรา *C. capsici* โดยวิธีการพ่น conidia แวนลอย (conidial suspension) ลงบน ผิวแก้วมังกร ภายหลังจากฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอกของแก้วมังกรโดยวิธีการจุ่มน้ำร้อนแล้ว บ่มแก้วมังกรไว้ในสภาพชื้น ในระยะเวลาที่ต่างกัน พบว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง แก้วมังกรเกิดโรคมามากที่สุด คือ 80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือที่เวลา 18 ชั่วโมง เกิดโรค 66.7 เปอร์เซ็นต์ 12 ชั่วโมง เกิดโรค 56.7 เปอร์เซ็นต์ และที่เวลา 6 ชั่วโมง เกิดโรคน้อยที่สุด คือ 36 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าที่เวลา 6 12 และ 18 ชั่วโมง มีการเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 แสดงการเกิดโรคแอนแทรกโนสของแก้วมังกร ภายหลังจากปลูกเชื้อรา *C. capsici* และบ่มไว้ในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง

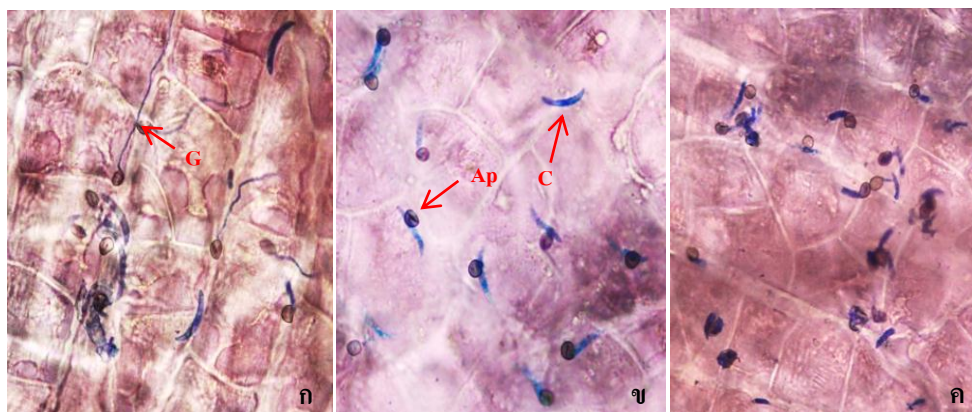
ระยะเวลาที่บ่ม (ชั่วโมง)	การเกิดโรค (เปอร์เซ็นต์) ^{1/}
0	0.0a
6	36.7b
12	56.7bc
18	66.7bc
24	80.0d

-^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งมีตัวอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีวิเคราะห์ Duncan's New Multiple Range Test

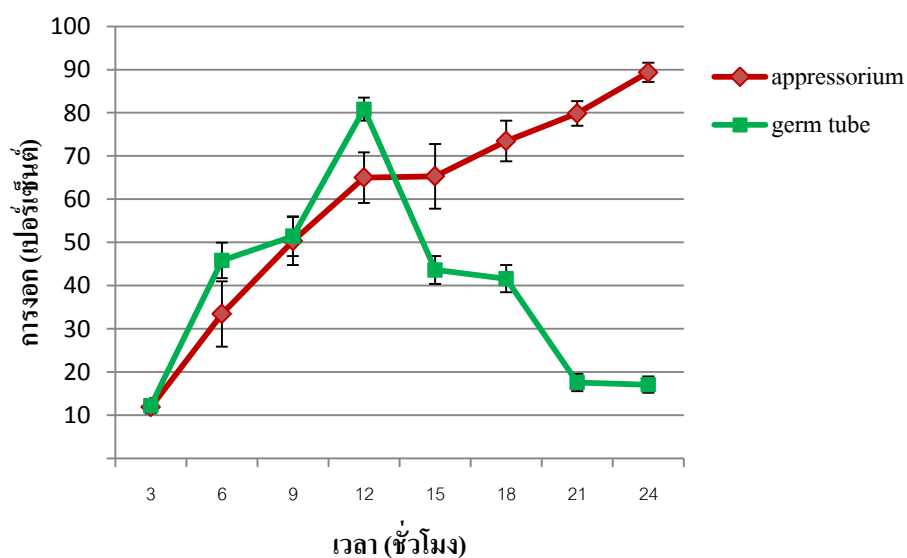
4.2 การเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสหลังการเก็บเกี่ยว

4.2.1 การงอกของ conidia เชื้อรา *C. capsici* บนผลแก้วมังกร

การปลูกเชื้อ *C. capsici* ลงผลผิวผลแก้วมังกรโดยใช้ conidia แวนลอย พบว่า conidia ของเชื้อรา *C. capsici* ที่มีรูปร่างแบบเสี้ยวพระจันทร์ (falcate) จะสร้าง germ tube สีใส มีทั้งขนาดสั้นและยาว แต่ส่วนใหญ่พบขนาดสั้น โดย germ tube งอกออกมาจาก conidia ได้ทั้งบริเวณหัวท้าย หรือส่วนด้านข้างของสปอร์ และสร้าง appressorium มีสีน้ำตาลเข้ม conidia ของเชื้อรา *C. capsici* เริ่มสร้าง germ tube และ appressorium ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 ภายหลังการปลูกเชื้อ (ภาพที่ 7 ก) พบการสร้าง germ tube สูงสุดในชั่วโมงที่ 12 คือ 55.8 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 7 ข) หลังจากนั้นอัตราการสร้างจะลดน้อยลง (ภาพที่ 8) และการสร้าง appressoria จะมีอัตราการสร้างที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 คือ 89.4 เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 24 พบมีการสลายตัวของ conidia (ภาพที่ 7 ค) การทดลองของรัตตา (2542) รายงานลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. capsici* บนผลพริก พบว่า conidia เริ่มงอกที่ 12 ชั่วโมง และสร้าง germ tube และ appressorium ภายใน 24 ชั่วโมง ขณะที่ Manandhar *et al.* (1985) พบว่าเมื่อปลูกเชื้อรา *C. truncatum* ลงบนผิวใบของต้นถั่วเหลืองไปแล้ว 4 ชั่วโมง conidia จะงอก germ tube และ appressoria ถึง 70.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เชื้อรา *Glomerella glycines* ascospore จะเริ่มงอก germ tube และสร้าง appressorium 25.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ 6 ชั่วโมง และ 40.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ 12 ชั่วโมง ภายหลังจากปลูกเชื้อ



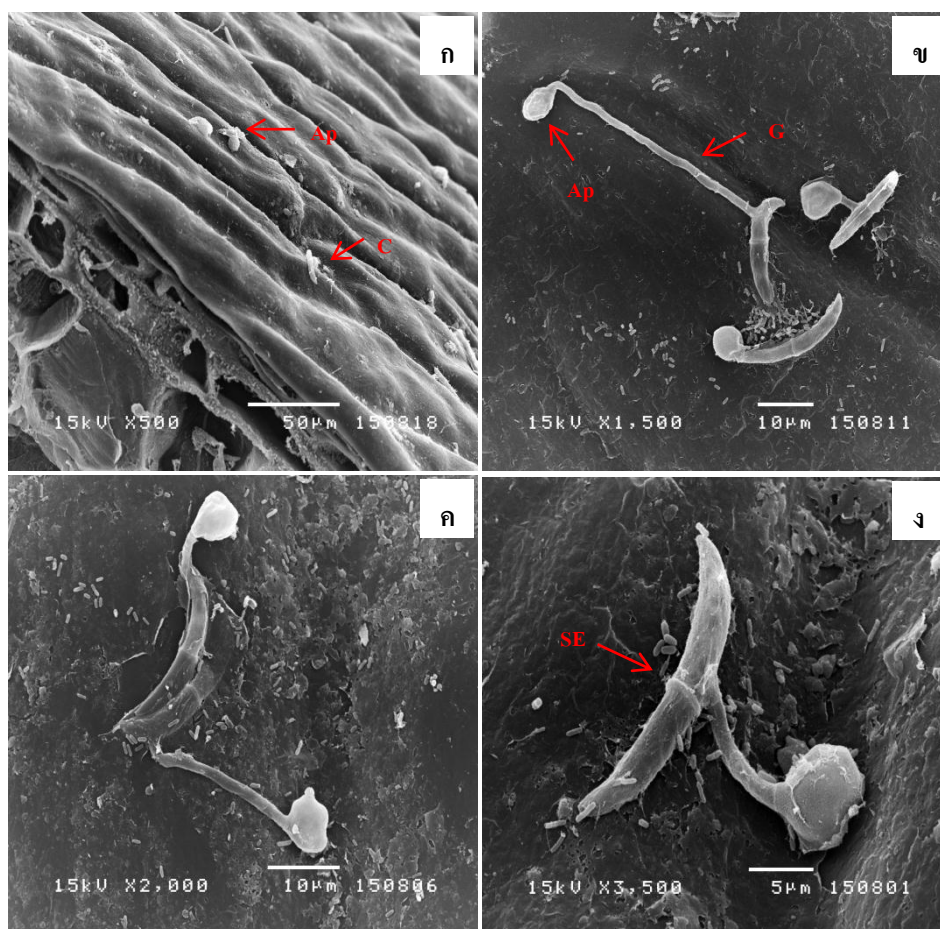
ภาพที่ 7 การงอกของ conidia เชื้อรา *C. capsici* บนผิวของผลแก้วมังกร ภายหลังจากปลูกเชื้อแล้ว เก็บไว้ในสภาพชื้นเป็นระยะเวลา 6 12 และ 24 ชั่วโมง (ก-ค ตามลำดับ) โดย G (germ tube) Ap (appressoria) และ C (conidia)



ภาพที่ 8 การงอกของ germ tube และการสร้าง appressoria ของเชื้อรา *C. capsici* ที่ผิวของผลแก้วมังกรภายหลังการปลูกเชื้อแล้วที่ 3 6 9 12 18 21 และ 24 ชั่วโมง

4.2.2 ศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อราบนเนื้อเยื่อของผลแก้วมังกร โดย SEM

ลักษณะผิวของผลแก้วมังกรจะมีลักษณะขรุขระ เป็นร่อง ไม่มีขน (ภาพที่ 9 ก) พบปากใบกระจายตัวอยู่ทั่วไป conidia ของเชื้อรา *C. capsici* สร้าง germ tube ที่มีทั้งยาวและสั้น (ภาพที่ 9 ข) ที่บริเวณร่องผลเป็นส่วนใหญ่ เมื่อเริ่มมีการสร้าง appressorium แล้ว จะมีการสร้างผนังกันเซลล์ (septum) ที่ส่วนกลางของ conidia (ภาพที่ 9 ง) จากนั้นสปอร์จะเริ่มสลายตัวไป (ภาพที่ 9 ค) ในบริเวณรอบๆ ของ appressorium ที่เข้าทำลายได้สำเร็จ พบว่าเนื้อเยื่อที่ผิวของผลแก้วมังกรนั้นเริ่มถูกทำลาย ซึ่งอาจเป็นผลมาจากเอนไซม์ของเชื้อราที่ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อทำลายเนื้อเยื่อพืช และการเสื่อมสลายของ cell มีการรายงานของ Pring *et al.* (1995) พบว่า conidia ของเชื้อรา *C. capsici* บน hypocotyls ของ cowpea เมื่อเริ่มมีการงอก จะมีการสร้างผนังกัน (septum) ตามแนวขวางที่ส่วนกลางของ conidia และเมื่อเริ่มมีการยึดติดกับผิวพืชจะมีการสร้างสารบางอย่างระหว่าง appressoria และผิวหนังของพืช



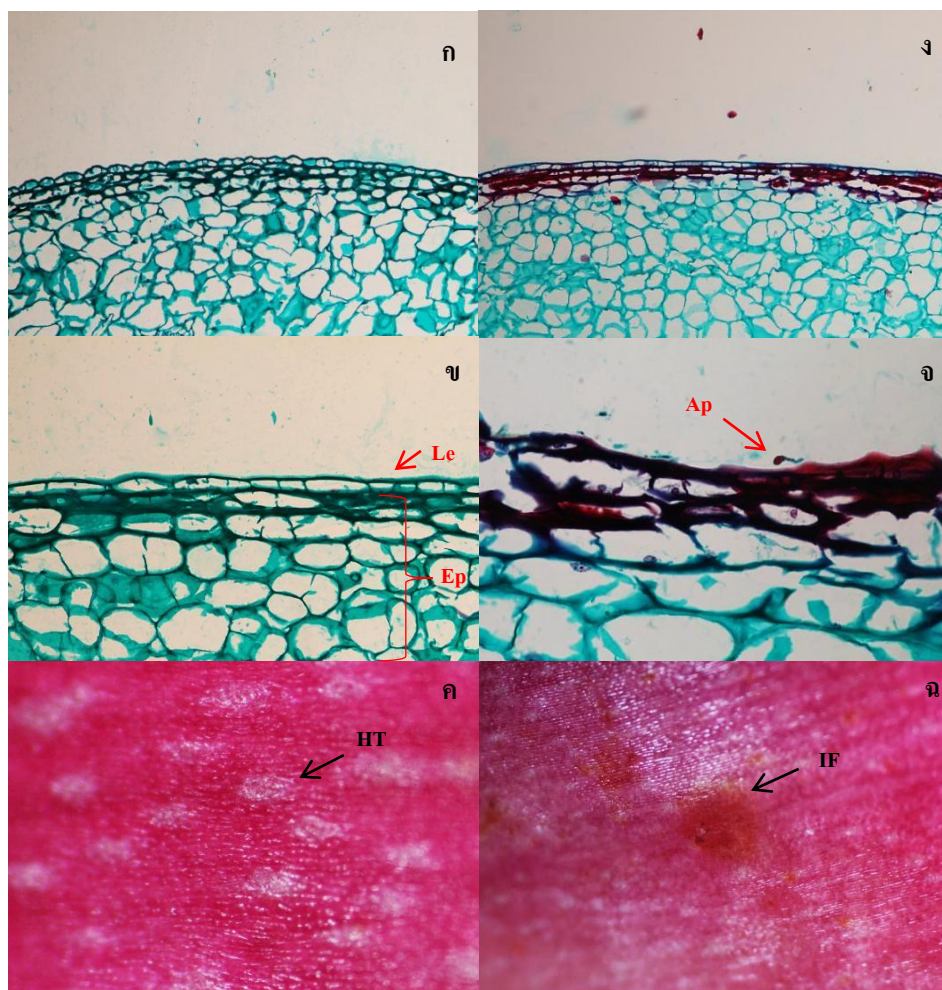
ภาพที่ 9 ภาพถ่ายด้วยกล้อง scanning electron microscope (SEM) conidia ของเชื้อรา *C. capsici* บนผิวแก้วมังกร ภายหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 12 ชั่วโมง C (conidia), Ap (appressorium), G (germ tube), SE (septate)

- ก. conidia ของเชื้อรา *C. capsici* บนผิวผลแก้วมังกร
- ข. conidia ของเชื้อรา *C. capsici* ที่มีการสร้าง germ tube ที่มีทั้งขนาดสั้น และยาว
- ค. conidia ของเชื้อรา *C. capsici* ที่เริ่มมีการสลายตัว ภายหลังจากมีการเข้าทำลาย
- ง. conidia ของเชื้อรา *C. capsici* ที่มีการสร้าง septate อยู่ตรงกลาง conidial

4.2.3 การศึกษาโครงสร้างของเซลล์พืชและเชื้อสาเหตุโรคบนผิวแก้วมังกร

โดยการทำให้ paraffin section

จากการที่นำผิวของผลแก้วมังกรบริเวณด้านที่ปลูกเชื้อด้วย conidia แววนลอยของเชื้อรา *C. capsici* ที่มีความเข้มข้น 10^8 conidia ต่อ มิลลิลิตร แล้วบ่มขึ้นไว้เป็นเวลา 2 วัน มาตัดเนื้อเยื่อ โดยวิธี paraffin section โดยใช้เนื้อเยื่อที่ผิวหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 2 วัน 4 วัน (เนื้อเยื่อมีจุดสีน้ำตาล) และเนื้อเยื่อที่แสดงอาการของโรค เมื่อย้อมสีด้วย safranin O และ fast green พบว่าส่วนของเนื้อเยื่อพืชที่เป็น cytoplasm และ โครงสร้างปฐมภูมิ cell wall ของพืช เช่น cellulose และ pectin จะติดสีเขียวของ fast green (ภาพที่ 10 ก และ ข) ขณะที่เชื้อราที่ผนังเซลล์ประกอบด้วยสารจำพวก chitin lignin ส่วนของเซลล์พืช เช่น nuclei plastids และเนื้อเยื่อพืชที่มีเชื้อราเข้าทำลายจะติดสีแดงของ safranin O (Neergaard, 1997) การการศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. capsici* ในวันที่ 2 หลังจากการปลูกเชื้อ พบว่าเนื้อเยื่อผิวพืชส่วนบน หรือ epidermis เริ่มมีการติดสีแดง (ภาพที่ 10 ง) เนื้อเยื่อพืชบางตำแหน่งมีการฉีกขาด และพบ appressorium ของเชื้อราติดอยู่ที่ผิวพืช (ภาพที่ 10 จ) ซึ่งเป็นไปได้ว่าในส่วนของเนื้อเยื่อพืชที่ติดสีแดงมีส่วนของเชื้ออยู่ ตรงกับรายงานของรัตตา (2542) ซึ่งพบว่าภายหลังจากการปลูกเชื้อรา *C. capsici* บนผลพริกแล้ว conidia จะสร้าง appressorium แล้วเริ่มสร้างเส้นใยเล็กๆ (infection hyphae) แทะผ่านชั้น cuticle ลงมาได้เพียงเล็กน้อย ในวันที่ 4 ส่วนของเนื้อเยื่อพืชที่ติดสีแดงเริ่มขยายบริเวณลงลึกจากผิวมากขึ้น เริ่มเห็นเส้นใยของเชื้อราภายในเนื้อเยื่อพืชที่ส่วนใกล้ผิวพืชเริ่มมีการรวมตัวของเส้นใยเพื่อสร้าง acervulus อย่างชัดเจน (ภาพที่ 11 ก-ค) ในเนื้อเยื่อที่เป็นโรคเห็นกลุ่มของ acervuli มี conidiophore ของเชื้อราอยู่ภายใน ที่เนื้อเยื่อพืชพบเส้นใยของเชื้อราติดสีแดงกระจายอยู่ทั่ว (ภาพที่ 11 ง, จ) สอดคล้องกับการศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในเนื้อเยื่อผลฝรั่งของ Moraes *et al.* (2013) พบว่าเชื้อรามีการเข้าทำลายโดยตรงผ่าน penetration peg ในชั่วโมงที่ 48 และมีการเข้าทำลาย vesicle ภายใน epidermal cell ในชั่วโมงที่ 96 (4 วัน) ขณะที่สังเกตเห็นโครงสร้างของเชื้อราที่เข้าไปแทรกอยู่ตามส่วนของ epidermal และ parenchyma cell ของพืชเมื่อผ่านไป 120 ชั่วโมง (วันที่ 5)



ภาพที่ 10 แสดงลักษณะเนื้อเยื่อแก้วมังกรปกติ และ เนื้อเยื่อที่มีการเจริญของเชื้อรา *C. capsici*

ภายหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 2 วัน โดยวิธี paraffin section

ก. เนื้อเยื่อแก้วมังกรปกติภายใต้กล้อง compound microscope กำลังขยาย 100 เท่า

ข. เนื้อเยื่อแก้วมังกรปกติภายใต้กล้อง compound microscope กำลังขยาย 400 เท่า

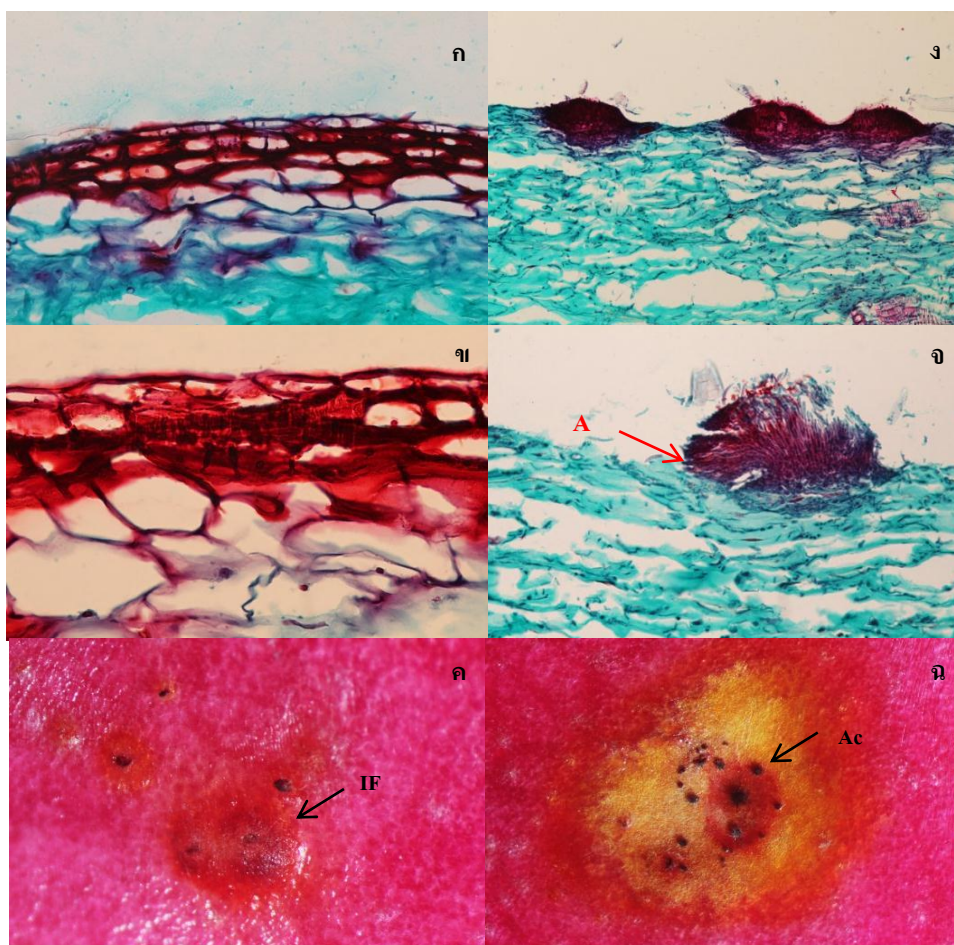
Le (Lenticle), Ep (Epidermis)

ค. เนื้อเยื่อแก้วมังกรปกติภายใต้กล้อง stereo microscope , HT (healthy tissue)

ง. เนื้อเยื่อแก้วมังกรหลังปลูกเชื้อ 48 ชั่วโมง (2 วัน) ภายใต้อุปกรณ์กล้อง compound microscope กำลังขยาย 100 เท่า

จ. เนื้อเยื่อแก้วมังกรหลังปลูกเชื้อ 48 ชั่วโมง (2 วัน) ภายใต้อุปกรณ์กล้อง compound microscope กำลังขยาย 400 เท่า Ap (appressoria)

ฉ. เนื้อเยื่อแก้วมังกรหลังปลูกเชื้อ 48 ชั่วโมง (2 วัน) ภายใต้อุปกรณ์กล้อง stereo microscope IF (infection tissue)



ภาพที่ 11 แสดงลักษณะการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* บนเนื้อเยื่อผิวของผลแก้วมังกร ภายหลังจากปลูกเชื้อไปแล้ว 4 วัน และแก้วมังกรที่แสดงอาการของโรคโดยวิธี paraffin section

ก. เนื้อเยื่อแก้วมังกรหลังปลูกเชื้อ 96 ชั่วโมง (4 วัน) ภายใต้อุปกรณ์ compound microscope กำลังขยาย 100 เท่า

ข. เนื้อเยื่อแก้วมังกรหลังปลูกเชื้อ 96 ชั่วโมง (4 วัน) ภายใต้อุปกรณ์ compound microscope กำลังขยาย 400 เท่า

ค. เนื้อเยื่อแก้วมังกรหลังปลูกเชื้อ 96 ชั่วโมง (4 วัน) ภายใต้อุปกรณ์ stereo microscope

IF = infected tissue

ง. เนื้อเยื่อแก้วมังกรที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส ภายใต้อุปกรณ์ compound microscope กำลังขยาย 100 เท่า

จ. เนื้อเยื่อแก้วมังกรที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส ภายใต้อุปกรณ์ compound microscope กำลังขยาย 400 เท่า

ฉ. เนื้อเยื่อแก้วมังกรที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสและสร้าง acervuli ภายใต้อุปกรณ์ stereo microscope Ac (Acervuli)

4.2.4 การเข้าทำลายของเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรบนผลพริก

จากการจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรโดยวิธีทางชีวโมเลกุล พบว่าเป็นเชื้อรา *C. capsici* (ในการทดลองที่ 2.2) และเมื่อทำการทดสอบการเกิดโรคบนผลพริกระยะสุกแก่ของเชื้อรา *C. capsici* ที่แยกได้จากแก้วมังกร พบว่าเชื้อราสามารถก่อให้เกิดโรคกับผลพริกบนต้นที่ปลูกเชื้อด้วยวิธีทำแผล (ภาพที่ 12 ก) และไม่ทำแผลได้ (ภาพที่ 12 ข) โดยบนผลพริกที่ทำแผลอาการของโรคจะแสดงออกภายหลังจากการปลูกเชื้อและบ่มในสภาพชื้นไว้ 2 วัน ขณะที่ผลพริกที่ไม่ทำแผล อาการของโรคจะแสดงช้ากว่า โดยอาการของโรคแสดงให้เห็นชัดเจนในวันที่ 3-4



ภาพที่ 12 แสดงการเกิดโรคของผลพริกเมื่อทำการปลูกเชื้อ *C. capsici* ที่แยกได้จากโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกร ด้วยวิธีการทำแผล (ก.) และไม่ทำแผล (ข.)

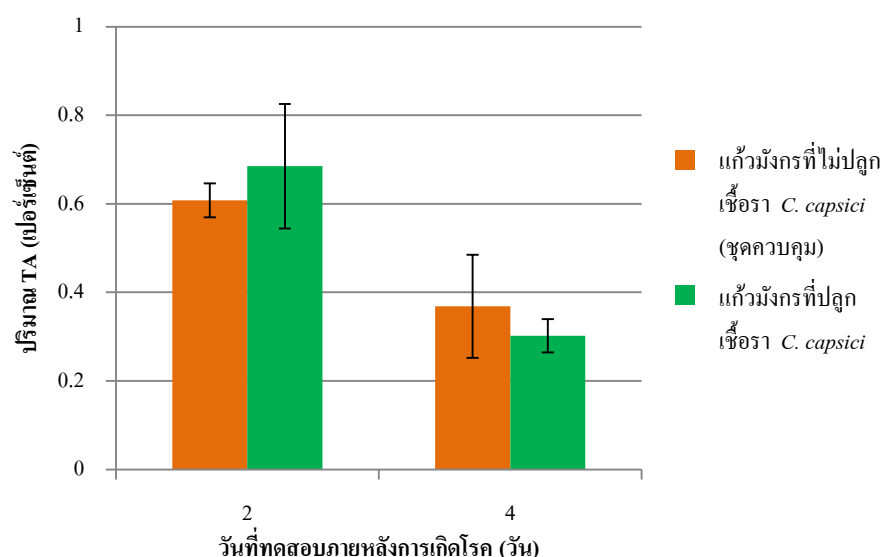
5. การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางคุณภาพของผลแก้วมังกรภายหลังการการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส



ภาพที่ 13 แสดงการเกิดโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรที่บริเวณผิว และบริเวณเนื้อด้านใน
 ภายหลังจากทำการปลูกเชื้อ *C. capsici* ด้วยวิธีการพ่นด้วย conidia แวนลอยแล้วอาการ
 ของโรคแสดงในวันที่ 2 (ก, ข) และวันที่ 4 (ค, ง)

5.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (titratable acidity, TA) ในผล

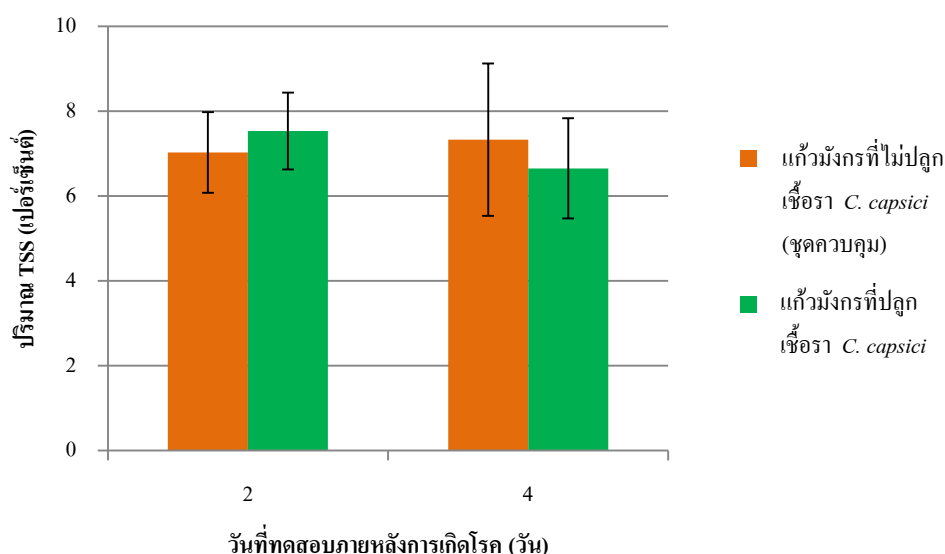
หลังจากปลูกเชื้อรา *C. capsici* บนผลแก้วมังกร พบว่าปริมาณกรดซิตริกลดลงเมื่อจากวันที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์ TA เท่ากับ 0.7 เปอร์เซ็นต์ เหลือ 0.3 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 4 ซึ่งมีความใกล้เคียงกันกับผลแก้วมังกรที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *C. capsici* (ภาพที่ 14) จากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน โดยปกติในระยะที่ผลไม้สุกจะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ลดลงเนื่องมาจากการถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหายใจ (Ulrich, 1970) ในการทดลองเพื่อศึกษาดัชนีคุณภาพของแก้วมังกรของ ภวีณา และ คณะ (2554) พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ซึ่งวัดในรูปของกรดซิตริก มีค่าลดลงเรื่อยๆ โดยปริมาณกรดที่ไทเทรตได้มีค่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ในวันแรก และมีค่า 0.2 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10



ภาพที่ 14 แสดงค่า titratable acidity, TA (เปอร์เซ็นต์) ของแก้วมังกรภายหลังการปรากฏอาการของโรคแอนแทรคโนสแล้ว 2 และ 4 วัน

5.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS)

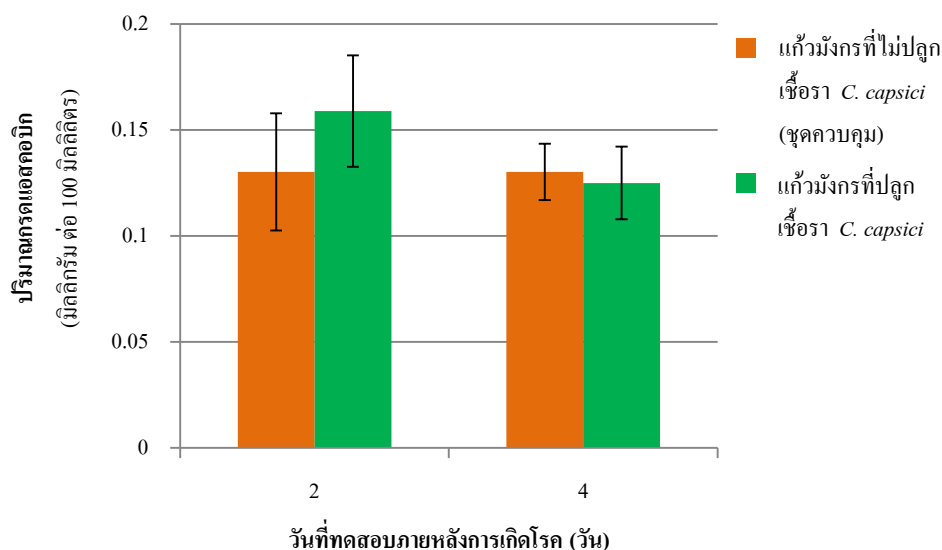
จากการศึกษาคุณภาพของผลแก้วมังกร โดยวัดปริมาณ TSS ของเนื้อแก้วมังกรที่ระดับความลึก 0.5 เซนติเมตร จากผิวบริเวณที่แสดงอาการของโรค พบว่าในวันที่ 2 ปริมาณ TSS ของแก้วมังกรชุดควบคุมและชุดที่เป็นโรคมียค่า SS ไม่ต่างกันมาก แก้วมังกรชุดเป็นโรคมียค่ามากกว่า 0.3 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ในวันที่ 4 ปริมาณ TSS มีค่าแตกต่างกัน โดยแก้วมังกรชุดที่เป็นโรคมียค่าต่ำกว่า 0.9 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 15) สอดคล้องกับการรายงานของ Pesis *et al.* (2012) ว่าปริมาณ TSS ในผลกีวี่เมื่อมีการเข้าทำลายของเชื้อรา *Botrytis cinerea* มีปริมาณ TSS ลดลงมากกว่าผลกีวี่ในชุดควบคุม โดยทั่วไปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของแก้วมังกรจะค่อยๆเพิ่มขึ้น เนื่องจากการสะสมของน้ำตาลชนิดต่างๆ รวมทั้งเมื่ออยู่ในระยะการเก็บรักษาผลผลิตจะมีการสูญเสียน้ำเนื่องจากกระบวนการหายใจ ทำให้ปริมาณ TSS มีความเข้มข้นมากขึ้น (Whiting, 1970)



ภาพที่ 15 แสดงค่า total soluble solid ,TSS (เปอร์เซ็นต์) ของผลแก้วมังกรภายหลังจากปรากฏอาการของโรคแอนแทรคโนสแล้ว 2 และ 4 วัน

5.3 ปริมาณกรดแอสคอร์บิก

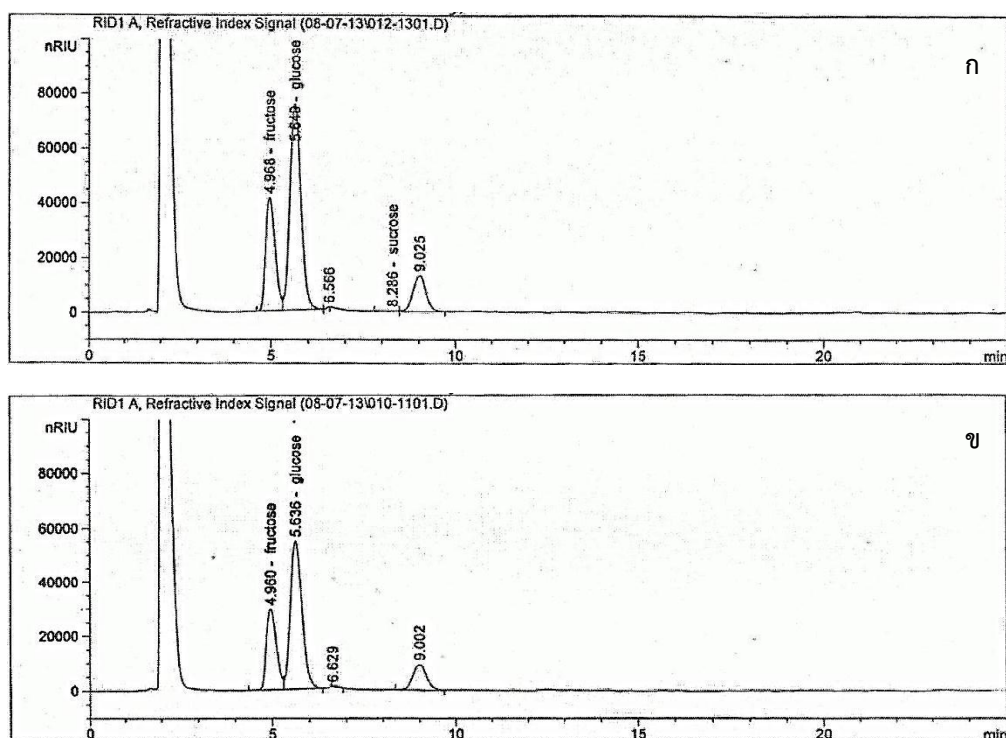
หลังจากการเกิดโรค 2 วัน เมื่อวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีของเนื้อแก้วมังกรบริเวณใต้ผิวเปลือกที่แสดงอาการของโรค พบว่าปริมาณวิตามินซี 0.2 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมที่มีวิตามินซี 0.1 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร แต่ในวันที่ 4 ของการเกิดโรค ปริมาณวิตามินซีในการทดลองชุดที่เป็นโรคมักลดลงมาเท่ากับชุดควบคุม คือ 0.1 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร (ภาพที่ 16) สอดคล้องกับการรายงานของ Liu *et al.*(2005) ที่ตรวจปริมาณกรดแอสคอร์บิกในผลพืชที่เกิดโรค ที่เกิดจากเชื้อรา *Penicillium expansum* พบว่าปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลงอย่างต่อเนื่อง ภายหลังจากปลูกเชื้อราแล้วเก็บรักษาไว้ 15 วัน โดยกรดแอสคอร์บิกลดลงจาก 58 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักสด เหลือ 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักสด เช่นเดียวกับการเข้าทำลายของเชื้อรา *Botrytis cinerea* ที่เข้าทำลายใบของ *Arabidopsis thaliana* พบว่าระดับของกรดแอสคอร์บิกลดลงมากในทางเดียวกันกับที่ปริมาณอนุมูลอิสระ (free radical) เพิ่มขึ้นในปริมาณมาก (Muckenschnabel, 2001)



ภาพที่ 16 แสดงปริมาณกรดแอสคอร์บิกของผลแก้วมังกรที่ปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อ ภายหลังจากปรากฏอาการของโรคแอนแทรคโนสแล้ว 2 และ 4 วัน

5.4 ปริมาณและชนิดของน้ำตาลในผลแก้วมังกร

การวิเคราะห์น้ำตาลในผลแก้วมังกรโดยดูจากลักษณะโครมาโตแกรมด้วยวิธี HPLC พบว่ามีน้ำตาลหลัก คือ กลูโคส ที่ retention time, RT 5.649 และ 5.636 นาที และฟรุ็กโตส (ที่ RT 4.968 และ 4.960 นาที (ภาพที่ 17 ก,ข) ในแก้วมังกรชุดควบคุมพบปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) 9.1 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร น้ำตาลฟรุ็กโตส 3.0 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร และน้ำตาลกลูโคส 6.1 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร (ภาพที่ 17 ก) แก้วมังกรที่เป็นโรคพบปริมาณน้ำตาลน้อยกว่า คือ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) 8.6 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร น้ำตาลฟรุ็กโตส 2.8 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร และน้ำตาลกลูโคส 5.8 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร (ภาพที่ 17 ข) โดยการทดลองทั้งสองชุดไม่พบน้ำตาลซูโครส ซึ่งตรงกับรายงานของ พิมพร (2549) ที่กล่าวว่าปริมาณน้ำตาลในผล แก้วมังกรเนื้อสีขาวที่มีน้ำตาลกลูโคสมากกว่าน้ำตาลฟรุ็กโตส แต่ไม่พบน้ำตาลซูโครส มีการตรวจปริมาณ sugar content ในผลกวีที่แสดงอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *B. cinerea* พบว่าระดับน้ำตาลกลูโคสลดลง ขณะที่ระดับของน้ำตาลฟรุ็กโตสไม่เปลี่ยนแปลง (Pesis, 2012)



ภาพที่ 17 ลักษณะของโครมาโตแกรมของน้ำตาลแต่ละชนิดในแก้วมังกรปกติและแก้วมังกรที่เป็นโรคแอนแทรกโนส ที่วิเคราะห์โดย HPLC

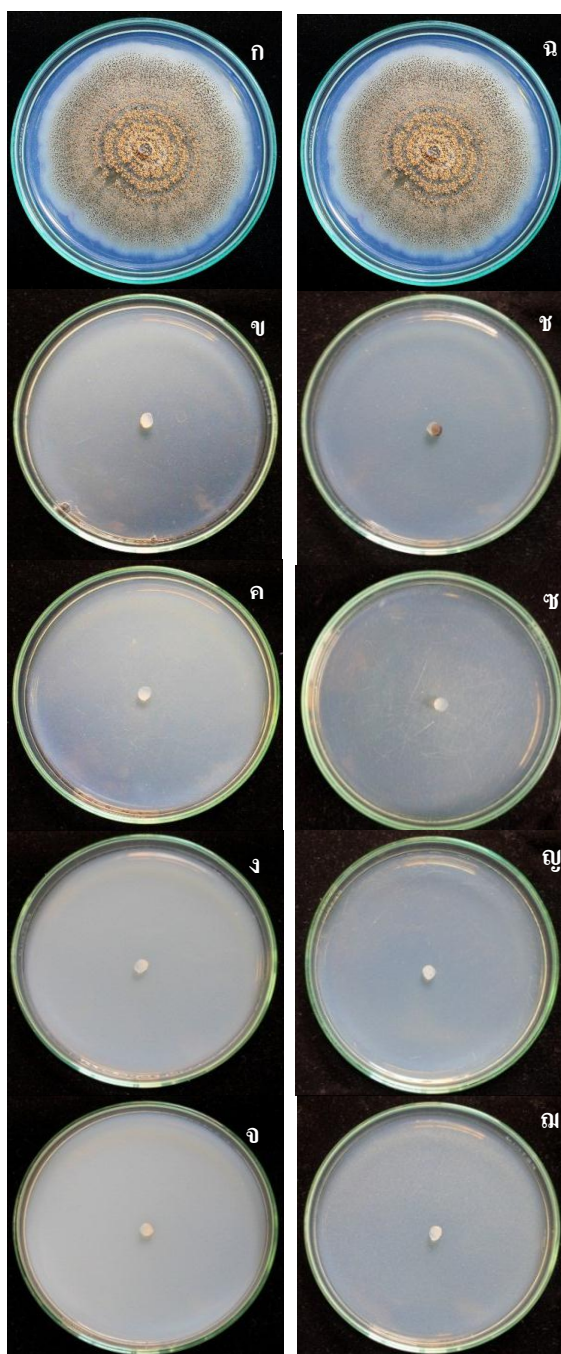
ก. โครมาโตแกรมของน้ำตาลในแก้วมังกรปกติ

ข. โครมาโตแกรมของน้ำตาลในแก้วมังกรที่เป็นโรคแอนแทรกโนส

6. การควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของแก้วมังกร

6.1 การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* ภายในห้องปฏิบัติการ

ในการทดลองโดยใช้วิธี poisoned food technique ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี prochloraz และ imazalil ที่ความเข้มข้น 0 125 250 500 และ 1,000 ppm พบว่าสารเคมีทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. capsici* ได้ 100.0 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 18 ลักษณะการเจริญของโคโลนีของเชื้อรา *C. capsici* บนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมี

prochloraz และ imazalil ที่ความเข้มข้น 0 125 250 500 และ 1,000 ppm

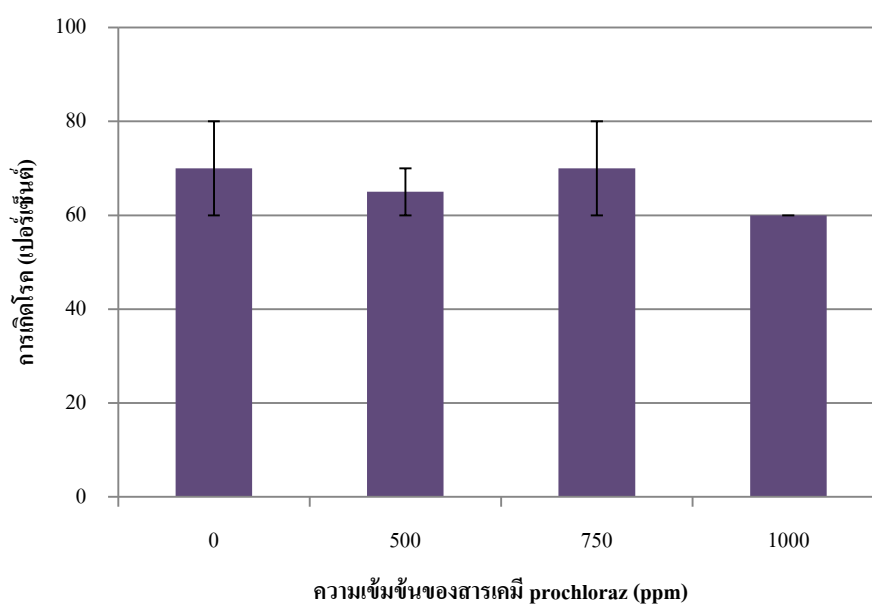
ก. และ ง. PDA ที่ผสมน้ำเปล่า เป็นชุดควบคุม (control)

ข. ค. ง. จ. PDA ที่ผสมสารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 125 250 500 และ 1,000 ppm

ช. ซ. ญ. ณ. PDA ที่ผสมสารเคมี imazalil ความเข้มข้น 125 250 500 และ 1,000 ppm

6.2 การควบคุมโรคแอนแทรกโนสในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว

ผลการทดสอบการใช้สารเคมีควบคุมโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* ก่อนการเก็บเกี่ยว โดยใช้สารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 500 750 1,000 ppm และน้ำเปล่าในชุดควบคุม (control) พบว่าไม่สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรกโนสได้ โดยมีการเกิดโรคใกล้เคียงกันในทุกชุดการทดลอง คือ 60.0 – 70.0 เปอร์เซ็นต์ โดยในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 19) ขณะที่การทดลองของศรายุทธ และ คณะ (2555) รายงานการพ่นสารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 400 ppm ก่อนการเก็บเกี่ยว 10 วัน สามารถลดโรคผลเน่าของแก้วมังกรที่เกิดจากเชื้อ *Dothiorella dominicana* ได้เล็กน้อย Madani *et al.* (2014) รายงานการใช้แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ที่ความเข้มข้น 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของผลมะละกอก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่าสามารถลดความรุนแรงของโรคแอนแทรกโนสได้ในระหว่างที่เก็บรักษาผลมะละกอ



ภาพที่ 19 แสดงการเกิดโรคแอนแทรกโนส (เปอร์เซ็นต์) ของแก้วมังกรภายหลังการเก็บเกี่ยว เมื่อทำการพ่นสารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 0 500 750 และ 1,000 ppm ในระยะก่อนเก็บเกี่ยว 10 วัน

6.3 การควบคุมโรคแอนแทรกโสนในระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยว

6.3.1 การการควบคุมโรคแอนแทรกโสนของผลแก้วมังกรที่มีเชื้อติดมาตามธรรมชาติ ที่เก็บเกี่ยวมาจากเขต อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา โดยใช้วิธีทางกายภาพ คือ การจุ่มผลแก้วมังกร ในน้ำร้อน ที่อุณหภูมิ 51 53 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ที่ใช้น้ำเปล่าที่อุณหภูมิห้อง พบว่าน้ำร้อนไม่สามารถควบคุมโรคแอนแทรกโสนที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติได้อย่างสมบูรณ์ แต่สามารถลดการเกิดโรคได้ การใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส สามารถลดการเกิดโรคได้ดีที่สุด คือพบการเกิดโรคที่ 16.7 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่อุณหภูมิ 51 และ 55 องศาเซลเซียส พบการเกิดโรคเท่ากัน คือ 30.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบการเกิดโรค 53.3 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 20) โดยทุกชุดการทดลองพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการทดลองชุดควบคุม (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 การเกิดโรค (เปอร์เซ็นต์) แอนแทรกโสนของแก้วมังกรที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ภายหลังจากใช้วิธีการควบคุมโรคโดยวิธีการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 51 53 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จุ่มน้ำเปล่าที่อุณหภูมิห้องเป็นชุดควบคุม

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	การเกิดโรค (เปอร์เซ็นต์) ^{1/}
25	53.3b
51	30.0a
53	16.7a
55	30.0a

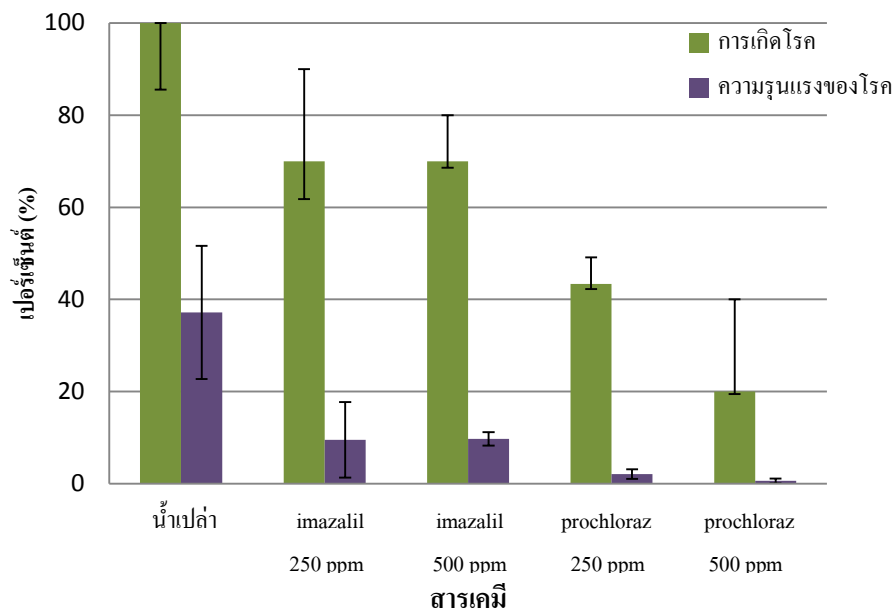
^{-1/} ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งมีตัวอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีวิเคราะห์ Duncan's New Multiple Range Test



ภาพที่ 20 โรคแอนแทรคโนสของผลแก้วมังกรที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ที่เก็บมาจากสวนในเขต
 อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา โดยใช้วิธีการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 51 53 และ 55 องศา-
 เซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จุ่มน้ำเปล่าที่อุณหภูมิห้องเป็นชุดควบคุม
 ก. ผลแก้วมังกรที่จุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
 ข. ผลแก้วมังกรที่จุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 51 องศาเซลเซียส
 ค. ผลแก้วมังกรที่จุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส
 ง. ผลแก้วมังกรที่จุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

6.3.2 การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของแก้วมังกรที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici*

ภายหลังการเก็บเกี่ยว โดยใช้สารเคมี imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm ภายหลังจากทำการปลูกเชื้อรา *C. capsici* ด้วยวิธีการพ่น conidial suspension ที่มีความเข้มข้นของ conidia 10^6 conidia ต่อมิลลิลิตร ลงบนผลแก้วมังกรโดยไม่ทำแผล บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำผลแก้วมังกรมาจุ่มสารเคมี imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm เป็นระยะเวลา 3 นาที พบว่าสารเคมีทั้งสองชนิดไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* ได้ แต่สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ ในการทดลองชุดที่จุ่มสารเคมี imazalil ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm พบการเกิดโรค 70.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การทดลองชุดที่จุ่มสารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm พบการเกิดโรค 43.3 เปอร์เซ็นต์ และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นพบว่าสารเคมี prochloraz ลดความรุนแรงของโรคได้ดีกว่าสารเคมี imazalil เล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 21 และ 22)



ภาพที่ 21 การเกิดโรคและความรุนแรง (เปอร์เซ็นต์) ของโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาจุ่มสารเคมี imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้น 250, 500 ppm และน้ำเปล่า (ชุดควบคุม) เป็นเวลา 3 นาที เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งอาการของโรคแอนแทรคโนสปรากฏ



ภาพที่ 22 อาการโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* ภายหลังจากปลูกเชื้อ 24 ชั่วโมง แล้วนำมาจุ่มสารเคมี imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 500 ppm และน้ำเปล่า (ชุดควบคุม) เป็นเวลา 3 นาที เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งอาการของโรคแอนแทรคโนสปรากฏ

ก. แก้วมังกรที่จุ่มน้ำเปล่า เป็นเวลา 3 นาที (ชุดควบคุม)

ข. แก้วมังกรที่จุ่มสารเคมี imazalil ความเข้มข้น 250 ppm 3 นาที

ค. แก้วมังกรที่จุ่มสารเคมี imazalil ความเข้มข้น 500 ppm 3 นาที

ง. แก้วมังกรที่จุ่มสารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 250 ppm 3 นาที

จ. แก้วมังกรที่จุ่มสารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 500 ppm 3 นาที

6.3.3 การควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของแก้วมังกรที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ จากสวนใน อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร ภายหลังการเก็บเกี่ยว โดยใช้วิธีทางกายภาพร่วมกับการใช้สารเคมี คือ การจุ่มผลแก้วมังกรในน้ำร้อน ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที การจุ่มผลในสารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 250 ppm เวลา 3 นาที และการใช้สารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 250 ppm ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที พบว่าผลแก้วมังกรที่จุ่มในสารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 ppm มีการเกิดโรคน้อยสุด คือ 22.7 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 23) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 250 ppm ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 (เปอร์เซ็นต์) การเกิดโรคแอนแทรกซ์ของแก้วมังกรที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ จากสวนของเกษตรกรใน อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร ภายหลังการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส สารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 250 ppm และน้ำร้อนร่วมกับสารเคมี prochloraz 250 ppm 1 นาที เก็บรักษาไว้ในที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งอาการของโรคแอนแทรกซ์ปรากฏ

กรรมวิธี	การเกิดโรค (เปอร์เซ็นต์) ^{1/}
น้ำเปล่า อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที	82.6c
สารเคมี prochloraz 250 ppm เวลา 1 นาที	22.8a
น้ำร้อนอุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที	55.0b
สารเคมี prochloraz 250 ppm 53 องศาเซลเซียส 1 นาที	40.0ab

-^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งมีตัวอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีวิเคราะห์ Duncan's New Multiple Range Test



ภาพที่ 23 การเกิดโรคแอนแทรคโนสของผลแก้วมังกรที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ จากสวนของเกษตรกรในเขต อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร ภายหลังจากการใช้วิธีการจุ่มน้ำร้อน สารเคมี prochloraz และร่วมกันระหว่างน้ำร้อนและสารเคมี prochloraz ควบคุมโรค เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งอาการของโรคแอนแทรคโนสปรากฏ

ก. แก้วมังกรที่จุ่มน้ำเปล่า เป็นเวลา 1 นาที (ชุดควบคุม)

ข. แก้วมังกรที่จุ่มน้ำร้อน ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส 1 นาที

ค. แก้วมังกรที่จุ่มสารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 250 ppm 3 นาที

ง. แก้วมังกรที่จุ่มสารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 250 ppm ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส 1 นาที

จากการทดลองควบคุมโรคแอนแทรคโนสก่อนการเก็บเกี่ยว โดยวิธีการพ่นสารเคมี prochloraz ก่อนการเก็บเกี่ยว 10 วัน พบว่าไม่สามารถควบคุมและลดโรคแอนแทรคโนสได้ เนื่องจากช่วงระยะเวลานั้นมีการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคแล้ว เห็นได้จากการศึกษาระยะการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคตั้งแต่เริ่มมีการพัฒนาของตุ่มดอก จนถึงระยะก่อนเก็บเกี่ยว (8 สัปดาห์) ตรวจพบเชื้อรา *C. gloeosporioides* เข้าทำลายที่ในระยะก่อนการเก็บเกี่ยวสูงสุด (ผลอายุ 8 สัปดาห์) คือ 10.0 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *C. capsici* เข้าทำลายสูงสุด 1.5 เปอร์เซ็นต์ ในผลที่อายุ 7 สัปดาห์ ซึ่งเป็นไปได้ว่า ถ้าจะใช้สารเคมีควบคุมโรคก่อนการเก็บเกี่ยวจำเป็นต้องพ่นสารเคมีในช่วงระยะสัปดาห์ที่ 6 และอาจต้องพ่นสารเคมีซ้ำอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 7 เพื่อให้การควบคุมโรคก่อนการเก็บเกี่ยวมีประสิทธิภาพดีขึ้น ทั้งนี้เกษตรกรต้องระวังในเรื่องของการใช้สารเคมีที่อาจก่อให้เกิดสารพิษตกค้าง

การควบคุมโรคภายหลังการเก็บเกี่ยวโดยการใช้ความร้อน พบว่าการจุ่มผลแก้วมังกร ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที สามารถลดการเกิดโรคได้ดีที่สุด ขณะที่การใช้สารเคมีควบคุมโรค พบว่าการใช้สารเคมี prochloraz สามารถลดการเกิดโรคได้ดีกว่าการใช้สารเคมี imazalil โดยการจุ่มผลใน prochloraz ที่ความเข้มข้น 500 ppm เป็นเวลา 1 นาที สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด และเมื่อใช้สารเคมี prochloraz ร่วมกับความร้อน พบว่าสารเคมีมีประสิทธิภาพลดน้อยลงกว่าการใช้สารเคมี prochloraz เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพดีกว่า โดยปกติสารเคมี prochloraz เป็นสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ได้ดี ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (กรมควบคุมมลพิษ, 2001) จึงเป็นเหตุผลทำให้ไม่ได้ผลเต็มที่เมื่อนำมาใช้ร่วมกับความร้อน ผลที่ได้ต่างจากการทดลองของ Arauz (1995) ที่จุ่มผลมะม่วง โดยใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 52-53 องศาเซลเซียส เวลา 3-5 นาที ร่วมกับสารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสและขั้วผลเน่าได้ การทดลองของสรายุทธ (2556) พบว่าการจุ่มผลแก้วมังกรในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที สามารถลดการเกิดโรคผลเน่าของแก้วมังกรที่เกิดจากเชื้อรา *D. dominicana* ได้ 40.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การใช้สารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 400 ppm เป็นเวลา 3 นาที และ การใช้สารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 400 ppm ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส สามารถควบคุมโรคผลเน่าได้อย่างสมบูรณ์ การตรวจวัดปริมาณสารพิษตกค้างพบว่ามีค่าน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดไว้ของ Codex ที่อนุญาตให้มีสารเคมี prochloraz ตกค้างในผลไม้ที่ไม่กินเปลือก ไม่เกิน 7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อารยา และ สมศิริ (2556) รายงานการควบคุมโรคภายหลังการเก็บเกี่ยวของผลแก้วมังกรที่เกิดจากเชื้อรา *B. cactivola* โดยใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 51-53

และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที สามารถยับยั้งการเกิดโรคผลเน่าได้ 46.5 50.9 และ 55.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

1. การสำรวจโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรทางลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า เชื้อราสาเหตุโรค คือ *C. capsici* และเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยพบว่าโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* จะแสดงอาการของโรครุนแรงมากกว่าโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ลักษณะแผลจะแห้ง เนื้อเยื่อยุบตัวลง เชื้อราสร้าง acervuli บนแผล ภายใน acervuli มีการสร้าง conidia รูปร่างแบบเสี้ยว (falcate) ส่วนปลายแหลม ไม่มีสี ไม่มีผนังกัน เชื้อรา มีการสร้าง setae สีดำชัดเจน ส่วนโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ลักษณะแผลจะฉ่ำน้ำ เชื้อราสร้าง conidia มีรูปร่างแบบทรงกระบอกปลายมน (rod shape) ไม่มีสี ไม่มีผนังกัน เมื่อใช้วิธีทางชีวโมเลกุลโดยใช้ specific primer และ universal primer เพื่อยืนยันการจำแนก เชื้อดังกล่าว พบว่าเป็นเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* และเมื่อทดสอบการเกิดโรคของเชื้อรา *C. capsici* พบว่าสามารถก่อให้เกิดโรคได้กับผลพริกบนต้นโดยการทำแผลและไม่ทำแผล

2. การศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum spp.* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรตั้งแต่ระยะตุ่มดอกจนถึงระยะก่อนการเก็บเกี่ยว (8 สัปดาห์) พบเชื้อรา *C. gloeosporioides* เข้าทำลายที่ในระยะก่อนการเก็บเกี่ยวสูงสุดในผลอายุ 8 สัปดาห์ คือ 10.0 เปอร์เซ็นต์ และ เชื้อรา *C. capsici* เข้าทำลายสูงสุด 1.5 เปอร์เซ็นต์ ในผลที่อายุ 7 สัปดาห์ ระยะเวลาในการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. capsici* พบว่าการปลูกเชื้อราไว้ 24 ชั่วโมงสามารถก่อให้เกิดโรค มากที่สุด คือ 80.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ 6 12 18 ชั่วโมง ก่อให้เกิดโรค และ 36.0 56.7 66.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ conidia ของเชื้อรา มีการสร้าง germ tube สูงสุดชั่วโมงที่ 12 ภายหลังจากการปลูกเชื้อ การสร้าง appressoria มีอัตราการสร้างเพิ่มขึ้น จนสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 โดยพบการสลายตัวของ conidia ด้วยในช่วงเวลาดังกล่าว เมื่อศึกษาการเข้าทำลายภายใต้กล้อง SEM พบว่า conidia เกาะบนผิวแก้วมังกรแล้วมีการสร้าง appressoria เข้าทำลายโดยตรง conidia สร้าง germ tube ที่มีทั้งยาวและสั้น เมื่อ conidia เริ่มงอกเชื้อรา มีการสร้าง septate ตามแนวขวางที่กลางเซลล์ของ conidia เมื่อมีการเข้าทำลายแล้ว conidia จะเริ่มสลายตัว โครงสร้างของเซลล์พืชเมื่อถูกเชื้อรา *C. capsici* เข้าทำลาย พบว่าภายหลังจากการปลูกเชื้อและบ่มไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เชื้อรา มีการเข้าทำลายพืชแล้ว โดยเซลล์ epidermis ของพืชมีการติดสีแดง ในวันที่ 4 เชื้อราเริ่มมีการรวมกลุ่มเพื่อสร้าง acervulus ในส่วนของเซลล์พืชพบเส้นใยอยู่ในชั้น epidermis ในเนื้อเยื่อผิวแก้วมังกรที่

เป็นโรค เชลล์ผิวพืชขาดแยกออกจากกันและมีการรวมตัวกันเป็นชั้นๆ พบ acervulus ที่มี conidia ที่เกิดบน conidiophore

3. คุณภาพของผลแก้วมังกรภายหลังการเกิดโรคแอนแทรคโนสแล้ววันที่ 2 และวันที่ 4 โดยการวัดปริมาณกรดทั้งหมด (titratable acidity, TA) ของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) กรดแอสคอร์บิก ปริมาณและชนิดของน้ำตาลกลูโคสและฟรุ็กโตส พบว่ามีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับผลแก้วมังกรที่ไม่เป็นโรค โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

4. การควบคุมโรคแอนแทรคโนสของผลแก้วมังกรก่อนการเก็บเกี่ยว โดยการใช้สารเคมี prochloraz ความเข้มข้น 500 750 และ 1,000 ppm พบว่าไม่สามารถควบคุมและลดโรคแอนแทรคโนสได้ ขณะที่การควบคุมโรคในระยะหลังการเก็บเกี่ยว โดยจุ่มผลในสารเคมี imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm เป็นเวลา 1 นาที พบว่า prochloraz ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* ได้ดีที่สุด การใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 51 53 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที พบว่าที่ 53 องศาเซลเซียส ให้ผลการลดโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุด การใช้สารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 ppm ร่วมกับน้ำร้อนที่ 53 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวลดการเกิดโรคได้ดีกว่า แต่ไม่มีผลแตกต่างกันทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

การควบคุมโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรก่อนการเก็บเกี่ยว โดยวิธีการใช้สารเคมี prochloraz พบก่อนการเก็บเกี่ยวในแปลงเพียงครั้งเดียวในระยะ 10 วันก่อนเก็บเกี่ยวไม่เพียงพอในการควบคุมโรคของผลแก้วมังกรหลังการเก็บเกี่ยว อาจต้องทำการพ่นมากกว่า 1 ครั้ง ในช่วงอายุ 6-7 สัปดาห์ แต่เกษตรกรสามารถควบคุมโรคภายหลังการเก็บเกี่ยวให้ได้ผลดี โดยวิธีจุ่มผลในสารเคมี prochloraz 250 ppm นาน 3 นาที หรือน้ำร้อนที่ 53 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จะสามารถควบคุมโรคได้อย่างดี โดยระยะเวลาดังกล่าวสารพิษตกค้างก็ไม่เกินมาตรฐาน

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กรมควบคุมมลพิษ. 2001. ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตรายและเคมีภัณฑ์. แหล่งที่มา:
<http://msds.pcd.go.th/searchName.asp?vID=2229>, 19 กุมภาพันธ์ 2558
- จิรา ณ หนองคาย. 2531. เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. แมสพับลิชซิง, กรุงเทพฯ.
 น. 272
- ใจทิพย์ วาณิชชัง, บัณฑิต จริโมภาส และ อนุพันธ์ เทอดวงศ์วรกุล. 2553. การจำแนกความสุกแก่
 ของผลแก้วมังกรโดยใช้ Discriminant Analysis. ว. วิทย. กษ. 41 (1) (พิเศษ): 373-376
- ปริญญา เชื้อชูชาติ และ นลองชัย แบบประเสริฐ. 2548. ศึกษาการเจริญเติบโตและการ
 ของผลแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงเปลือกแดง, น. 148-155. ใน รายงานการประชุมวิชาการ
 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
 กรุงเทพฯ.
- พิสุทธิ เอกอำนวย, 2553. โรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ พิมพ์ครั้งที่ 3. สวนสัตว์แมลงสยาม
 เชียงใหม่ เจ้าของและผู้พิมพ์โฆษณา. กรุงเทพฯ. น. 592
- พิมพ์ร วัชรพงศ์กุล, นันทยา จงใจเทศ และ ปิยนันท์ เผ่าม่วง. 2549. แผนงานการศึกษาวิจัย
 รวบรวม และจัดการองค์ความรู้โครงการปริมาณน้ำตาลในผลไม้ไทย. กองโภชนาการ
 กรุงเทพฯ
- พรพิมล อธิปัญญาคม, สุณิรัตน์ สิมะเคื้อ, ชนินทร ดวงสอาด และ ศรีสุรงค์ ลิขิตเอกราช. 2550.
 ศึกษาการจัดการโรคพืชที่เหมาะสมในการผลิตแก้วมังกร. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขา
 พืช. น. 2539-2553
- ทศพร ทองเทียะ. 2535. โรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของกล้วยหอมที่เกิดจากเชื้อรา
Colletotrichum musae (Berk. & Curt.) Arx และการควบคุมโรคเพื่อการส่งออก.
 วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

ภวีณา ดวงทวีทรัพย์, อนุวัตร แจ่มชัด และ พิสิษฐ์ ธรรมวิถี. 2554. คัดค้านคุณภาพของแก้วมังกรต่อการยอมรับของผู้บริโภค. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49. ม.เกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

นพดล จรัสสัมฤทธิ์. 2537. ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. สำนักพิมพ์ รุ่งเรือง. กรุงเทพฯ. น. 124

นฤมล มานีพพาน. 2537. แก้วมังกร. สำนักพิมพ์เพชรกระรัต, กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ วิสารทนนท์. 2542. โรคไม้ผลเขตร้อนและการป้องกันกำจัด. เอกสารเผยแพร่ทาง วิชาการหลักสูตร “หมอพืช-ไม้ผล” ฉบับที่ 1 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. น. 90-92

นิตดา หงส์วิวัฒน์ และ ทวีทอง หงส์วิวัฒน์. 2550. แก้วมังกร ใน ผลไม้ 111 ชนิด: คุณค่าอาหาร และการกิน. แสงแดด. กรุงเทพฯ. น. 37-39

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. น. 49

รภัสสา จันทาศรี. 2552. แก้วมังกร. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ. น. 104

รัตดา อนนกรนโชติ. 2542. ปฏิกริยาที่มีต่อกันระหว่างเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ซึ่งเป็น สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสกับผลพริก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

วินัย ภูมินาถ. 2549. ส้มเขียวหวาน ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มเกล็ดหิมะ. อาหาร (Food Journal). 36 (2): 111.

ศราวุธ สอนวิสัย. 2556. โรคผลเน่าของแก้วมังกรภายหลังการเก็บเกี่ยวและการควบคุม.

วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

_____, ชิดชนก เกษี และ สมศิริ แสงโชติ. 2555. โรคผลเน่าของแก้วมังกร (*Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose.) ภายหลังการเก็บเกี่ยวและการควบคุม. ว.วิทย. กษ. 43(3) (พิเศษ): 572-575.

สุวรรณ ปัญญา. 2549. การควบคุมโรคผลเน่าของลองกองภายหลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้น้ำ
ยาราสด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรนนต์ สุภัทรพันธุ์. 2526. สรีรวิทยาการเจริญเติบโตพืชสวน. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. น. 135

สุรพงษ์ โกสิยะจินดา. 2545. แก้วมังกร พืชเศรษฐกิจ ผลไม้สุขภาพ. สมาคมพืชสวนแห่งประเทศไทย. หจก. ฟินนี่พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. น. 208

_____. 2531. การเก็บรักษาผักและผลไม้สด, น. 264-282. ใน เอกสารการฝึกอบรมเรื่อง
Improvement of Postharvest Techniques to Reduce Loss of Perishable Commodities.
ม.เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2552. ค่าสารพิษตกค้าง(MRL)ที่กำหนดให้
มีในอาหารของ Codex. แหล่งที่มา:

http://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM_RESIDUE_LIMITS_new.pdf,
6 มกราคม 2558

สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. 2557. แก้วมังกร ใน
โรคผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว. น. 3-10

อารยา ไชยดี และ สมศิริ แสงโชติ. 2556. การเข้าทำลายผลแก้วมังกรของเชื้อรา *Bipolaris cactivora* (Petrak) Alcorn และการควบคุม. ว.วิทย. กษ. 44 (3) (พิเศษ): 22-24.

- อุไรวรรณ แสงหัวช้าง และ เรวัติ ชัยราช. 2550. การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและ
พัฒนาการของดอกและผลแก้วมังกรในสภาพการปลูกในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี.
ใน การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 7. น. 70.
- Adikaram, N. K. B., A. E. Brown and T. R. Swinburne. 1983. Observations on infection of
Capsicum annuum fruit by *Glomerella cingulata* and *Colletotrichum capsici*. **Trans. Br.
Mycol. Soc.** 80(3): 395-401
- Alexander, P. J., G. Rajanikanth, C. D. Bacon and C. D. Bailey. 2007. Recovery of plant DNA
using a reciprocating and silica-based columns. **Molecular Ecology Notes.** 7: 5-9
- Awang, Y., M. A. A. Ghani and K. Sijam. 2009. Effects of *Colletotrichum gloeosporioides* and
Monilinia fructicola on Quality of Red Flesh Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*).
Postharvest Pacifica. 431-438
- Apipunyakom, P., S. seemadua and C. Doungsa-ard. 2012. Anthracnose diseases of dragon fruit
in Thailand, pp. 67. In **The international conference on tropical and sub-tropical
plant disease 2012.** The empress hotel, Chiang Mai, Thailand.
- Arauz, L. F. 1995. Combate de anthracnose en mango, pp. 56-66. In **Proc. Seminario Int
Cultiva Mango**, 2nd Puntarenas, Costa Rica.
- Bellec, F. L. and F. Vaillant. 2011. Pitahaya (pitaya) (*Hylocereus* spp.), pp. 260. In Elhadi M.
Yahai. **Posthavest biology and technology of tropical and subtropical fruits.** Vol. 4.
woodhead publishing. UK.
- _____, _____ and E. Imbert. 2006. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market
with a future. **Fruits.** 61(4): 237-250

- Burchill, R. T. 1964. Hot water as a possible post-harvest control of *Gloeosporium* rots of stored apples. **Plant Pathol.** 13: 16-107
- Brent, K. J. and D. W. Hollomon. 2007. **Fungicide resistance in crop pathogens : how can it be managed.** 2nd ed. Fungicide Resistance Action Committee. UK.
- Carmichael, J. W., W. Bryce Kendrick, I. L. Connors and L. Sigler. 1980. **Genera of Hyphomycetes.** Univ. of Alberta Press. Edmonton, Alberta, Canada. 386
- Chang, F. R. and C. R. Yen. 1997. Flowering and fruit growth of pitaya (*Hylocereus undatus* Britt. & Rose), **Chinese Soc. Hort. Sci.** 43(4): 314-21.
- Chau, N. M. 1998. **Dragon fruit in Vietnam.** บรรยาย 26 มิ.ย. 2541. กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- Chema, G. S., D. V. Karmarket and B. M. Joshi. 1950. Investigation on the cold storage of mangoes. **Indian J. Agric. Sci.** 20(3): 259-325
- Couey, F. M. and M. N. Follstad. 1966. Heat pasteurization for control of postharvest decay in fresh strawberries. **Phytopathol.** 56: 1345-1347.
- Dodd, J. C., R. Bugante, I. Koomen, P. Jeffries and M. J. Jeger. 1991. Pre- and post-harvest control of mango anthracnose in the Philippines. **Plant Pathol.** 40(4): 576-583.
- Ellis, M. B. 1971. **Dematiaceous Hyphomycetes.** CMI, Kew, Surrey, England. 608
- _____. 1976. **More Dematiaceous Hyphomycetes.** CMI, Kew, Surrey, England. 507
- Gibson, A. C. and P. S. Nobel. 1986. **The Cactus Primer.** Harvard Univ. Press, Cambridge.

- Guo, L. W., Y. X. Wu, H. H. Ho, Y. Y. Su, Z. C. Mao, P. F. He and Y. Q. He. 2014. First report of dragon fruit (*Hylocereus undatus*) Anthracnose caused by *Colletotrichum truncatum* in China. **Phytopathol.** 162: 272-275
- Hoa, T. T., C. J. Clark, B. C. Waddell and A. B. Woolf. 2006. Postharvest quality of dragon fruit (*Hylocereus undatus*) following disinfesting hot air treatments. **Postharvest Biol. Tec.** 41: 62-69.
- Huber, D. J. 1983. The role of cell wall hydrolases in fruit softening. **Hort.** 5: 169-219.
- Humphreys, S. 2005. **Quality key to E,U. fruit exports.** Available Source: <http://www.ILOVEPITAYA.com>, June 10, 2012
- 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 or imazalil. **Plant Pathol.** 50: 601-608
- Kim, Y. H., O. K. Jun, M. J. Sung, J. S. Shin, J. H. Kim and M. Jeong. 2000. Occurrence of *Colletotrichum* Stem Rot Caused by *Glomerella cingulata* on Graft-Cactus in Korea. **Plant Pathol.** 16(4): 242-245
- Leopold, A. C. and P. E. Kriedemann. 1975. **Plant Growth and Development.** McGraw-Hill, Inc., New Delhi. 545
- Liu, H., W. Jiang, Y. Bi and Y. Luo. 2005. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. **Postharvest Biol Tec.** 35: 263-269

- Madani, B., M. T. M. Mohamed, A. R. Biggs, J. Kadir, Y. Awang, A. Tayebimeigooni and T. R. Shojaei. 2014. Effect of pre-harvest calcium chloride applications on fruit calcium level and post-harvest anthracnose disease of papaya. **Crop Protection**. 55: 55-60
- Manandhar, J. B., I. K. Kunwar, T. Singh, G. L. Hartman and J. B. Sinelair. 1985. Penetration and infection of soybean leaf tissues by *Colletotrichum truncatum* and *Glomerella glycines*. **Phytopathol.** 75: 704-708
- Masanto, M., K. sijam, Y. Awang and M. G. M. Satar. 2009. The first report of the occurrence of anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) & Sacc. on dragon fruits (*Hylocereus* spp.) in Malaysia. **Amer. J. Appl. Sci.** 6(5): 902- 912.
- Mizrahi, Y. and P. S. Nobel. 1997. Cacti as crops. **Horticultural Review**. 18: 291-346.
- Moraes, S. R. G., F. A. O. Tanaka and N. S. Massola Junior. 2013. Histopathology of *Colletotrichum gloeosporioides* on guava fruits (*Psidium guajava* L.). Rev. Bras. Frutic., **Jaboticabal –SP**. 35(2): 657-664.
- Muckenschnabel, I., B. A. Goodman, B. Williamson, G. D. Lyon and N. Deighton. 2001. Infection of leaves of *Arabidopsis thaliana* by *Botrytis cinerea* : changes in ascorbic acid, free radicals and lipid peroxidation products. **J. Exp. Bot.** 53(367) : 207-214
- Muirhead, I. F., R. D. Fitzell, R. D. Davis and R. A. Peterson. 1982. Post-harvest control of anthracnose and stem-end rots of Fuerte avocados with prochloraz and other fungicides. **Aust. J. Exp Agr Naim Husb.** 22(119): 441 – 446.
- Neergaard, E. D. 1997. **Methods in Botanical Histopathology**. Kandrups Bogtrykkeri, Copenhagen, Denmark

- Official Methods of AOAC International. 2000. 17th ed. **AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 967.21**
- Osman, M. S., D. Sivakumar and L. Korsten. 2011. Effect of biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* and 1-methyl cyclopropane on the control of postharvest diseases and maintenance of fruit quality. **Crop Prot.** 30: 173-178.
- Pavoncello, D., S. Lurie, S. Droby and R. Porat. 2001. A hot water treatment induces to *Penicillium digitatum* and promotes the accumulation of heat shock and pathogenesis-related proteins in grapefruit flavedo. **Physiol. Plant.** 111: 17-22
- Palmateer, A. J. and R. C. Ploetz. 2007. First occurrence of anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on Piahaya. **Plant Dis.** 91(5): 631.
- Pennock, W. and G. Maldonado. 1962. Hot water treatment of mango fruits to reduce anthracnose decay. **J. Agric. Univ. Puerto Rico.** 46: 272-283
- Pesis, E., P. Long and E. Hewett. 2012. Compositional change in kiwifruit infected with *Botrytis cinerea* 1. In vivo studies. **New Zealand J Crop Hort Sci. ens.** 19(4): 405-412
- Pring, R. J., C. Nash, M. Zakaria and J. A. Bailey. 1995. Infection process and host range of *Colletotrichum capsici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology.** 46: 137-152
- Sergio, T. F., N. T. Nham and E. J. Mitcham. 2011. **Pitaya (Pitahaya, Dragon Fruit) Recommendations for Maintaining Postharvest Quality.** Available Source: <http://postharvest.ucdavis.edu/PFfruits/Pitaya/>, September 24, 2012.
- Seymour, G. B., J. E. Taylor and G. A. Tucker. 1993. **Biochemistry of Fruit Ripening.** Chapman&Hall, London. 454

- Sutton, B. C. 1980. **The Coelomycetes fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata**. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey. England. 695
- Taba, S., N. miyahira and K. Nasu. 2007. Fruit rot of Strawberry pear (pitaya) caused by *Bipolaris cactivora*. **J. Gen. Plant Pathol.** 73: 374-376.
- Takahashi, L. M., D. D. Rosa, M. A. Basseto, H. G. de Souza and E.L. Furtado. 2008. First report of *Colletotrichum gloeosporioides* on *Hylocereus megalanthus* in Brazil. **Austr Plant Dis.** 3: 96-97
- Thong, D. Le, G. McDonald, E. S. Scott and A. J. Able. 2013. Infection pathway of *Botrytis cinerea* in capsicum fruit (*Capsicum annuum L.*). **Austr Plant Pathol.** 42: 449-459.
- Tucker, G. A. and G. B. Seymour. 1991. Cell wall degradation during mango fruit ripening. **Acta Hort.** 291: 454-471.
- To, L. V., N. Ngu, N. D. Duc and H. T. T. Huong. 2002. Dragon fruit quality and storage life: effect of harvesting time ,use of plant growth regulators and modified atmosphere packing. **Acta Hort.** 575: 611-621
- Torres, C. C., R. T. Tussell, A. Q. Ramayo, R. M. Mex, R. R. Herrera, H. Ciapara and D. P. Brito. 2011. A species-specific polymerase chain reaction assay for rapid and sensitive detection of *Colletotrichum capsici*. **Mol Biotechnol.** 49: 48-55
- Ulrich, R. 1970. Organic acids. **The Biochemistry of Fruit and their Products**. Academic Press, London. In A. Hulme (ed.). 89-118
- Valiuskaite, A., N. Kvikliene, D. Kviklys and J. Lanauskas. 2006. Post-harvest fruit rot incidence depending on apple maturity. **Agron. Res.** 4: 427-451.

- Vijaya, S. I., I. S. M. Anuar and L. Zakaria. 2014. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum truncatum* causing stem anthracnose of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Phytopathol.** 163(1): 67-71
- Valencia-Botin, A. J., J. S. S. Islas, E. C. Soriano, T. J. Michailides and G. E. Sanchez. 2003. *Botryosphaeria dothidea* causing stem spots on *Hylocereus undatus* in Mexico. **Plant Pathol.** 52: 803.
- Wang, C. L. and C. C. Lin. 2005. Fruit rot of pitaya and stem rot of cacti in Taiwan. **Plant Pathol.** 14: 269-274
- 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
- Whiting, G. C. 1970. **The Biochemistry of Fruit and their Products.** Academic Press, London. Sugars, In A. Hulme (ed.). 1-31
- Williamson, B., R. J. McNicol and A. Dolan. 1987. The effect of inoculating flowers and developing fruits with *Botrytis cinerea* on post-harvest grey mold of red raspberry. **Annals of Applied Biology.** 111(2): 285-294.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

ภาคผนวก ก

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่งสด	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำ	1,000	มิลลิลิตร

2. การทำ paraffin section

2.1 การเตรียมสาร Formalin-Acetic acid-Alcohol (FAA) 100 มิลลิลิตร

Ethyl alcohol 50%	90	มิลลิลิตร
Glacial acetic acid	5	มิลลิลิตร
Commercial formaline (40% formaldehyde)	5	มิลลิลิตร

2.2 สูตรการเตรียมสาร series consists of series alcohol 100 มิลลิลิตร

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

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

2.3 การเตรียมสาร Haupt's adhesive

1. ละลาย gelatin ในน้ำ 100 มิลลิลิตร ที่ 90 องศาเซลเซียส (ใช้แท่งแก้วคน โดยไม่ให้เกิดฟอง)
2. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติม glycerine 15 มิลลิลิตร
3. กรองสารละลายโดยใช้กระดาษกรอง เพื่อกำจัดสิ่งเจือปนในสารละลาย
4. เก็บสารละลายไว้ในตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส)

2.4 การเตรียมสีย้อม

- Xylene : absolute ethyl alcohol อัตราส่วน 1:1
- series of ethyl alcohol : absolute , 95% , 70% และ 50%
- stock solution of safranin 1 กรัม ละลายใน 95% ethyl alcohol 100 มิลลิลิตร (ก่อนใช้ผสมในอัตราส่วน 1:1)
- Counterstain with fast green : fast green 0.5 กรัม + clove oil 50 มิลลิลิตร + 95% ethyl alcohol 50 มิลลิลิตร
- Differentiate the fast green : clove oil 50 มิลลิลิตร + absolute ethyl alcohol 25 มิลลิลิตร + xylene 25 มิลลิลิตร

2.4.1 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 หยด permout ลงที่ขอบสไลด์ แล้วค่อยๆวาง cover slide โดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ

2.5 สูตรน้ำยาล้างเครื่องแก้ว

โปแตสเซียมไดโครเมท	100	กรัม
กรดกำมะถันเข้มข้น	500	มิลลิลิตร
น้ำ	1,000	มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข

ตารางแสดงผลความแปรปรวนทางสถิติ

ภาคผนวก ข

ตารางผนวกที่ ข1 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การงอก germ tube ของ conidia เชื้อรา
C. capsici บนผลแก้วมังกร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 จนถึงชั่วโมงที่ 24

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	7	36360.30	5194.33	55.39*
Error	72	6751.43	93.77	
Total	79	43111.73		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

$$CV = 60.2\%$$

ตารางผนวกที่ ข2 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การงอก appressorium ของ conidia เชื้อรา
C. capsici บนผลแก้วมังกร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 จนถึงชั่วโมงที่ 24

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	7	45886.88	6555.27	24.37*
Error	72	19364.56	268.95	
Total	79	65251.45		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

$$CV = 49\%$$

ตารางผนวกที่ ข3 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการเกิดโรคแอนแทรกซ์ของ
 แก้วมังกร ภายหลังจากปลูกเชื้อรา *C. capsici* และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศา-
 เซลเซียส ในระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	11640.00	2910.00	7.66*
Error	10	3800.00	380.00	
Total	14	15440.00		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 69.2%

ตารางผนวกที่ ข4 วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (titratable
 acidity, TA) ของแก้วมังกรภายหลังจากอาการของโรคแอนแทรกซ์ปรากฏ
 วันที่ 2

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	F
control	4	.6080	.03844	.01922	.595*
Inoculate <i>C.capsici</i>	4	.6848	.14095	.07048	

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 20.6%

ตารางผนวกที่ ข5 วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (titratable acidity, TA) ของแก้วมังกรภายหลังจากอาการของโรคแอนแทรกซ์โนสปรากฏวันที่ 4

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	F
control	4	.3684	.11666	.05217	3.122*
Inoculate <i>C.capsici</i>	4	.3020	.03776	.01688	

หมายเหตุ * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 12.5%

ตารางผนวกที่ ข6 วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total soluble solid, TSS) ของแก้วมังกรภายหลังจากอาการของโรคแอนแทรกซ์โนสปรากฏวันที่ 2

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	F
control	4	7.0250	.95000	.47500	.149*
Inoculate <i>C.capsici</i>	4	7.3250	.90692	.45346	

หมายเหตุ * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 12.4%

ตารางผนวกที่ ข7 วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total soluble solid, TSS) ของแก้วมังกรภายหลังจากอาการของโรคแอนแทรกคโนสปรากฏวันที่ 4

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	F
control	4	7.5325	1.79468	.89734	.614*
Inoculate <i>C.capsici</i>	4	6.6500	1.18181	.59090	

หมายเหตุ * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 17.8%

ตารางผนวกที่ ข8 วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี ของแก้วมังกรภายหลังจากอาการของโรคแอนแทรกคโนสปรากฏวันที่ 2

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	F
control	4	.1302	.02766	.01383	.048*
Inoculate <i>C.capsici</i>	4	.1590	.02627	.01313	

หมายเหตุ * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 16.52%

ตารางผนวกที่ ข9 วิเคราะห์ความแปรปรวน (T-test) วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี ของแก้วมังกร
ภายหลังจากอาการของโรคแอนแทรกโนสปรากฏวันที่ 4

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	F
control	4	.1302	.01330	.00665	.001*
Inoculate <i>C.capsici</i>	4	.1250	.01715	.00857	

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 13.7%

ตารางผนวกที่ ข10 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการควบคุมการเกิดโรค
แอนแทรกโนสในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว โดยวิธีการใช้สารเคมี prochloraz
ที่ความเข้มข้น 0 500 750 และ 1,000 ppm

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	3	137.50	45.83	0.41*
Error	4	450.00	112.50	
Total	7			

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 13.8%

ตารางผนวกที่ ข11 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรกซ์ในระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยว โดยวิธีการใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 51 53 และ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 นาที

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	3	2091.67	697.22	5.976*
Error	8	933.33	116.67	
Total	11	3025		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 51.0%

ตารางผนวกที่ ข12 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการเกิดโรคแอนแทรกซ์ในระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการใช้สารเคมี imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm และจุ่มน้ำเปล่า (ชุดควบคุม) เป็นเวลา 3 นาที

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	11026.67	2756.67	1.477*
Error	10	1866.67	186.67	
Total	14	12893.33		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 50.0%

ตารางผนวกที่ ข13 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของความรุนแรงของโรคแอนแทรกโนส
ในระยหลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการใช้สารเคมี imazalil และ prochloraz ที่
ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm และจุ่มน้ำเปล่า (ชุดควบคุม) เป็นเวลา 3 นาที

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	2617.21	654.30	11.68*
Error	10	560.04	56.00	
Total	14	3177.25		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 12.7%

ตารางผนวกที่ ข14 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการเกิดโรคแอนแทรกโนสใน ระยะ
หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส ร่วมกับการ
ใช้สารเคมี prochloraz ที่ความเข้มข้น 250 ppm และจุ่มน้ำเปล่า(ชุดควบคุม)

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	3	7727.67	2575.89	16.33*
Error	12	1893.44	157.79	
Total	15	9621.11		

หมายเหตุ * = แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CV = 50.6%

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-สกุล	นางสาวจิตชนก เกษี Ms. Chitchanok Kasee
วันที่เกิด	5 เมษายน 2531
สถานที่เกิด	อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี
ประวัติการศึกษา	วท.บ.(ชีวเคมี) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
รางวัลทางวิชาการ	รางวัลการนำเสนอผลงานภาคนิพนธ์ดีเด่น งานประชุมวิชาการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวแห่งชาติ ครั้งที่ 11
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนอุดหนุนวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2557 จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

ผลงานทางวิชาการ

- Somsiri sangchote, Chitchanok Kasee and Rattiros Chiangsin. 2014. Identification of *Colletotrichum* spp. Isolated from Mango Obtained from Different Growing Areas using their Pathogenicity, Morphological Characteristics, and Molecular Techniques. pp. 67. In **5th Asian Conference on Plant Pathology**. The empress hotel, Chiang Mai, Thailand.
- จิตชนก เกษี และ สมศิริ แสงโชติ. 2556. การเข้าทำลายและการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของผลแก้วมังกร (*Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose.) ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Syd.&P.Syd.) E. J. Butler & Bisby. ว. วิทย. กษ. 44 (3 พิเศษ): 25 - 28.
- สมศิริ แสงโชติ, จิตชนก เกษี และรัตติรส เชียงสิน. 2556. การกำจัดเชื้อแฝงของโรคแอนแทรคโนสบนผลอ่อนมะม่วงก่อนห่อผลเพื่อลดการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว. ว.วิทย.กษ. 44 (3 พิเศษ): 347 - 350.
- Chitchanok Kasee, Somsiri sangchote and Netnapis Khewkhom. 2012. Causal pathogens of antracnose disease, infection, and their effects on quality of Pitaya fruits (*Hylocereus undatus* (Haw.) Brit. & Rose.). pp. 32. In **The 6th Young Scientist seminar**. Seminar park, Yamaguchi, Japan