

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจโรคผลตายของลำไย ในแหล่งปลูกลำไยของจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และจันทบุรี โดยเฉพาะพื้นที่ที่เคยมีการระบาดรุนแรงมาก่อน โดยส่วนใหญ่เป็นลำไยพันธุ์ตอ ส่วนที่พบการระบาดที่จังหวัดเชียงใหม่ คือ สวนลำไยอำเภอพร้าว จากการสำรวจ จำนวน 2 สวน โดยสวนที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 50% สวนที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 60% และอำเภอฮอด พบเปอร์เซ็นต์เป็นโรค 10% จังหวัดลำพูน พบที่อำเภอป่าซาง จากการสำรวจ 2 สวน โดยสวนที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 20-30% สวนที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 100% ซึ่งเกษตรกรไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เลย และที่จังหวัดจันทบุรี ที่อำเภอสอยดาว และโป่งน้ำร้อน จากการสำรวจ 2 สวน โดยสวนที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 50% และสวนที่ 2 พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 90% เกษตรกรไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เลย จนทำให้เกษตรกรบางส่วนเปลี่ยนไปปลูกพืชชนิดอื่นแทน เช่น ชมพู่ และส้ม เป็นต้น

ลักษณะอาการผลตายของลำไย พบว่าที่ผิวของลำไยมีจุดสีดำ ขนาด 1-2 มิลลิเมตร บางจุดมีขนาดใหญ่เป็นปื้น กระจายอยู่ทั่วผล ทำให้ลำไยมีสีลายกระ เมื่อแกะดูข้างในผล พบว่ามีจุดสีดำเกิดขึ้นบริเวณผิวเปลือกด้านในด้วย บางผลมีอาการแตก และมีเส้นใยของเชื้อราปกคลุม ซึ่งจากการสำรวจสวนเกษตรกรที่จังหวัดจันทบุรี เมื่อ 1 กุมภาพันธ์ 2546 โดยสวนที่มีการระบาดของโรคผลตาย พบว่าไม่มีการตัดแต่งกิ่งทำให้ทรงพุ่มทึบ อีกประการหนึ่ง คือมีฝนตกบ่อยครั้ง ทำให้สภาพแวดล้อมเหมาะต่อการระบาดของโรค ในขณะที่เดียวกันพบว่าสวนหนึ่งผลมีลักษณะปกติ พบว่าสวนนี้มีการตัดแต่งกิ่งทำให้ทรงพุ่มโปร่ง และเมื่อลำไยมีขนาดผลเล็กเท่าเมล็ดถั่วเหลือง (ขนาด 2-3 มิลลิเมตร) มีการตัดช่อผลทิ้ง 50% และมีการใช้สารกำจัดเชื้อรา procymidone ฉีดพ่นเป็นระยะ ๆ จึงทำให้ได้ผลปกติไม่เสียหายจากโรคผลตาย ผลแตกเลย และขนาดผลเมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวมีขนาดใหญ่ (จัมโบ้) นอกจากนี้การวัดความหนาของเปลือกลำไย พบว่าผลลำไยที่แสดงอาการแตก และผลตายมีเปลือกบางกว่าผลปกติ

การแยกเชื้อสาเหตุของโรค พบเชื้อราทั้งหมด 5 ชนิด คือ *Pestalotiopsis* sp. และเชื้อราที่ยังไม่ทราบชื่ออีก 4 ชนิด ซึ่งเชื้อราทั้ง 4 isolate นี้มีลักษณะเด่นที่เหมือนกัน คือ มีการเจริญของเส้นใยอย่างรวดเร็ว จนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อราภายในเวลา 2 วัน และเส้นใยมีการแตกแขนงเป็นมุมฉาก ซึ่ง isolate ที่ 2 3 และ 5 (unknown 2 3 และ 5) ไม่มีการสร้างสปอร์ ถึงแม้จะมีการชักนำให้สร้างสปอร์ โดยวิธีการต่าง ๆ ได้แก่ การเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร WA (Water Agar) การเลี้ยงเส้นใยภายใต้แสง UV การขูดเส้นใย การใช้เข็มเขี่ยลงไฟแล้วกรีดบริเวณ colony culture และการเลี้ยงเชื้อราในอาหาร PDA ที่

ผสมเปลือกหรือใบลำไยด้วย สอดคล้องกับการทดลองของวสันต์ (2544) ที่แยกเชื้อราโรคผลลาย พบเชื้อ *Pestalotiopsis* sp. และเชื้อราที่ยังไม่ทราบชนิดอีก 2 ชนิด หลังจากนั้นได้นำเชื้อราที่แยกได้ทั้ง 5 ชนิด มาทดสอบความสามารถในการเกิดโรคกับลำไย เพื่อหาเชื้อราสาเหตุที่แท้จริง โดยปลูกเชื้อบนผลลำไย พบว่าเชื้อรา isolate ที่ 5 (unknown 5) ทำให้เกิดอาการผลลาย บางผลเกิดอาการผลแตกและมีเชื้อราคลุมร่วมด้วย หลังจากปลูกเชื้อ 72 ชั่วโมง จึงสรุปได้ว่าเชื้อ isolate ที่ 5 (unknown 5) เป็นเชื้อราสาเหตุโรคผลลายของลำไย แต่จากการศึกษาของวสันต์ (2544) พบว่าเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค คือ เชื้อ *Pestalotiopsis* sp. ซึ่งได้มีการทดลองซ้ำหลาย ๆ ครั้งก็ไม่ปรากฏอาการผลลาย หรืออาการผลแตก ดังนั้นเชื้อ *Pestalotiopsis* sp. ไม่น่าจะเป็นเชื้อสาเหตุของโรคผลลาย

การทดลองเพื่อหาปัจจัยที่ทำให้เกิดอาการผลลาย โดยพ่นสารชีวภาพ และสารกำจัดเชื้อราต่าง ๆ ทั้ง 3 การทดลอง จากผลการทดลองที่ 1 ซึ่งเป็นลำไยในฤดู จะเห็นว่า ต้นที่ 1 และต้นที่ 4 ซึ่งเป็นลำไยพันธุ์สีชมพู มีความอ่อนแอต่อสารชีวภาพที่ใช้ในการทดลอง โดยทำให้ลำไยมีสีผิวคล้ำขึ้น ส่วนต้นที่ 2 ซึ่งเป็นพันธุ์แก้ว พบว่า สารสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ ทำให้ขนาดผลใหญ่ที่สุด และไม่ทำให้สีผิวผิดปกติ และต้นที่ 3 ซึ่งเป็นลำไยพันธุ์ค้อ พบว่าลำไยมีสีผิวปกติทุกกรรมวิธีที่ทดลอง แต่การทดลองนี้ไม่ได้ทำครบทั้ง 22 กรรมวิธีเนื่องจากข้อผลลำไยไม่เพียงพอ ผู้ทำการทดลองจึงเลือกสารชีวภาพ ที่เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้มาทำการทดลอง ส่วนผลการทดลองที่ 2 (แปลงที่ 1) เป็นลำไยนอกฤดู จะเห็นว่า สารชีวภาพบางชนิด ได้แก่ น้ำสกัดชีวภาพหอยเชอร์รี่ ชัคคาริน น้ำสกัดชีวภาพจากพืช โพลีซัคคาไรด์ และสารสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ+แมนโคเซบ ทำให้ลำไยมีสีผิวคล้ำถึงคล้ำมาก และการวัดขนาดผลพบว่า ไม่มีกรรมวิธีใดเลยที่ทำให้ขนาดผลมีขนาดใหญ่กว่าชุดควบคุม ซึ่งมีบางกรรมวิธีที่ทำให้ขนาดผลเท่ากับชุดควบคุม คือ ชัคคาริน, น้ำสกัดชีวภาพจากพืช, บุมอ๊ฟ พลัส, บุมอ๊ฟ พลัส + แมนโคเซบ, ไคฟีนโนโคนาโซล, สารสกัดจากสาหร่ายทะเล, สารสกัดจากสาหร่ายธรรมชาติ + แมนโคเซบ, ไซ-โปรโคนาโซล และซัลเฟอร์ ส่วนกรรมวิธีอื่น ๆ ทำให้ขนาดผลเล็กกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การทดลองนี้ได้พ่นสารไปเพียง 2 ครั้งเท่านั้น เนื่องจากขณะทำการทดลอง ลำไยมีขนาดผลโต หลังจากพ่นได้ 2 ครั้งก็เก็บเกี่ยวได้แล้ว สำหรับการทดลองที่ 3 (แปลงที่ 2) ซึ่งเป็นลำไยนอกฤดู ได้ทำการฉีดพ่น ในระยะติดผลจนถึงระยะเก็บเกี่ยว จำนวน 9 ครั้ง พบว่ามีเพียง 2 ชนิดที่ทำให้ลำไยมีสีผิวคล้ำ คือ น้ำสกัดชีวภาพหอยเชอร์รี่ และ โพลีซัคคาไรด์ จะเห็นว่าสารชีวภาพทั้ง 2 ชนิดนี้ทำให้สีผิวของลำไยคล้ำทั้งการทดลองที่ 2 และ 3 นอกจากนี้แล้วสารชีวภาพหอยเชอร์รี่ ยังทำให้ขนาดผลน้อยกว่าชุดควบคุมอีก ดังนั้นไม่ควรแนะนำให้เกษตรกรใช้ ฉะนั้นเกษตรกรควรพิจารณาเปรียบเทียบถึงข้อดีและข้อเสีย ก่อนทำการเลือกใช้สารชีวภาพด้วย เพราะนอกจากจะไม่เกิดประโยชน์ใด ๆ แล้ว ยังเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และสิ้นเปลืองแรงงานอีกด้วย

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรคผลลายในห้องปฏิบัติการ คือ unknown 5 และ isolate จากจันทบุรี โดยใช้สารกำจัดเชื้อราทั้งหมด 13

ชนิด (13 treatment) พบว่าสารกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ unknown 5 ได้ 100% คือ benomyl 50%WP, carbendazim 50%WP, procymidone 50%WP, tebuconazole 25%EW, difenoconazole 25%EC และ carbendazim 50%WP + benomyl 50%WP รองลงมาคือ carbendazim 50%F, cyproconazole 10%LS และ mancozeb 80%WP โดยยังพบการเจริญของเส้นใยของเชื้อราอยู่ แต่ละ treatment แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99% ส่วนเชื้อรา isolate จากจันทบุรี พบว่าสารกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100% คือ procymidone 50%WP และ tebuconazole 25%EW รองลงมาคือ difenoconazole 25%EC, cyproconazole 10%LS, fosetyl aluminium 80%WP และ propineb 70%WP สำหรับสารกำจัดเชื้อราชนิดอื่น ๆ พบว่ายังไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุ โรคผลตายได้ดีเท่าที่ควร และจากผลการทดลองเห็นว่า benomyl 50%WP, carbendazim 50%WP และ difenoconazole 25%EC สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา unknown 5 ได้ 100% แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา isolate จากจันทบุรี อาจเป็นไปได้ว่าเชื้อราจากจันทบุรีมีความรุนแรง และคือยามากกว่า เพราะที่จังหวัดจันทบุรีมีการใช้สารกำจัดเชื้อราหลายชนิด และจำนวนครั้งถี่มาก (จากคำบอกเล่าของเกษตรกร)

การทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคผลตายในสภาพสวน ได้ทำการทดลองที่อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี พบว่าไม่พบการระบาดของโรคในทุกกรรมวิธีที่ทำการทดลอง รวมทั้งชุดควบคุมด้วย ทั้งนี้อาจเกิดจากการหนีโรค (disease escape) หรืออาจเกิดจากสภาพแวดล้อมขณะทำการทดลองไม่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

จากการศึกษาเบื้องต้นทราบว่า มีเชื้อราที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา คล้ายกับเชื้อราสาเหตุโรคผลตาย คือ ลักษณะเส้นใยมีผนังกัน แดกกิ่งก้านเป็นมุมฉาก และไม่สร้างสปอร์ อยู่ในพืชชนิดอื่นด้วย และได้ทำการแยกเชื้อ จากมะม่วง และฝรั่ง ที่แสดงอาการของโรคผลเน่า และเชื้อราที่แยกจากโรคใบไหม้ของลำไย จากรายงานของจริยา และคณะ (2542) และ ศิริพร (2544) ได้ทำการแยกเชื้อสาเหตุอาการใบไหม้ พบว่าเส้นใยของเชื้อราที่เจริญมีลักษณะคล้ายเส้นใยของเชื้อ *Rhizoctonia* sp. ไม่สร้างสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลานาน ๆ มีการรวมตัวของเส้นใยเป็นกลุ่ม ๆ จัดอยู่ในกลุ่ม *Mycelia sterilia* และลักษณะดังกล่าว คล้ายกับลักษณะเฉพาะของเชื้อราในสกุล *Rhizoctonia* คือ เส้นใยมีการแตกแขนงใกล้ผนังกันด้านปลาย (distal septum) เกิดรอยคอด (constriction) และผนังกันเป็นแบบ dolipore และไม่พบ clamp connection, conidia, rhizomorph หรือ sclerotia ใด ๆ ทั้งสิ้น (Sneh *et al.*, 1991) จึงได้ทำการแยกเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ที่จากโรคการใบเน่าของข้าว เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาดังนั้นจึงนำเชื้อทั้งหมด 5 isolate (เชื้อราจากมะม่วง, ฝรั่ง 2 isolate, ใบไหม้ของลำไย และ *Rhizoctonia solani*) มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับลำไย เปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคผลตายของลำไย (unknown 5 และ isolate จากจันทบุรี) โดยปลูกเชื้อบนผลลำไย พบว่า เชื้อราที่ทำให้เกิดอาการผลตาย คือ isolate จากมะม่วง และฝรั่ง isolate ที่ 2 หลังจากปลูกเชื้อ 72 ชั่วโมง ซึ่งเชื้อรา isolate

จากจันทบุรี มีอาการผลเน่า และร่วง อยู่ในถุงพลาสติกที่ห่อไว้ ส่วนเชื้อราอื่น ๆ ไม่แสดงอาการผลลาย ซึ่งมี culture ของเชื้อแห้งอยู่ที่ผิวของผลลำไย จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่า เชื้อราที่ทำให้เกิดโรคผลลายกับลำไย มีหลายชนิด และพบได้ในพืชชนิดอื่นด้วย

จากการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของเชื้อรา โดยการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์ ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก ไม่สิ้นเปลืองเวลาในการศึกษามากนัก และสามารถตรวจสอบผลซ้ำได้อีกด้วย (Cerozo *et al.*, 1989; Crawford, 1983) โดยนำเชื้อราทั้ง 5 ชนิด คือ เชื้อรา isolate จากมะม่วง, ฝรั่ง isolate ที่ 2, unknown 5, isolate จากจันทบุรี ซึ่งเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคผลลายกับลำไย และ เชื้อรา *Rhizoctonia solani* มาศึกษารูปแบบไอโซไซม์ ซึ่งการศึกษาโดยใช้เทคนิคทางอิมมูโนโมเลกุลของเชื้อในสกุล *Rhizoctonia* ส่วนใหญ่กระทำในกลุ่มของ *R. solani* เนื่องจากเป็นกลุ่มที่เข้าทำลายพืชเศรษฐกิจที่สำคัญเป็นจำนวนมาก (Masuhara *et al.*, 1994) เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อเหล่านี้มีความสัมพันธ์กัน หรือเป็นเชื้อเดียวกันหรือไม่ โดยใช้ ไอโซไซม์ esterase พบว่า เชื้อราทั้งหมดปรากฏรูปแบบของแถบสีไม่เหมือนกัน คือ isolate จากฝรั่งปรากฏแถบสี 7 แถบ เชื้อรา isolate จากมะม่วงปรากฏแถบสี 6 แถบ unknown 5 ปรากฏแถบสี 3 แถบ และเชื้อรา isolate จากจันทบุรี ปรากฏแถบสี 12 แถบ แสดงว่าเชื้อราเหล่านี้ มีความแตกต่างกัน ซึ่งต้องมีการศึกษาโดยใช้วิธีอื่นที่เหมาะสม และเฉพาะเจาะจงต่อไป เช่น การศึกษาลายพิมพ์ DNA เป็นต้น โดยอาจมีความแตกต่างกันในระดับสายพันธุ์ สปีชีส์ หรือจีโนสได้

จากรายงานของ Masuhara *et al.* (1994) ได้ศึกษารูปแบบของ pectic zymogram ในการจัดกลุ่มรา binucleate *Rhizoctonia* พบว่ารูปแบบของเอนไซม์ดังกล่าวมีความผันแปรค่อนข้างมาก โดยเชื้อ AG-F ที่ศึกษามีรูปแบบเอนไซม์ถึง 7 รูปแบบ จากตัวอย่าง 11 ไอโซเลท และ AG-I มี 5 รูปแบบ จากตัวอย่าง 12 ไอโซเลท นอกจากนี้ยังพบว่า tester strain ของญี่ปุ่น (AG) และของสหรัฐอเมริกา (CAG) ที่รายงานว่าเป็นเชื้อในกลุ่มเดียวกันก็มีรูปแบบเอนไซม์ต่างกันด้วย นอกจากนี้การศึกษาด้านโมเลกุล ได้แก่ รายงานของ Cubeta *et al.* (1991) ที่ศึกษาดีเอ็นเอในช่วง 28S rDNA แล้วนำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 4 ชนิด คือ *HhaI*, *HpaII*, *Sau3A1* และ *TaqI* สามารถแยก tester strain ทั้งหมด 64 ไอโซเลท (21 AG) ออกเป็น 20 กลุ่ม ในจำนวนนี้มี 13 กลุ่มที่สมาชิกภายในกลุ่มเป็นเชื้อใน AG เดียวกันทั้งหมด และไม่พบความแปรปรวนของรูปแบบดีเอ็นเอภายใน AG เดียวกัน และไกรวุฒิ (2545) ได้แยกความแตกต่างของเชื้อรา *Rhizoctonia* สาเหตุโรคน้ำของสตรอเบอรี่โดยใช้เทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยสกัดและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของ 28S rDNA ด้วยเทคนิค PCR แล้วนำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 4 ชนิด (*HhaI*, *MboI*, *MspI* และ *TaqI*) พบว่า แต่ละเอนไซม์ไม่สามารถแยกเชื้อที่อยู่ต่าง AG ออกจากกันได้ แต่เมื่อนำข้อมูลทั้ง 4 เอนไซม์มาวิเคราะห์ร่วมกันพบว่า สามารถแบ่งตัวอย่างทั้ง 75 ไอโซเลทออกเป็น 12 กลุ่ม ซึ่งตรงกับกรจำแนกออกเป็น AG

อย่างไรก็ตามการศึกษาดังนี้สามารถ หาสาเหตุของโรคผลลายได้ คือเชื้อรา unknown 5 ซึ่งอาจเป็นเพียงสาเหตุหนึ่งของอาการผลลาย ผลแตกของลำไยเท่านั้น โรคนี้อาจมีสาเหตุหลายประการ

ซึ่งขจรศักดิ์ และคณะ (2542) ได้ทำการศึกษาโรคใบไหม้ของลำไย พบว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF4 ซึ่งระบาดในฤดูฝน เกษตรกรเรียกโรคนี้อีกว่า โรคราน้ำฝน ทำให้ใบอ่อนและยอดอ่อนของลำไยมีอาการเน่าดูกลาม ใบไหม้และยอดไหม้เป็นสีน้ำตาลคล้ำ ใบอ่อนที่ถูกทำลายจะร่วง ในช่วงที่มีอากาศชุ่มชื้น จะเห็นมีราสีขาวฟูขึ้นบนใบ และกิ่งอ่อน นอกจากนี้ยังทำให้ผลลำไยมีอาการผลเน่า ผลร่วง และมีอาการผลแตกร่วมด้วย

สำหรับเชื้อราสาเหตุโรคผลลาย (unknown 5) ควรมีการศึกษาต่อไป เพื่อให้ทราบชื่อ และชนิดของเชื้อราที่ถูกต้อง