รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. แผนงานวิจัย : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตผลเกษตร

2. โครงการวิจัย : การลดความสูญเสียในผลิตผลเกษตรจากโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีปลอดภัย

กิจกรรมที่ 4 : การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวโดยผสมผสานวิธีการ

3. ชื่อการทดลองที่ 4.4 : ศึกษาผลของสารกลุ่มปลอดภัยร่วมกับน้ำร้อนต่อการควบคุมและกลไกการควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของส้มจากเชื้อรา *Penicillium digitatum*

ชื่อการทดลองที่ 4.4 : Effect of Generally Recognized as Safe (GRAS) with hot water treatment on control and control mechanism of citrus green mould rot caused *Penicillium digitatum*

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : นางสาววีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย กวป.

ผู้ร่วมงาน : นางสาวบุญญวดี จิระวุฒิ กวป.

ผู้ร่วมงาน : นางรัตตา สุทธยาคม กวป.

5. บทคัดย่อ

โรคผลเน่าสีเขียวของส้มที่เกิดจากเชื้อรา *Penicillium digitatum* เป็นโรคมีความสำคัญที่ก่อให้เกิดการสูญเสียหลังเก็บเกี่ยวเป็นอย่างมาก การควบคุมโรคผลเน่าส่วนใหญ่ยังคงใช้สารเคมีซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อม วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อหาสารกลุ่มปลอดภัยที่ควบคุมโรคผลเน่าของส้ม โดยทดสอบประสิทธิภาพสารปลอดภัย ในการควบคุมโรคผลเน่าของส้ม 2 ชนิด คือ กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 0.01% 0.05% และ 0.10% และโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1.00% 2.00% และ 3.00% เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ไม่ผสมสาร (กรรมวิธีควบคุม) และสารเคมีโพรคลอราซ พบว่ากรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 0.10% และโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 2.00% และ 3.00% สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *P. digitatum* ของส้มได้ 100% ในขณะที่อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ผสมสาร (กรรมวิธีควบคุม) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *P. Digitatum* ได้ ส่วนสารเคมีโพรคลอราซ ความเข้มข้น 0.025% สามารถยับยั้งเส้นใยได้ 65.79% และยับยั้งสปอร์ได้เมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง ยับยั้งได้ 100% แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง ไม่สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ได้

คำหลัก: ส้ม, สารปลอดภัย

Abstract

Green mold caused by *Penicillium digitatum* is considered to be the main postharvest pathogen of citrus fruit. Currently, control post harvest diseases in mainly dependent on the use of chemical fungicide, that is becomeing increasingly restricted because of environment and health concern. The objective of this study generally recognized as safe (GRAS) was

กรมวิชาการเกษตร

evaluated to control postharvest decay of citrus fruit. The effectiveness of 2 substances generally recognized as safe (GRAS) including salicylic acid at of 0.01% 0.05% and 0.10% and sodium bicarbonate at of 1.00% 2.00% 3.00% were *in vitro* tested to inhibit the growth of *P. digitatum*, compared to potato dextrose agar (control) and a synthetic fungicide (positive control). *In vitro* experiment, salicylic acid at concentrations of 0.10% and sodium bicarbonate at concentrations of 2.00% and 3.00% to inhibited the mycelial growth and spore germination at 100%. Whereas control treatment show not inhibited the mycelial growth and spore germination. Afterthat, prochloraz at concentrations of 0.025% to inhibited the mycelial growth at 65.79% and inhibited spore germination of *Penicillium digitatum* on potaoto dextrose agar after incubation for 12 hours at 100% but after incubation for 36 hours not inhibit spore germination

Keywords: citrus, Generally Recognized as safe

6. คำนำ

ส้มเป็นผลไม้เศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย เพื่อบริโภคภายในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศ บ่อยครั้งพบว่า ส้มเกิดการเน่าเสียเนื่องจากเชื้อรา *Penicillium* spp. หรือเรียกว่าโรคเน่าราเขียว ซึ่งเป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญของพืชตระกูลส้ม โรคเน่าราเขียวสามารถแพร่ระบาดจากผลหนึ่งไปสู่อีกผลหนึ่งได้โดยการสัมผัสระหว่างผลที่ปกติกับผลที่เป็นโรค แม้ว่าจะพบอาการเฉพาะที่เปลือกเท่านั้น แต่คุณภาพของเนื้อและน้ำในผลส้มจะเสียไปด้วย การควบคุมโรคภายหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้ที่ใช้กันอยู่โดยทั่วไปในปัจจุบัน คือ การใช้สารเคมี เช่น สารเคมีโพรคลอราซ และคาร์เบนดาซิม ซึ่งพบรายงานการตกค้างในผลผลิตส้ม (เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีศัตรูพืช, 2559) นอกจากจะเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมแล้ว มักเป็นข้อจำกัดของการส่งออกผลไม้ ปัจจุบันผู้บริโภคมีความห่วงใยต่อสุขภาพและความปลอดภัยในการบริโภคสินค้าเกษตรมากขึ้น การเลือกใช้สารเคมีสารกลุ่มปลอดภัย (Generally Recognized As Safe, GRAS) เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีที่มีอันตรายจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างมาก สารกลุ่มปลอดภัยนำมาใช้ในงานวิจัยครั้งนี้มี โซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate: SBC) เป็นสารเคมีในกลุ่มสารปลอดภัยที่ให้ผลดีในการควบคุมโรคเน่าราสีเขียวจากเชื้อ *Penicillium digitatum* ที่เข้าทำลายผลส้มเปลือกหนา (Smilanick *et al*., 1999; Montesinos-Herrero *et al*., 2009) และยังใช้กรดซาลิไซลิก (salicylic acid) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอล มีผลต่อกระบวนการเจริญของพืช เช่น การปิดเปิดของปากใบ การงอกของเมล็ด เป็นต้น นอกจากนี้กรดซาลิไซลิกยังเกี่ยวข้องกับกลไกของการชักนำความต้านทานในพืช (Castafier *et al*., 1997)

นอกจากการใช้สารกลุ่มที่ปลอดภัย แล้วยังมีวิธีการใช้ความร้อนซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพปลอดภัยไม่มีสารพิษตกค้าง สามารถปฏิบัติได้ง่าย และค่าใช้จ่ายไม่สูงมาก (สายชล, 2528) การจุ่มในน้ำร้อนทำให้ผลไม้ได้รับความร้อนในระดับเดียวกันได้ทั่วถึง เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคจากเชื้อรา เนื่องจากสปอร์ของเชื้อราและการเข้าทำลายแบบแฝงจะอยู่ที่ชั้นผิว การจุ่มผลิตผลในน้ำร้อนใช้เวลาสั้นๆ ก็เพียงพอในการควบคุมโรค

ส้มจัดอยู่ในกลุ่มไม้ผลที่มีถิ่นกำเนิดในเขตกึ่งหนาวจึงทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดีกว่ากลุ่มไม้ผลที่มีถิ่นกำเนิดในเขตหนาว (Couey, 1989) ระดับน้ำร้อนที่มีประสิทธิภาพคือ 46-60 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลา 3 วินาทีถึง 10 นาที ความร้อนที่ใช้ต้องไม่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช (Ames, 1915; Barkai-Golan and Phillips, 1991) วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาชนิดของสารกลุ่มปลอดภัยและความร้อนที่เหมาะสมในการควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของส้มจากเชื้อรา *Penicillium digitatum* ซึ่งเป็นอีกทางเลือกในการทดแทนการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราที่เป็นอันตรายต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรดซาลิไซลิก โซเดียมไบคาร์บอเนต สารเคมีโพรคลอราซ
2. เอทิล แอลกอฮอล์ (ethyl alcohol)
3. ตู้เขี่ยเชื้อ ยี่ห้อ Hitashi รุ่น CCV-881
4. จานเลี้ยงเชื้อ พาราฟิล์ม
5. หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HA30
6. อาหารเลี้ยงเชื้อรา potato dextrose agar (PDA)
7. กล้องจุลทรรศน์ (light microscope) ยี่ห้อ Olympus รุ่น H52601
8. ไมโครปิเปตต์ (micropipette) และ ไมโครปิเปตต์ทิป (micropipette tip)

วิธีการ

1. แยกเชื้อและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคผลเน่าของส้ม

เก็บตัวอย่างผลส้มที่เน่าเสียหลังเก็บเกี่ยวมาแยกเชื้อราสาเหตุโรค ด้วยวิธี tissue transplanting method บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนเชื้อราเจริญออกจากเนื้อเยื่อ ย้ายชิ้นส่วนของเส้นใยดังกล่าว ไปเลี้ยงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร potato dextrose agar (PDA) อีกครั้งเพื่อแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นจำแนกชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของส้ม เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัย (GRAS) ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของส้มในห้องปฏิบัติการ

2.1 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัยต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัย ด้วยวิธี Poisoned food technique เตรียมอาหาร เลี้ยงเชื้อ PDA ผสมกับสารกลุ่มปลอดภัย 2 ชนิด คือ กรดซาลิไซลิก และโซเดียมไบคาร์บอเนต ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ผสมสาร (กรรมวิธีควบคุม) และสารเคมีโพรคลอราซ ความเข้มข้น 0.025% เทอาหารที่ผสมสารลงในจานเลี้ยงเชื้อ รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง จากนั้นหยดสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของส้มจำนวน 5 ไมโครลิตร ตรงกลางผิวหน้าอาหาร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design: CRD) เปรียบเทียบ 8 กรรมวิธี จำนวน 8 ซ้ำ

ศรีปทุมการเกษตร

กรรมวิธีที่ 1 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ผสมสาร (กรรมวิธีควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 กรดซาลิไซลิกเข้มข้น 0.01%

กรรมวิธีที่ 3 กรดซาลิไซลิกเข้มข้น 0.05%

กรรมวิธีที่ 4 กรดซาลิไซลิกเข้มข้น 0.10%

กรรมวิธีที่ 5 โซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้น 1.00%

กรรมวิธีที่ 6 โซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้น 2.00%

กรรมวิธีที่ 7 โซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้น 3.00%

กรรมวิธีที่ 8 สารเคมีโพรคลอราซ 0.025%

<u>บันทึกข้อมูล</u> การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (%) โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์ของการยับยั้งการเจริญของเส้นใย= [(A – B) / A] x 100

A คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA (กรรมวิธีที่ 1 ควบคุม)

B คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ผสมสารกรรมวิธีที่ 2-8

2.2 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัยในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา

เตรียมอาหารที่ผสมสารทั้ง 8 กรรมวิธี (กรรมวิธีเช่นเดียวกับข้อ 2.1) เทลงในจานเลี้ยงเชื้อ รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง จากนั้นหยดสปอร์แขวนลอย ความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของส้ม 5 ไมโครลิตร บนผิวหน้าอาหาร 8 จุด บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 8 กรรมวิธี จำนวน 8 ซ้ำๆ 8 จุด

<u>บันทึกข้อมูล</u> ลักษณะการงอกของสปอร์ของเชื้อราและตรวจนับเปอร์เซ็นต์ของการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของส้ม ในแต่ละกรรมวิธีด้วยกล้องจุลทรรศน์ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการยับยั้งการงอกของสปอร์โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์ของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา = [(A – B) / A] x 100

A คือค่าเฉลี่ยของการงอกของสปอร์เชื้อราบนอาหาร PDA (กรรมวิธีที่ 1 ควบคุม)

B คือค่าเฉลี่ยของการงอกของสปอร์เชื้อราบนอาหาร PDA ผสมสารกรรมวิธีที่ 2-8

คัดเลือกระดับความเข้มข้นของสารกลุ่มปลอดภัย ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราโรคผลเน่าของส้มได้อย่างสมบูรณ์ (100%) เพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพของการใช้สารกลุ่มปลอดภัย ในการควบคุมโรคผลเน่าบนผลส้มในการทดลองต่อไป

เวลาและสถานที่ - ระยะเวลาตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2563 - 30 กันยายน 2563

- สถานที่ดำเนินการ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. แยกเชื้อและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคผลเน่าของส้ม

จากการเก็บตัวอย่างส้มที่แสดงอาการโรคผลเน่าจากตลาด โดยดูจากลักษณะอาการเริ่มต้นคือแผลจะ

กรมวิชาการเกษตร

ฉ่ำน้ำ ต่อมาแผลจะขยายขนาดออกมีการสร้างกลุ่มของโคนีเดียสีเขียวบริเวณแผล เมื่อนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าลักษณะโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีเขียวเสนใยฝงอยู่ในอาหาร เจริญช้า เมื่อส่องโคโลนีภายใต้กล้องสเตอริโอจะเห็นโคนิดิโอฟอรเกิดขึ้นอยางหนาแนน ทำให้ผิวหนาโคโลนี มีลักษณะคลายกำมะหยี จากนั้นจำแนกลักษณะต่างๆภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าโคนิดิโอฟอรเปนแบบแตกกิ่งกานเปน 1-3 ชั้น สวนปลายกานโคนิดิโอฟอรแตกแขนงเปนไฟอะลายด์หรือเมตูเล มีลักษณะเปนลูกชมพูให้กำเนิดโคนิเดียเรียกวาไฟอะโลสปอรรูปรางกลม เกิดตอกันเปนโซยาว ซึ่งตรงกับลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา *Penicillium digitatum* (Pitt and Hocking, 1997) (Figure 1)

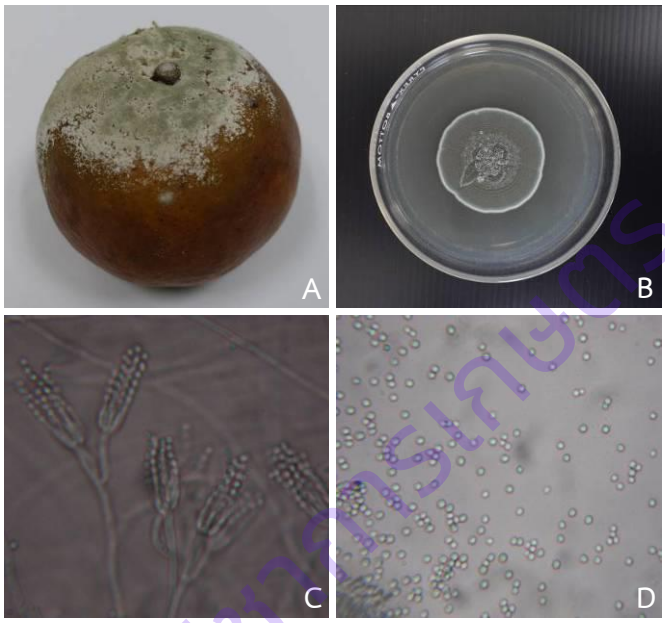

Figure 1 Green mould rot of citrus caused by *Penicillium digitatum*

A. symptom green mould of citrus B. colony of *P. digitatum*

C. conidiophores and phialide of *P. digitatum* D. conidia of *P. digitatum*

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัย (GRAS) ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของส้มในห้องปฏิบัติการ

2.1 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัยต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

สารกลุ่มปลอดภัย 2 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Penicillium digitatum* ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรดซาลิไซลิกความเข้มข้น 0.10% โซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 2.00 และ 3.00% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. digitatum* ได้ 100.00% รองลงมาคือ โซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1.00% ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. digitatum* ได้ 70.84% เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ผสมสาร (กรรมวิธีควบคุม) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. digitatum* ได้ ในขณะที่สารเคมีโพรคลอราซ ความเข้มข้น 0.025% ยับยั้งเส้นใยเชื้อราได้เพียง 65.79%

กรมวิชาการเกษตร

(Table 1, Figure 2) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของบุญญวดี และคณะ (2554) พบว่ากรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 0.10% สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และ *Colletotrichum musae* ได้ 100.00 % ในกล้วยหอมทอง นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้กรดซาลิไซลิกว่าสามารถยับยั้งสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรคในพืชอื่น เช่นแอปเปิ้ล โดยใช้กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ (0.035%) สามารถยับยั้งการงอกของเชื้อรา *Penicillium expansum* สาเหตุโรคผลเน่าสีน้ำเงินของแอปเปิ้ล ได้ 90% เนื่องจากกรดซาลิไซลิกจะไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของสปอร์เชื้อราทำให้มีการรั่วไหลของโปรตีน (Rocha *et al.*, 2015) และยังสามารถจับกับโปรตีนที่ทำหน้าที่สลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ภายในเซลล์ทำให้เกิดการสะสมสารเหล่านี้อยู่เป็นจำนวนมากภายในเซลล์ ส่งผลต่อกระบวนการงอกของสปอร์เชื้อราได้ (Chen *et al.*, 1993) ในขณะที่โซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นด่าง มีส่วนประกอบคือโซเดียมและไบคาร์บอเนต ซึ่งในโซเดียมหรือเกลือนั้นมีความเป็นพิษต่อเชื้อจุลินทรีย์โดยตรง ทำให้เกิด Dehydration ของเซลล์ เป็นเหตุให้เซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์เกิดการเสียน้ำอย่างแรง (plasmolysis) เชื้อจุลินทรีย์จึงหยุดการเจริญเติบโต (กล้าณรงค์, 2521)

Table 1 Efficacy of GRAS substances in the inhibition of mycelial growth of *Penicillium digitatum* on potaoto dextrose agar (PDA) after incubation for 10 days

Treatment	Inhibition of mycelia growth (%)[(1)]
control (PDA)	0.00 e
0.01% salicylic acid	2.21 e
0.05% salicylic acid	10.81 d
0.10% salicylic acid	100.00 a
1.00% sodium bicarbonate	70.84 b
2.00% sodium bicarbonate	100.00 a
3.00% sodium bicarbonate	100.00 a
0.025% prochloraz	65.79 c
CV (%)	4.06

[(1)] Mean in the same column, followed by a common letter(s) are not significantly different at the 5% level by DMRT

กรมวิชาการเกษตร

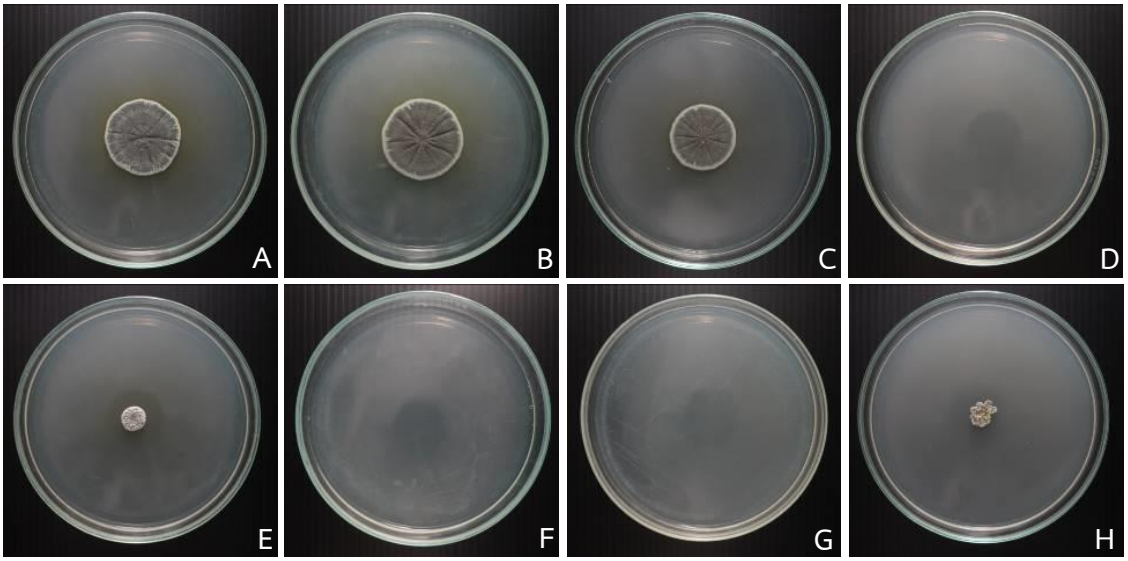

Figure 2 Efficacy of GRAS substances in the inhibition of mycelial growth of *Penicillium digitatum* on potato dextrose agar (PDA) after incubation for 10 days

A. control (PDA) B. 0.01% salicylic acid

C. 0.05% salicylic acid D. 0.10% salicylic acid

E. 1.00% sodium bicarbonate F. 2.00% sodium bicarbonate

G. 3.00% sodium bicarbonate H. 0.025% prochloraz

2.2 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัยต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา

ประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัย 2 ชนิดคือ กรดซาลิไซลิกและโซเดียมไบคาร์บอเนต ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *P. digitatum* โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าให้ผลไปในทิศทางเดียวกับการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา โดยกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 0.10% โซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1.00 2.00 และ 3.00% และสารเคมีโพรคลอราซ ความเข้มข้น 0.025% สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. digitatum* ได้ 100.00% เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ผสมสาร (กรรมวิธีควบคุม) ซึ่งไม่สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *P. digitatum* ได้ วัดขนาดความยาวของเส้นใยที่งอกจากสปอร์ (germ tube) ได้ 33.25 ไมครอน ในขณะที่กรดซาลิกไซลิก ความเข้มข้น 0.01 และ 0.05% ไม่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้เช่นกันแต่มีความยาวของเส้นใยที่งอกจากสปอร์ (germ tube) สั้นกว่ากรรมวิธีควบคุม วัดความยาวของ germ tube ได้ 31.40 และ 15.25 ไมครอน ตามลำดับ (Table 2, Figure 3) และจากการสังเกตุสปอร์ของเชื้อรา *P. digitatum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA) ที่ผสมโซเดียมไบคาร์บอเนต 1.00% และอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA) ที่ผสมสารเคมีโพรคลอราซ 0.025% พบว่า ขนาดของสปอร์ของเชื้อรา *P. digitatum* มีขนาดใหญ่กว่าเดิม จึงทำการศึกษาต่อในชั่วโมงที่ 36 พบว่าสปอร์ของเชื้อรา *P. digitatum* ในโซเดียมไบคาร์บอเนต 1.00% และสารเคมีโพรคลอราซ 0.025% สามารถงอกความยาวของเส้นใยที่งอกจากสปอร์ (germ tube) ได้ ในขณะที่กรด

กรมวิชาการเกษตร

ซาลิไซลิก 0.10% และโซเดียมไบคาร์บอเนต 2.00% และ 3.00% ไม่พบการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. digitatum* (Figure 4) ให้ผลไปในทิศทางเดียวกับผลการทดลองในข้อ 2.1 คือ กรดซาลิไซลิก 0.10% และโซเดียมไบคาร์บอเนต 2.00% และ3.00% สามารถการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P.digitatum* ได้ 100.00 %

จากผลการทดลองที่ 2 สามารถคัดเลือกสารกลุ่มปลอดภัย ได้แก่ กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 2.00% และ 3.00% ซึ่งสารกลุ่มปลอดภัยนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *P. digitatum* ของส้มได้อย่างสมบรูณ์ (100%)

Table 2 Efficacy of GRAS substances in the inhibition of spore germination of *Penicillium digitatum* on potaoto dextrose agar (PDA) after incubation for 12 hours

Treatment	Inhibition of spore germination(%) [(1)]	Germ tube (micron) [(1)]
control (PDA)	0.00	33.25 a
0.01% salicylic acid	0.00	31.40 b
0.05% salicylic acid	0.00	15.25 c
0.10% salicylic acid	100.00	0.00 d
1.00% sodium bicarbonate	100.00	0.00 d
2.00% sodium bicarbonate	100.00	0.00 d
3.00% sodium bicarbonate	100.00	0.00 d
0.025% prochloraz	100.00	0.00 d
CV (%)	-	12.73

[(1)] Mean in the same column, followed by a common letter(s) are not significantly different at the 5% level by DMRT

กรมวิชาการเกษตร

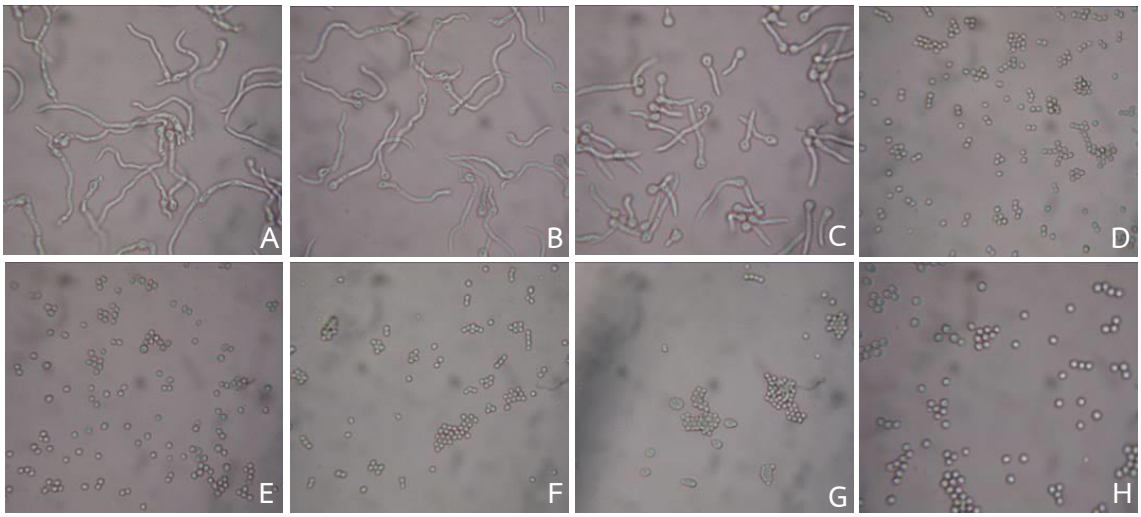

Figure 2 Efficacy of GRAS substances in the inhibition of spore germination of *Penicillium digitatum* on potato dextrose agar (PDA) after incubation for 12 hours (40 X)

A. control (PDA)
B. 0.01% salicylic acid
C. 0.05% salicylic acid
D. 0.10% salicylic acid
E. 1.00% sodium bicarbonate
F. 2.00% sodium bicarbonate
G. 3.00% sodium bicarbonate
H. 0.025% prochloraz

กรมวิชาการเกษตร

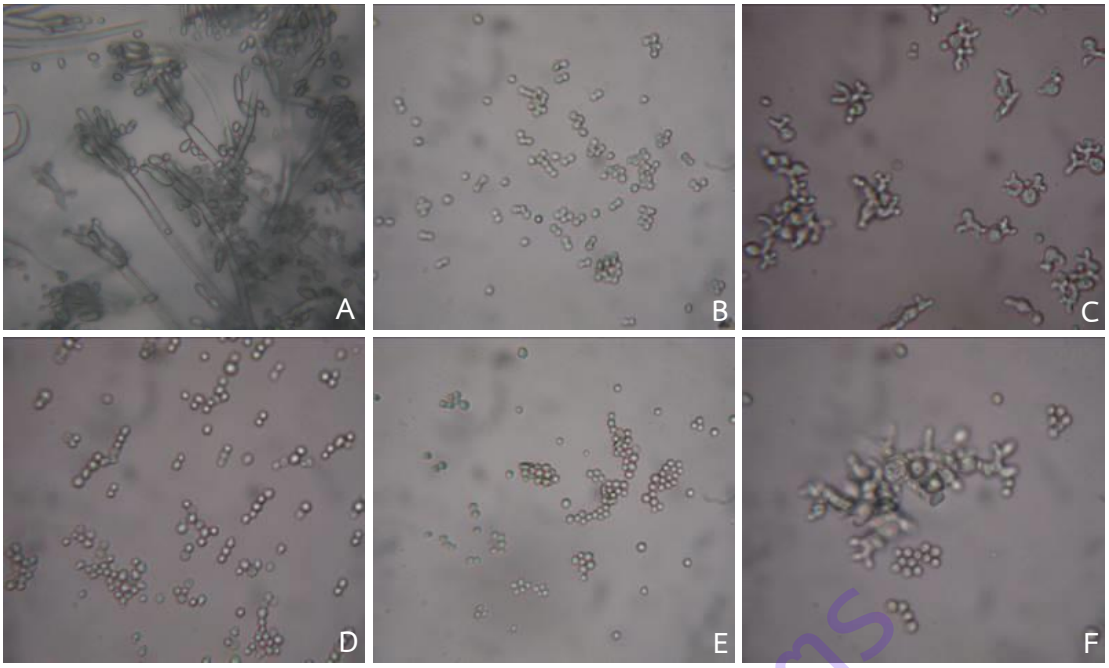

Figure 3 Efficacy of GRAS substances in the inhibition of spore germination of *Penicillium digitatum* on potato dextrose agar (PDA) after incubation for 36 hours (40 X)

A. control (PDA) B. 0.10% salicylic acid

C. 1.00% sodium bicarbonate D. 2.00% sodium bicarbonate

E. 3.00% sodium bicarbonate F. 0.025% prochloraz

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ทดสอบประสิทธิภาพสารปลอดภัย (GRAS) สองชนิดคือกรดซาลิไซลิกและโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในยับยั้งการเจริญของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *P. Digitatum* พบว่ากรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 2.00% และ 3.00% สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *P. Digitatum* สาเหตุโรคผลเน่าของส้มได้อย่างสมบรูณ์ (100%)

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เกษตรกรสามารถนำไปใช้ในการเป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อหาแนวทางในการป้องกัน เพิ่มคุณภาพของสินค้าให้มีมาตรฐาน และปลอดภัยต่อผู้บริโภค

11. คำขอบคุณ

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ที่ช่วยให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

กรมวิชาการเกษตร

12. เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอต. 2521. เกลือ คุณสมบัติและการใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 49 น.

เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช. 2559. สถานการณ์การนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืช การใช้และการตกค้างในผลผลิต. แหล่งที่มา: https://www.thaipan.org/sites/default/files/conference2559/pesticide_conference_2559_1.3.pdf, 25 กุมภาพันธ์ 2564

บุญญวดี จิระวุฒิ สุภา อโนธารมณ์ และรัตตา สุทธยาคม. 2554. การควบคุมโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอมหลังการเก็บเกี่ยว. น. 101-114. *ใน* : การประชุมวิชาการ วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ปี 2554 กรมวิชาการเกษตร.

สายชล เกตุษา. 2528. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังเก็บเกี่ยวผักผลไม้. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Amborabe, B. E., P. F. Lessard, J. F. Chollet and G. Roblin. 2002. Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: structure-activity relationship. Plant Physiol. Biochem. 40: 1051-1060.

Ames, A. 1915. The temperature relations of some fungi causing storage rots. Phytopathol**.** 5: 11-19.

Barkai-Golan, R. and D. J. Phillips. 1991. Postharvest heat treatment of fresh fruits and vegetables for decay control. Plant Dis**.** 75: 1085-1089.

Castafier, M., M. I. Gil and F. Artes. 1997. Organic acids as browning inhibitors on harvested “Baby” lettuce and endive. Z. Lebensm. Unters. Forsch. A 205: 375-379.

Chen, Z., H. Silva and D. F. Klessig. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. Science 262(5141): 1883-1886.

Couey, M. H. 1989. Heat treatment for control of postharvest disease and insect pests of fruit. Hort Sci**.** 24: 198-202.

Montesinos-Herrero, C., M. Ángle del Río, C. Pastor, O. Brunetti and L. Palou. 2009. Evaluation of brief potassium sorbate dips to control postharvest *penicillium* decay onmajor citrus species and cultivars. Postharvest Biol. Technol. 52: 117-125.

Pitt, J. I. and Hocking, A. D. 1997. Fungi and Food Spoilage. 2nd ed. London, Blackie Academic and Professional.

Rocha, N., C. Argus, M. Maraschin and R. M. Di Piero. (2015). Antifungal activity of salicylic acid against *Penicillium expansum* and its possible mechanisms of action. International Journal of Food Microbiology 215: 64-70.

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

Smilanick, J. L., D. A. Margosan, F. M. Gabler, J. Usall and I. F. Michael. 1999. Control of citrus green mold by carbonate and bicarbonate salts and the influence of commercial postharvest practices on their efficacy. Plant Dis. 83: 139-145.

กรมวิชาการเกษตร