รายงานโครงการวิจัย

โครงการวิจัยการจัดการโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวโดยไม่ใช้สารเคมี

Post-harvest Diseases and Mycotoxins Management in Agricultural Commodities without Hazardous Chemicals

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์

Chawalert Trikarunasawat

ปี พ.ศ. ๒๕๕๙

รายงานโครงการวิจัย

โครงการวิจัยการจัดการโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวโดยไม่ใช้สารเคมี

Post-harvest Diseases and Mycotoxins Management in Agricultural Commodities without Hazardous Chemicals

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์

Chawalert Trikarunasawat

ปี พ.ศ. ๒๕๕๙

คำปรารภ

ผลิตผลจากในภาคการเกษตรถือว่าเป็นส่วนที่สำคัญของผลิตภัณฑ์มวลรวมของประเทศไทย เนื่องด้วยการเกษตรเป็นอาชีพหลักของประชากรในประเทศ เกษตรกรทำการเพาะปลูกเพื่อให้ได้มาซึ่งผลิตผลและต้องการผลผลิตที่ดี มีคุณภาพ และในปริมาณที่น่าพึงพอใจ รวมไปถึงผู้ประกอบการที่เกี่ยวข้องที่รับเอาผลิตผลแล้วส่งผ่านกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวต่อเนื่องจนถึงผู้บริโภค แต่ละฝ่ายต่างก็ให้ความสำคัญกับคุณภาพและการลดการสูญเสียของผลผลิต ไม่ว่าจะเป็นความเสียหายที่เกิดจากโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว หรือการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา ด้วยการนำเอาวิธีปฏิบัติที่ดี ปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค มีความเหมาะสมกับกระบวนการผลิตหลังการเก็บเกี่ยว มาใช้ในการควบคุมโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวหรือการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา เพื่อคงคุณภาพและการลดการสูญเสียของผลผลิต ทำให้จำเป็นต้องมีการวิจัยและพัฒนาวิธีการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร โดยนักวิชาการสาขาต่างๆ ให้ได้เทคโนโลยีที่เหมาะสม ปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค เพื่อนำมาใช้ปรับปรุงกระบวนการผลิต คณะผู้ร่วมวิจัยตระหนักถึงความจำเป็นดังกล่าว จึงกำหนดวัตถุประสงค์ในการดำเนินโครงการฯ คือ “เพื่อศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว การปนเปื้อนจุลินทรีย์และสารพิษจากเชื้อรา ในผลิตผลเกษตร โดยไม่ใช้สารกำจัดศัตรูพืช”

รายงานโครงการวิจัยฉบับนี้ จัดทำขึ้นโดยการรวบรวมและสรุปผลการดำเนินงานโครงการวิจัย เรื่อง “การจัดการโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวโดยไม่ใช้สารเคมี” ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของแผนงานวิจัย “การลดการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลังเก็บเกี่ยว” ดำเนินการในช่วงปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๔ – ๒๕๕๘ ในโครงการฯ ประกอบไปด้วย ๕ กิจกรรม ๒๓ การทดลอง งานทดลองส่วนใหญ่ดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการของกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร และในสถานที่ประกอบการของภาคเอกชนหลายแห่ง ในการดำเนินการโครงการฯ ได้รับความร่วมมือและการสนับสนุนจากคณะผู้ร่วมวิจัย ทั้งในส่วนที่เป็นหัวหน้าการทดลอง ผู้ช่วยนักวิจัย และคณะผู้บริหารทุกระดับ ตลอดจนการอำนวยความสะดวกจากบุคลากรในหน่วยงานทั้งภายใน กองฯ กรมฯ และจากภายนอก ซึ่งการดำเนินงานโครงการฯ อาจไม่บรรลุตามวัตถุประสงค์ หากขาดการช่วยเหลือจากทุกฝ่ายดังที่กล่าวมา จึงขอกราบขอบพระคุณทุกท่านมา ณ ที่นี้

ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์
หัวหน้าโครงการวิจัย

สารบัญ

หน้า

ผู้วิจัย **1**

บทนำ **2**

บทคัดย่อ **5**

1 กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยจุลินทรีย์ 10

2 กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยสารสกัดจากพืช 27

3 กิจกรรมการควบคุมโรคโดยใช้สารกลุ่ม GRAS 42

4 กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยวิธีทางกายภาพ 57

5 กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยการประเมินโรคและการผสมผสานวิธีการ 68

บทสรุปและข้อเสนอแนะ **97**

บรรณานุกรม **101**

ผู้วิจัย

ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์
Chawalert Trikarunasawat

นารีรัตน์ สุนทรธรรม
Narerat Soonthorntham

เนตรา สมบูรณ์แก้ว
Nettra Somboonkaew

บุญญวดี จิระวุฒิ
Boonyawadee Chirawut

รัตตา สุทธยาคม
Ratta suttayakom

รัมม์พัน โกศลานันท์
Rumphan Koslanund

วัชรี วิทยวรรณกุล
Wacharee Wittayawannakul

สุพี วนศิรากุล
Su-bhi Wanasirakul

อมรา ชินภูติ
Amara chinaphuti

อัจฉราพร ศรีจุดานุ
Atcharaporn Srijudanu

และ
อารีรัตน์ การุณสถิตชัย
Areerat Karunsatitchai

บทนำ

เทคโนโลยีการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรในปัจจุบัน มีความเจริญก้าวหน้ามากทำให้เกษตรกรสามารถเพิ่มผลิตได้มากขึ้น จนบางครั้งที่ผลผลิตมีมากเกินความต้องการ ดังนั้นผู้บริโภคในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นความสำคัญไปที่คุณภาพของผลผลิต ผลผลิตที่เสื่อมคุณภาพถือเป็นการสูญเสียจากกระบวนการปฏิบัติทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งมีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ความเสื่อมทางสรีระของพืช โรคพืช และแมลง เพื่อที่จะลดความสูญเสียดังกล่าวจึงมีการควบคุมปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ด้วยวิธีการที่อาจมีสารเคมีอันตรายเข้ามาเกี่ยวข้อง ปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่กำลังให้ความสนใจ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ด้านความปลอดภัยและสุขภาพ ด้วยเหตุนี้ จึงมีความพยายามในการลดการใช้สารเคมี และสารสังเคราะห์ต่างๆ ในขบวนการผลิตตั้งแต่แปลงปลูกจนถึงผู้บริโภค เพราะนอกจะเป็นปัญหาด้านความปลอดภัยและสุขภาพของตลาดภายในประเทศแล้ว ยังเป็นปัญหาในการส่งออกสินค้าเกษตรไทยไปต่างประเทศด้วย เพราะประเทศคู่ค้ามักจะนำเอาประเด็นความปลอดภัยด้านอาหารมาใช้เป็นเครื่องมือกีดกันทางการค้าด้วย

การสูญเสียของผลิตผลเกษตรหลังเก็บเกี่ยวจึงเป็นปัญหาที่สำคัญ เนื่องจากตลอดกระบวนการผลิตตั้งแต่เพาะปลูก จนสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้นั้นล้วนมีภาระต้นทุนที่ทั้งเกษตรกรและผู้ประกอบการจะต้องแบกรับ หากการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวไม่เหมาะสม ทำให้ผลผลิตเน่าเสียเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อรา หรือเกิดการปนเปื้อนของสารพิษ ทำให้ผลิตผลเกษตรไม่ได้มาตรฐาน ก็จะเกิดความเสียหายต่อหลายฝ่ายที่เกี่ยวข้อง เช่น เกษตรกร ผู้ประกอบการ และภาพลักษณ์ของประเทศในผลิตผลที่มีการส่งออก

การสูญเสียของผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว อาจเกิดได้หลายลักษณะ เช่น การเกิดโรคของผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว การปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคกับมนุษย์ในพืชผักสด เช่น *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. การปนเปื้อนของสารตกค้างจากการใช้สารเคมีในแปลงปลูก เป็นต้น

การเน่าเสียของผลไม้ในเขตร้อนเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวเป็นปัญหาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ทำให้การส่งออกไปยังต่างประเทศทำได้ยาก ซึ่งสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลผลิตเน่าเสียเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว คือการเข้าทำลายของเชื้อราก่อให้เกิดอาการผลเน่าเป็นจุดสีน้ำตาล การเกิดโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง และไม้ผลหลายชนิด

การปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา เช่นสารแอฟลาทอกซิน สารพิษโอคราทอกซิน เอ สารพิษฟูโมนิซิน ในผลิตผลเกษตรชนิดต่าง ๆ ก็เป็นอีกปัญหาของความปลอดภัยในอาหาร และเป็นข้อกีดกันทางการค้าระหว่างประเทศ

ในการแก้ปัญหาผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวดังกล่าวจึงควรพิจารณาใช้วิธีการที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคด้วยการไม่ใช้สารเคมีที่มีอันตราย เพื่อลดปัญหาสารเคมีตกค้าง ทำการพัฒนาคุณภาพผลผลิต ลดการ

เน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษาด้วยชีววิธี ผสมผสานกับวิธีทางกายภาพ รวมไปถึงการประเมินสถานการณ์การเกิดโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรด้วย

การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อรา

ประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพมากโดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีการนำมาใช้ประโยชน์กันมากมายทั้งทางอุตสาหกรรม ทางการแพทย์ และทางการเกษตร การใช้จุลินทรีย์มาช่วยในการควบคุมโรคของผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ ยีสต์ รา และแบคทีเรีย ซึ่งกลไกในการควบคุมเชื้อสาเหตุหลังการเก็บเกี่ยวจะมีหลายลักษณะ เช่น กลไกการแย่งอาหาร และการสร้างสารสกัดยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ เป็นต้น

การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยสารสกัดจากพืช

การใช้สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นทางเลือกหนึ่งในการที่จะลดปริมาณการใช้สารเคมี ประเทศไทยมีพืชสมุนไพรหลากหลายชนิดที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูพืช แต่ในการที่จะนำมาใช้ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวในผลไม้ชนิดต่าง ๆ นั้นสมควรจะเลือกชนิดของสมุนไพรที่มนุษย์สามารถบริโภคได้ เพราะผลไม้หรือผลิตผลเกษตรต่างๆเหล่านั้นพร้อมที่จะบริโภคอยู่แล้ว จึงไม่ควรที่จะมีสารอื่นๆ ที่เป็นอันตรายตกค้างอีก

การควบคุมโรคโดยใช้สารกลุ่ม GRAS (Generally Recognized as safe)

สารกลุ่ม GRAS เป็นสารเคมีที่ไม่มีอันตรายต่อผู้บริโภค บางชนิดมีการใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารอยู่แล้ว เช่น เกลือ carbonate bicarbonate, Methyl Jasmonate และ Methyl Salicylate ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคของผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวกันมาก เช่นการใช้ sodium carbonate ควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง เพื่อลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา จึงมีการพัฒนาวิธีการใช้สารในกลุ่มนี้เพื่อทดแทนการใช้สารเคมี ในการควบคุมโรคผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว

การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยวิธีทางกายภาพ

วิธีทางกายภาพเป็นอีกทางเลือกในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว โดยไม่ใช้สารเคมี วิธีที่นิยมใช้และได้ผล เช่น การใช้ความร้อน การใช้ไมโครเวฟ การใช้แสงแดด การควบคุมโรคของผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยวโดยการใช้ไอน้ำร้อนเป็นวิธีการที่ใช้ได้ดีในการควบคุมโรคโดยไม่มีผลต่อคุณภาพผลผลิต หรืออาจใช้การจุ่มน้ำร้อนในระยะเวลาสั้น ๆ การใช้แสงแดดในการลดความชื้นเมล็ดธัญพืช สามารถแก้ปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษในธัญพืชได้เช่นกัน ซึ่งวิธีทางกายภาพส่วนใหญ่ทำได้ง่ายไม่ยุ่งยากซับซ้อน เกษตรกรสามารถนำไปปฏิบัติได้ง่าย

การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยการประเมินโรคและการผสมผสานวิธีการ

การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวกับผลไม้ชนิดใดชนิดหนึ่ง บางครั้งการใช้วิธีการเดียวอาจควบคุมไม่ได้ผลร้อยเปอร์เซ็นต์ เพราะโรคอาจเกิดจากเชื้อราสาเหตุหลายชนิดพร้อมกัน หรืออาจเกิดการเข้าทำลายใน

แต่ละช่วงอายุหลังการเก็บเกี่ยว ดังนั้นการใช้วิธีการแบบผสมผสานอาจช่วยให้การควบคุมมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น เช่น การใช้น้ำร้อนร่วมกับการสารกลุ่ม GRAS นอกจากนี้การประเมินสถานการณ์การเกิดโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรก็เป็นอีกแนวทางในการที่จะกำหนดความเสี่ยงเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการควบคุมหรือแก้ปัญหาในจุด หรือขั้นตอนเสี่ยงที่พบระหว่างกระบวนการผลิตจนถึงผู้บริโภคโดยไม่ต้องใช้สารเคมี

เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีที่มีอันตรายในการควบคุมโรค และสารพิษจากเชื้อในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว รวมถึงการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคในผักสด จึงได้มีการศึกษาวิจัยวิธีการควบคุม ได้แก่ การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ การใช้สารสกัดจากพืช การใช้สารกระตุ้นความต้านทาน การใช้สารกลุ่ม GRAS (generally recognized as safe) การใช้วิธีทางกายภาพ หรือผสมผสานวิธีการร่วมกับการประเมินการเข้าทำลายของโรค เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีที่มีอันตราย ต่อสิ่งมีชีวิต และสภาพแวดล้อม

บทคัดย่อ

การสูญเสียของผลผลิตจากโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวและสารพิษจากเชื้อราเป็นปัญหาสำคัญ แต่การควบคุมความสูญเสียดังกล่าวด้วยวิธีการที่ปลอดภัยต่อทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภคนั้นก็เป็นสิ่งจำเป็น คณะผู้วิจัยให้ความสำคัญกับคุณภาพและการลดการสูญเสียของผลผลิต จึงได้เริ่มดำเนินการ โครงการวิจัยการจัดการโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวโดยไม่ใช้สารเคมี ในช่วงปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 – 2558 ประกอบไปด้วย 5 กิจกรรม 23 การทดลอง โดยมีวัตถุประสงค์ คือ “เพื่อศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว การปนเปื้อนจุลินทรีย์และสารพิษจากเชื้อรา ในผลิตผลเกษตร โดยไม่ใช้สารกำจัดศัตรูพืช” โครงการประกอบด้วย 5 กิจกรรม ดังนี้

กิจกรรมที่ 1 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยจุลินทรีย์ ได้ศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อรา พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtillis* หรือ *B. amyloliquefaciens* ที่สามารถควบคุมโรคผลเน่าของเงาะและผลิตเป็นชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวได้ แบคทีเรีย *Bacillus tequilensis* และ *Bacillus subtilis sub sp. Inaquosorum* ควบคุมเชื้อรา *Aspergillus flavus* และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร และพบเชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ไม่สร้างสารพิษที่เป็นปฏิปักษ์กับเชื้อราที่สร้างสารพิษและสามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินในข้าวโพดได้

กิจกรรมที่ 2 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยสารสกัดจากพืช ได้ศึกษาสารสกัดจากพืชพบว่าข่า สารสกัดไพลและขมิ้นชันสามารถยับยั้งเชื้อราและควบคุมโรคโรคแอนเทรคโนสบนผลมะม่วง กล้วยหอม และมะละกอ สารสกัดจากผงเปลือกผลทับทิมความเข้มข้น 12,000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ลดการปนเปื้อนในผักสะระแหน่ระหว่างการเก็บรักษาได้ สารสกัดกระเทียมควบคุมเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินในพริกแห้งและพริกป่นนานถึง 4 เดือน และสารสกัดกระชายดำและกะเพราในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *Aspergillus flavus* และลดปริมาณสารแอฟลาทอกซิน บนถั่วลิสงหลังจากเคลือบเป็นเวลา 1 เดือน

กิจกรรมที่ 3 การควบคุมโรคโดยใช้สารกลุ่ม GRAS ได้ศึกษาสารกลุ่ม GRAS พบว่า acetic acid และ oxalic acid สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสใน มะละกอ กล้วยหอม มะม่วง และแก้วมังกรที่ปลูกเชื้อ และ oxalic acid ควบคุมโรคที่เกิดโดยธรรมชาติบนผลมะละกอได้ สาร methyl salicylate มีศักยภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของผลเงาะและลองกองที่เกิดจากเชื้อ *Phomopsis* sp. ขณะที่ citric acid สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Dothiorella* sp. ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) แต่ sodium metabisulphite ยับยั้งโรคบนผลมะม่วง (*in vivo*) ส่วน propionic acid และ sodium carbonate ที่ความเข้มข้น 0.08 และ 3.0 % ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ และพบว่าการล้างยอดสะระแหน่ ด้วย citric acid สามารถควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli*

กิจกรรมที่ 4 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยวิธีทางกายภาพ ได้ศึกษาวิธีทางกายภาพ พบว่าการใช้เตาอบไมโครเวฟลดปริมาณโอคราทอกซินเอ ในตัวอย่างผลไม้อบแห้ง เช่น แครนเบอรรี่ และ ลูกเกดขาว ลดปริมาณแอฟลาทอกซินในงาดำ ลดสารพิษฟูโมนิซินในข้าวบาร์เลย์ และ คอร์นเฟลก (cornflake) ได้ ขณะที่การใช้เตาอบลมร้อน สามารถลดโอคลาทอกซินเอใน แครนเบอร์รี่อบแห้ง ลูกเกดขาว และ บลูเบอร์รี่อบแห้ง ลดแอฟลาทอกซินใน ถั่วลิสง ข้าวกล้อง งาดำ และข้าวเหนียวดำได้ และพบว่า การอาบแสง UV ลดการปนเปื้อนของสารพิษฟูโมนิซินในข้าวบาร์เลย์ได้

กิจกรรมที่ 5 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยการประเมินโรคและการผสมผสานวิธีการ ได้ศึกษาการผสานวิธีควบคุมและการประเมินการเกิดโรคและความเสี่ยง พบว่าการจุ่มผลมะม่วงในสารละลาย paraquat สามารถกระตุ้นการแสดงอาการโรคแอนแทรคโนสให้แสดงอาการภายใน 3 วัน การใช้ ammonium carbonate และ potassium carbonate ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสในแก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง มะละกอพันธุ์ปักไม้ลาย และมะม่วงน้ำดอกไม้เบอร์ 4 ได้ ขณะที่การใช้น้ำร้อนร่วมกับ potassium sorbate ยับยั้งโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกหวานได้ การจุ่มหัวพันธุ์พันธุ์ปทุมมาด้วยน้ำมันหอมระเหยขมิ้นชัน ตะไคร้หอม กะเพรา และกานพลู สามารถควบคุมโรคจากเชื้อ *Fusarium* sp. ได้ ส่วนกระบวนการผลิตผักสะระแหน่เพื่อส่งออกพบว่า ขั้นตอนการล้างหลังจากเก็บเกี่ยวที่แปลงปลูกเป็นจุดที่มีความเสี่ยงสูงที่สุด รองลงมาคือขั้นตอนการล้างในโรงคัดบรรจุ และการควบคุมอุณหภูมิในขณะขนส่ง ในการควบคุมเชื้อราบนผลลองกองพบว่าการใช้ 1-MCP และ chitosan ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ active film สามารถชะลอการหลุดร่วง ลดการเกิดสีน้ำตาล และลดการเกิดโรคได้ และการให้รังสี UV แก่แง่งขิง ร่วมกับการบ่มในสภาพความชื้นสัมพัทธ์สูงสามารถเร่งการสมานบาดแผลให้เร็วขึ้นได้

ผลการทดลองภายใต้โครงการสามารถนำไปใช้เป็นวิธีการทางเลือกแก่ผู้ประกอบการนำไปใช้ควบคุมโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร เพื่อให้เกิดความปลอดภัยทั้งแก่ผู้ผลิตและผู้บริโภค

Abstract

The losses of productivity from postharvest plant diseases and mycotoxin is a major problem. But the control of the losses should be safe for both producers and consumers, it is essential. The authors focus on the quality or reduce the losses of productivity, either. The project of “Post-harvest Diseases and Mycotoxins Management in Agricultural Commodities without Hazardous Chemicals” was conducted during the fiscal year 2011 - 2015 consists of five activities, 23 experiments with the objective was "to study and develop efficient technologies to control postharvest diseases, microbial and mycotoxins contamination in agricultural commodities without using pesticides" The project consists of the following 5 activities.

The first activity is Controls of Postharvest Diseases and Mycotoxins by Using Antagonistic Microorganisms. The studies on microorganisms those have the potential for postharvest diseases control and mycotoxins. The results of this activities were antagonistic bacteria, *Bacillus subtillis* or *B. amyloliquefaciens* those have the ability to control fruit rot of rambutans (*Nephelium lappaceum*) and developed to bio-agent products that are effective in controlling postharvest rot of rambutans, Antagonistic bacteria, *Bacillus tequilensis* and *Bacillus subtilis* sub sp. *Inaquosorum* those control of *Aspergillus flavus* and inhibit Aflatoxins synthesis in agricultural commodities and The non-producing strain of antagonistic *A. flavus* that reduced Aflatoxins contamination in corn.

The second activity is Controls of Post-harvest Plant Diseases and Mycotoxins by Using Plant Extracts. The studies on extracts of galangal, ginger and turmeric revealed those inhibitory effects on anthracnose diseases on mangoes, bananas, papayas and the extracts of pomegranate (*Punica granatum*) peel powder at a concentration of 12,000 ppm inhibit *E. coli* contamination in kitchen mint (*Mentha cordifolia*) during storage. The Garlic (*Allium sativum*) extract growth of *A. flavus* and reduced aflatoxins contamination in dry chili and chili powder and parviflora (*Kaempferia parviflora*) and holy basil (*Ocimum sanctum*) extracts control the growth of *A. flavus* and their aflatoxins production and the peanuts at 1 month after the experiment.

The third activity is Controls of Post-harvest Plant Diseases by Using GRAS Agents. The studies on GRAS substances revealed that acetic acid and oxalic acid able to control anthracnose in on the artificial of papaya, mango and banana while, the trials on the

naturally infected fruits of papaya, only oxalic acid gave effective results. Methyl salicylate has the potential to control fruit rot of longkong (*Lansium parasiticum*) and rambutan (*Nephelium lappaceum*) caused by *Phomopsis* sp., while the citric acid inhibited the growth of fungi *Dothiorella* sp. in the laboratory (*in vitro*), but sodium metabisulphite Inhibited diseases on fruits (*in vivo*). Propionic acid and sodium carbonate at a concentration of 3.0 % and 0.08 % inhibit *Colletotrichum* sp., kitchen mint (*Mentha cordifolia*) washed with 6 % citric acid stored at 5 $^{\circ}$C, provided highly effective control on *E. coli* contamination

The fourth activity is Controls of Post-harvest Plant Diseases and Mycotoxins by Using Physical Methods. The studies on physical methods revealed that using of microwave oven were reduced amount of Ochratoxin A in dried fruits example, dried cranberry and white raisins, Aflatoxins in black sesame, Fumonisin in barley and cornflakes, while using a hot air oven reduced in dried cranberries, white raisin and dried blueberries, Aflatoxins in peanuts, brown rice, black sesame and rice and UV light reduced the contamination of Fumonisin in barleys.

The fifth activity is Controls of Post-harvest Plant diseases and Mycotoxins by Using Evaluation of Infection and Integrated Plant Disease Management. The studies revealed that dipping mango fruits in a solution of paraquat could provoke symptoms of quiescent infectious fungi (*C. gloeosporioides*). The use of ammonium carbonate and potassium carbonate combining with hot water treatment at 55 ° C provided highly effective control of anthracnose disease on dragon fruits papayas and mangoes, while the use of hot water combining with potassium sorbate inhibited postharvest anthracnose diseases on sweet peppers. Dipping of Curcuma combs in essential oils, lavender, holy basil, turmeric, cloves gave highly effective on disease control of Curcuma caused by *Fusarium* sp.. The study on kitchen mint productions, the process of cleaning at plantations after harvesting is the highest risk step the second is the step of washing at the packing houses and temperature control during transports. The use of 1-MCP at a concentration of 500 ppm chitosan at a concentration of 0.25 % and the active film thickness of 40 microns provided extending of the fallen of fruits, reduced browning and disease on longkong fruits. UV-C showed the stimulating effects on wound curing on ginger rhizomes under high humidity (95 % RH.), wounds were healed in 12-24 hour comparing with the original time of 48 hours.

The results of the project can be used as an alternative method for employers to use as post-harvest plant disease control and mycotoxins in agricultural commodities to be safe, both for producers and consumers.

1 กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยจุลินทรีย์

1 Controls of Postharvest Diseases and Mycotoxins by Using Antagonistic Microorganisms

หัวหน้ากิจกรรม

นางสาวบุญญวดี จิระวุฒิ

คำสำคัญ

โรคผลเน่า แอฟลาทอกซิน เชื้อรา แบคทีเรีย ชีววิธี ปฏิปักษ์

Rot, Aflatoxin, Antagonist, Extract, Bioactive, Bio-agents, Biocontrol

บทคัดย่อ

กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยจุลินทรีย์ มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพและพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เพื่อการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราที่มีความปลอดภัย ประกอบด้วย 4 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 การใช้สารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อลดความสูญเสียของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากผลเงาะนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยว พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 3 สายพันธุ์ คือ DL9, PN10 และ DL7 สามารถควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ ไม่เป็นพิษต่อพืชปลูก (เมล็ดข้าวและเมล็ดถั่วเขียว) และเซลล์ไตลิง จำแนกเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtillis* หรือ *B. amyloliquefaciens* เมื่อใช้ผลิตเป็นชีวภัณฑ์ พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวได้ดี

การทดลองที่ 2 การใช้แบคทีเรียที่แยกจากดินควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร ได้ทดสอบแบคทีเรียที่แยกจากดิน 59 ไอโซเลต นำมาทดสอบ พบว่าแบคทีเรียดินที่คัดแยกได้ 10 ไอโซเลต จำแนกได้เป็น *Bacillus tequilensis* และ *Bacillus subtilis sub sp. Inaquosorum* และ 3 ไอโซเลตสามารถยับยั้งทั้งการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษแอฟลาทอกซิน สามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนถั่วลิสงตามธรรมชาติ ได้มากกว่า 85.98 % ที่ 28 วัน หลังการเก็บรักษา โดยไม่มีความเป็นพิษต่อการงอกของเมล็ดข้าวเปลือกและถั่วเขียว

การทดลองที่ 3 การควบคุมการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรโดยใช้เชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ไม่สร้างสารพิษ ได้สำรวจและรวบรวมเชื้อรา *A. flavus* นำมาทดสอบ พบเชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษจำนวน 1 สายพันธุ์คือ *A. flavus* (561) ซึ่งไม่มียีนสร้างสารพิษ Aflatoxin gene (*pks*A *afl*R

และ *nor*A) มีประสิทธิภาพในการควบคุมการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรและการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อราที่สร้างสารพิษ สามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินในข้าวโพดได้ถึง 97.43 %

การทดลองที่ 4 การควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในพืชผักโดยใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อรา *Macrocybe crassa* (Berk.) Pegler and Lodge ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากรา *M. crassa* พบว่าสามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักกาดขาวได้

Abstract

The objective of activities on “Controls of postharvest diseases and mycotoxins by using antagonistic” are selection for the effective microorganism and development of Bio-agents to control postharvest diseases and mycotoxins. This activity is consists of 4 experiments.

The first experiment is using of antagonistic microbial extracts of to reduce post-harvest losses of rambutan fruits (*Nephelium lappaceum*). The three strains of bacteria; DL9, PN10 and DL7 were selected from the results of effectiveness test. They were not toxic to plants (rice grain and green beans) and monkey kidney cells and identified as *Bacillus subtillis* and *B. amyloliquefaciens.* Then the Bio-agents were developed used those effective bacteria that showed the high potential on controlling the postharvest rot of rambutan fruits.

The second experiment is using of bacteria extracted from soils to control the mycelial growth of *Aspergillus flavus* and inhibit aflatoxin production in groundnut pods. Fifty-nine isolates of bacteria isolated from soil were tested and 3 isolates were identified as *Bacillus tequilensis* and *Bacillus subtilis* sub sp. *Inaquosorum* and no toxic effects on the germination of rice grains and mung beans. Those bacteria showed inhibitory effects on the growth of *A. flavus* and aflatoxins production in the natural contaminating groundnut pods and reduce the amount of toxin by 85.98 % over the 28 days after storage.

The third experiment is control of aflatoxins contamination by using a non-producing strain of *A. flavus*. The isolations of *A. flavus* were isolated, tested for antagonistic potential and aflatoxins production. One isolate of *A. flavus* was showed high antagonistic potential and no aflatoxins production without Aflatoxin gene (*pks*A *afl*R and *nor*A). This fungus provided high inhibitory effects on controlling of *A. flavus* contamination and reducing aflatoxin contamination of 97.43 % in maize produces.

The fourth experiment is control of microbial contamination in vegetables using bioactive compounds from *Macrocybe crassa*. The studied of the effectiveness of culture filtrates of the fungi were showed its efficacy on control of microorganism contamination on cabbage.

บทนำ

ประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพมากโดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีการนำมาใช้ประโยชน์กันมากมายทั้งทางอุตสาหกรรม ทางการแพทย์ และทางการเกษตร โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์มาช่วยในการคบคุมโรคของผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ การใช้ยีสต์ รา และแบคทีเรีย ซึ่งกลไกในการควบคุมเชื้อสาเหตุหลังการเก็บเกี่ยวจะมีหลายลักษณะ เช่นกลไกการแย่งอาหาร และการสร้างสารสกัดยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ เป็นต้น ผลองุ่นที่เป็นโรคเกิดจากเชื้อราสาเหตุ *Penicillium digitatum* สามารถควบคุมได้โดยใช้ยีตส์ *Pichia gurlliermondii*

ในกรณีของสารพิษจากเชื้อราโดยเฉพาะสาร แอฟลาทอกซินถึงแม้ว่าจะมีการจัดการป้องกันที่ดีแล้วก็ตาม การปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราก็ยังมีโอกาสเกิดขึ้นได้ ดังนั้นการควบคุมหลังการเก็บเกี่ยว และขั้นตอนการลดปริมาณสารพิษจึงเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการลดความเสี่ยงต่อการได้รับสารพิษของผู้บริโภค หลักการประเมินการเลือกใช้วิธีการลดปริมาณสารพิษควรต้องพิจารณาด้วยว่าวิธีการนั้นสามารถทำลาย ลดความเป็นพิษ หรือทำให้สารพิษหมดไปหรือไม่ วิธีการนั้นต้องไม่ทิ้งสิ่งที่เป็นพิษอย่างอื่นไว้ทั้งในอาหารคนและอาหารสัตว์ วิธีการนั้นต้องยังคงทำให้คุณค่าทางโภชนาการของอาหารเหมือนเดิมหรือยอมรับได้ วิธีการนั้นต้องไม่ทำให้คุณสมบัติทางเทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป และวิธีการนั้นต้องทำลายสปอร์ของเชื้อราได้ เพื่อลดการใช้สารเคมี ซึ่งอาจเป็นอันตราย จึงหันมานิยมชีววิธี เช่น การใช้จุลินทรีย์จำพวก เชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ในการทำลายสารพิษจากเชื้อรา เช่น สาร Aflastatin A ซึ่งสร้างโดย *Streptomyces* sp. สามารถยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินโดย *Aspergillus parasiticus* ได้ และแบคทีเรีย *Flavobacterium aurantiacum* ก็สามารถทำลายสารแอฟลาทอกซินได้ถึง 74 % เมื่อบ่มสารพิษไว้กับเซลล์ของแบคทีเรียนาน 68 ชม. นอกจากนี้ขบวนการหมักธัญพืชที่มีการปนเปื้อนของสารพิษก็สามารถลดปริมาณสารพิษได้ เช่น การหมักโดยใช้ยีสต์สามารถลดปริมาณสารพิษ Patulin ในน้ำผลไม้ได้

การทบทวนวรรณกรรม

เงาะ (*Nephelium lappaceum* L.) เป็นผลไม้ในเขตร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีการปลูกกันอย่างแพร่หลายทั้งภาคตะวันออกและภาคใต้ของประเทศ (ฝ่ายข้อมูลวารสารเคหการเกษตร, 2537) สาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลผลิตเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว คือ การเข้าทำลายของเชื้อราหลายชนิดและก่อให้เกิดอาการผลเน่า (สมศิริ และคณะ, 2540) มีรายงานว่า พบเชื้อราเข้าทำลายหลายชนิด คือ *Lasiodiplodia theobromae, Colletotrichum gloeosporioides, Gliocephalotrichum bullilium* และ *Phytophthora bothyosa* (อังสุมา และ สมศิริ, 2526) การควบคุมโรคภายหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้ที่ใช้กันอยู่โดยทั่วไปในปัจจุบัน คือ การใช้สารเคมี ซึ่งนอกจากจะเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมแล้ว ยังส่งเสริมให้เกิดปัญหาสารพันธุ์ของเชื้อราที่ต้านทานในเวลาต่อมา และมักเป็นข้อจำกัดของการส่งออกผลไม้

การควบคุมโรคโดยชีววิธีเป็นอีกทางเลือก ที่จะลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคลดปริมาณเชื้อสาเหตุโรค วาริน และคณะ (2548) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *L. theobromae* ได้สูง 79% และสารสกัดจากเชื้อรา *T. harzianum* ความเข้มข้น 1,000 ppm มาใช้ควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ (พันธุ์โรงเรียน) โดยการแช่ผลเงาะในสารสกัดเป็นเวลา 5 นาที พบว่าสารสกัดมีประสิทธิภาพสูงมากในการควบคุมโรค โดยพบความรุนแรงของโรคเพียง 12.5 % ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม (เมทานอล ความเข้มข้น 2 %) มีความรุนแรงของโรค 79.5 % นอกจากนี้ Sivakumar และคณะ (2000) รายงานว่าประสบความสำเร็จในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลเงาะในสภาพแปลงด้วยการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ทัศวรรณ (2547) ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ผิวพืชเพื่อการควบคุมเชื้อรา *L. theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าของเงาะพันธุ์โรงเรียน ได้เชื้อยีสต์ *Candida krusei* (ไอโซเลท 44-52/2) แสดงประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรค เมื่อมีการปลูกเชื้อยีสต์ก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุของโรค โดยมีการยับยั้งการเกิดโรค 42.6 %

การใช้เชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเน่า เช่น การใช้ยีสต์ *Pichia anomala* Moh93, *P. anomala* Moh 104, *P. guilliermondii* Moh 10, *Lipomyces tetrasporus* Y-115 และ *Metschnikowia lunata* Y-1209 ในการควบคุมโรคเน่าจากเชื้อ *Botryodiplodia theobromae* ในฝรั่งหลังการเก็บเกี่ยว โดยเข้าไปยับยั้งการเจริญของเชื้อในระยะการเข้าทำลาย (Mohamed and Saad, 2009)

แอฟลาทอกซิน (Aflatoxins) เป็นสารพิษที่สร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus, A. parasiticu , A. nomius และ A. tamarii* พบมากในเมล็ดธัญพืช และพืชน้ำมันชนิดต่าง ๆ เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว ข้าวสาลี ถั่วลิสง มะพร้าว สมุนไพร เครื่องเทศ และในผลิตภัณฑ์แปรรูปแทบทุกชนิดที่ใช้วัตถุดิบจากผลิตผลเกษตรที่มีเชื้อราชนิดนี้ปนเปื้อนอยู่ก่อน สารแอฟลาทอกซินที่พบตามธรรมชาติจะมีอยู่ 4 ชนิดคือ Afaltoxin B_1, B_2, G_1 และ G_2 โดย Aflatoxin B_1 จะมีความเป็นพิษสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ G_1, B_2 และ G_2 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมี Aflatoxin M_1 และ M_2 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ B_1 และ B_2 ปนเปื้อนอยู่ในน้ำนมด้วย สารแอฟลาทอกซินนี้ พบครั้งแรกในปี ค.ศ 1960 มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับสุขภาพของมนุษย์และสัตว์โดยตรง ในปัจจุบันองค์การ IARC (International Association Research Cancer) ได้จัดสารแอฟลาทอกซินเป็นสารก่อมะเร็งซึ่งส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นที่ตับ (Hus *et a*l., 1991)

โดยทั่วไปแล้วการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในอาหารคนและอาหารสัตว์เป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงและคาดการณ์ได้ยากมาก เพราะเชื้อราที่สร้างสารพิษชนิดนี้ส่วนใหญ่จะพบอยู่ทั่วไปในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ซึ่งเจริญได้ดีบนผลิตผลเกษตรเกือบทุกชนิดที่เป็นทั้งอาหารคน (food) และอาหารสัตว์ (feed) รวมทั้งผลิตภัณฑ์แปรรูปชนิดต่างๆจากผลิตผลเกษตร เชื้อราเหล่านี้เกิดขึ้นได้ทุกสถานการณ์ ตั้งแต่ ขบวนการผลิต ขบวนการเก็บเกี่ยว ขบวนการขนส่ง และขบวนการเก็บรักษา (Chu,1983) สารพิษเหล่านี้อาจปนเปื้อนอยู่ในผลิตผลเกษตรได้ ถึงแม้จะไม่มีเชื้อราปรากฏให้เห็นบนผลิตผลเกษตรนั้นๆ เพราะตัวเชื้อราเองอาจถูกขจัดออกไปโดยวิธีต่างๆ หลังจากที่สร้างสารพิษทิ้งเอาไว้บนผลิตผลเกษตรแล้ว ในปัจจุบันปัญหาการปนเปื้อนของ

สารพิษแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร ที่เป็นทั้งอาหารคน และอาหารสัตว์เป็นปัญหาที่สำคัญมากก่อให้เกิดความเสียหายต่อประเทศชาติทั้งทางตรงและทางอ้อม ผลกระทบทางตรงคือทำให้ผลิตผลเกษตรเสียหายมีราคาตกต่ำ สัตว์เลี้ยงมีคุณภาพต่ำ หรือตายเป็นจำนวนมาก และที่สำคัญประชาชนที่บริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของสารพิษเข้าไปอาจได้รับอันตรายถึงแก่ชีวิตได้ ส่วนผลกระทบทางอ้อมคือทำเกิดการกีดกันทางการค้า และมูลค่าทางการตลาดของผลผลิตลดลง

วิธีการป้องกันหรือทำลายสารแอฟลาทอกซินโดยทั่วไป จะมี 3 วิธี คือวิธีทางเคมี เช่นการใช้กรดแก่หรือด่างแก่ และการใช้แอมโมเนีย เป็นต้น วิธีทางกายภาพ เช่นการใช้วิธีการคัดแยกเมล็ดธัญพืช หรือการใช้รังสี การใช้อุณหภูมิ เช่นการต้ม นึ่งด้วยความดันสูง การใช้สารดูดซับ เป็นต้น (Park, 1993)ส่วนวิธีทางชีววิธีได้แก่การใช้จุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ ในการทำลายสารแอฟลาทอกซิน เช่น ใช้ แบคทีเรีย *Flavobacterium aurantiacum* ในการกำจัดสารแอฟลาทอกซิน M_1 ในน้ำนม และพบว่าสาร Aflastatin ที่ผลิตโดย *Streptomyces* sp. สามารถยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินได้ เป็นต้น ถึงอย่างไรก็ตามตั้งแต่มีการค้นพบสารแอฟลาทอกซินจนถึงปัจจุบันยังไม่มีวิธีการใดเลยที่สามารถทำลายสารพิษได้อย่างสมบูรณ์ และส่วนใหญ่วิธีการเหล่านั้นจะใช้ได้กับผลิตผลเกษตรที่นำมาทำเป็นอาหารสัตว์ แต่สำหรับผลิตผลเกษตรที่เป็นอาหารคนยังใช้ไม่ได้ผล เพื่อเป็นการลดการใช้สารเคมี และลดมลพิษต่อสภาพแวดล้อมจึงควรจะหาวิธีทำการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี ซึ่งในประเทศไทยในสภาพแหล่งปลูกพืชตามธรรมชาติมีความหลากหลายของจุลินทรีย์ดินสูง การศึกษาและคัดเลือกจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา เพื่อใช้ประโยชน์ในการควบคุมเชื้อราและสารแอฟลาทอกซิน จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาคุณภาพผลผลิตทางการเกษตรของประเทศไทย

ระเบียบวิธีวิจัย

การทดลองที่ 1.1 การใช้สารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อลดความสูญเสียของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-58

1. นำผลเงาะที่เน่าเสียหลังเก็บเกี่ยว มาแยกเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าด้วยวิธี tissue transplanting ได้เชื้อบริสุทธิ์ บันทึกลักษณะของเชื้อราและจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรค และลักษณะอาการของโรคผลเน่าของเงาะที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุแต่ละชนิด

2. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ แยกเชื้อแบคทีเรียจากผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว โดยวิธี tissue transplanting คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา สังเกตจากการเกิดบริเวณยับยั้ง (clear zone) ที่เกิดขึ้น เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ ที่คัดเลือกได้ 1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วยวิธี Dual culture test คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ

3 ทดสอบประสิทธิภาพสารจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ โดยนำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ มาเลี้ยงบนอาหาร NA 24 ชม. แล้วตัดชิ้นวุ้นบริเวณข้างเคียงโคโลนีซึ่งมีสารทุติยภูมิของแบคทีเรียอยู่ นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ ในจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชม. บันทึกผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (clear zone)

4. ทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (cell free culture supernatant) กับเมล็ดข้าวเปลือก และเมล็ดถั่วเขียว โดยแช่ในสารละลายส่วนใสที่แยกเชื้อแบคทีเรียออกแล้วเป็นเวลา 5 นาที และ 24 ชม. หลังจากนั้นนำเมล็ดมาเพาะ เปรียบเทียบกับเมล็ดข้าวเปลือก และเมล็ดถั่วเขียวที่แช่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

5. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ

5.1 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมที่เกิดจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ โดยใช้ผลเงาะที่สมบูรณ์ทำแผลโดยการตัดขนเงาะ ปลูกเชื้อรา *L. Theobromae* ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 18 ชม. พ่นด้วยสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 7 วัน วัดขนาดของแผล คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

5.2 ศึกษาผลของการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บรักษา ทำการทดลองแบบเดียวกับ 5.1 แต่ไม่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรค บันทึกผลการทดลองโดย วัดความแน่นเนื้อ (firmness) ปริมาณของแข็งละลายในน้ำได้ การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก

6. จำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ผ่านการคัดเลือก นำเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ ทดสอบการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) จำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียด้วยชุดทดสอบ API Test Kits 50 CHB และจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

7. ทดสอบคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการผลิตเอนไซม์ เอนไซม์อะไมเลส (amylase), เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) และ โปรตีเอส (protease)

8. ศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดหยาบจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยนำ culture filtrate ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ นำไปแยกสารโดยวิธี solvent partitioning กับ ethyl acetate แยกเอาส่วนของ ethyl acetate ระเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วนำไปแยกสารด้วยวิธี Thin layer chromatography (TLC) นำแผ่น TLC มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) แล้วตรวจสอบโดยสังเกต Clear zone บน TLC จากนั้นตัดแผ่น TLC บริเวณแถบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา มาศึกษาองค์ประกอบของสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะด้วยเครื่องมือ Bruker Daltonics - micrOTOF - benchtop ESI-TOF MS ส่งตรวจวิเคราะห์ที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

9. ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเซลล์ โดยส่งสารสกัดหยาบของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไปตรวจที่ห้องปฏิบัติการตรวจสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) โดยใช้วิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไตของลิง (African green monkey kidney)

10. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในรูปแบบสารชีวภัณฑ์ โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว tryptic soy broth (TSB) อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำเฉพาะเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียเตรียมส่วนผสมของชีวภัณฑ์ จำนวน 3 สูตร

สูตรที่ 1 นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 20 มิลลิลิตร มาผสมกับ magnesium sulfate 2.47 % ปริมาตร 20 ml ตั้งทิ้งไว้ 15-20 นาที หลังจากนั้นเติม carboxymethyl cellulose (CMC) 2.5 % ปริมาตร 20 ml ผสมให้เข้ากัน ผสมผง talcum น้ำหนัก 100 g คลุกเคล้าให้เข้ากัน (ดัดแปลงสูตรของกลุ่มงานบักเตรีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช)

สูตรที่ 2 นำทัลคั่ม 60 กรัม แคลเซียม 30 กรัม CMC (carboxymethylcellulose) 8 กรัม และ:น้ำมันฝรั่ง 2 มิลลิลิตร นำมาผสมรวมกัน หลังจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรีย 20 มิลลิลิตร มาผสมให้เข้ากัน (ดัดแปลงสูตรของ วราภรณ์, 2553)

สูตรที่ 3 แป้งข้าวเจ้า 100 กรัม น้ำมันถั่วเหลือง 1 ml และซูโครส 10 กรัม นำมาผสมรวมกัน หลังจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรีย 20 มิลลิลิตร มาผสมให้เข้ากัน (ดัดแปลงสูตรของ ณิชกานต์, 2554)

หมายเหตุ สารทุกชนิดนำมานึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องอบความชื้นความดันสูง (autoclave) 121 ℃ ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที จำนวน 2 ครั้ง โดยแต่ละครั้งห่างกัน 1 วัน

ตรวจปริมาณของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยวิธี dilution plate count ทุก 1 เดือน เป็นเวลา 6 เดือน

11. ทดสอบชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ โดยทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วยวิธี Dual culture test บันทึกผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

12. ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ โดยทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคบนผลเงาะที่เกิดจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค บันทึกผลโดยวัดขนาดของแผลที่แสดงอาการของโรค และ ศึกษาผลของการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บรักษา บันทึกผลการทดลองโดย วัดความแน่นเนื้อ (firmness) ปริมาณของแข็งละลายในน้ำได้ การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก

การทดลองที่ 1.2 การใช้แบคทีเรียดินควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-56

นำแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินในแปลงปลูกถั่วลิสง และข้าวโพดในเขตภาคกลาง จำนวน 59 ไอโซเลต ที่คัดแยกได้จากโครงการสำรวจ รวบรวม จำแนกและหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่ผลิตชีวภัณฑ์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 2 วิธี คือ 1 วิธี Dual culture technique และ 2 วิธี Poison plate technique เชื้อแบคทีเรียที่ได้นำมาทดสอบดังนี้

1. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราและการสร้างสารแอฟลาทอกซินโดยวิธี Tip culture method
2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดแบคทีเรียในการทำลายสารพิษโดยตรง (Degradation) โดยเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม สารพิษมาตรฐาน ความเข้มข้นเป็น 150 ไมโครกรัม/กิโลกรัม หลังจากนั้น นำสารละลายในหลอดทดสอบมาตรวจวัดปริมาณสารแอฟลาทอกซิน เป็นเวลา 7 วัน และคำนวณเปอร์เซ็นต์การถูกทำลายของสารพิษ
3. การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียดินในการมีชีวิตอยู่ในอาหารที่มีสารพิษและการทำลาย โดยนำแบคทีเรียไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินมาทดสอบความสามารถในการมีชีวิตอยู่ในอาหาร Nutrient broth ที่มีสารแอฟลาทอกซินผสมอยู่ด้วย เป็นเวลา 4 วัน ตรวจดูความขุ่นของอาหารในหลอดทดลอง และทำการวัดปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่เหลือโดยวิธี ELISA
4. การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดแบคทีเรีย ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดแบคทีเรียที่มีผลกับการงอกของเมล็ดพืช ได้แก่ เมล็ดข้าว เมล็ดถั่วเขียว เป็นเวลา 1และ 24 ชม. เพาะในจานเลี้ยงเชื้อแล้วนับจำนวนเมล็ดที่งอกหลังการทดสอบ 7 วัน
5. การทดสอบชนิดแกรมและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรีย บันทึกลักษณะการเจริญของโคโลนี รูปร่าง และสี รวมทั้งนำแบคทีเรียบางไอโซเลตไปศึกษาลักษณะรูปร่างภายใต้กล้อง Electron Microscope
6. การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย (Identification) แบคทีเรียที่คัดเลือกแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซิน และไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต มาจำแนกโดยใช้ชุดทดสอบ API 50CHB และการจำแนกโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุลด้วยวิธี Single strand 16S rRNA sequencing ที่ National Center for Genetic Engineering and Biotechnology
7. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดแบคทีเรีย และเซลล์แบคทีเรียในการลดสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร

7.1. การใช้สารสกัดของแบคทีเรีย นำส่วนของสารสกัดแบคทีเรียเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient broth เป็นเวลา 4 วัน ไปคลุกเมล็ดถั่วลิสงที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินตามธรรมชาติ เก็บในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิห้อง ตรวจการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินด้วยวิธี ELISA หลังเก็บรักษาเป็นเวลา 7 และ 14 วัน

7.2. การใช้เซลล์แบคทีเรีย นำแบคทีเรียมาเลี้ยงในอาหาร Nutrient Broth เป็นเวลา 2 วัน วัดปริมาณเซลล์แบคทีเรีย ปรับความเข้มข้นของปริมาณแบคทีเรียให้เป็น 3 ระดับ คือ $12X10^8$, $9X10^8$และ $6X10^8$cfu นำฝักถั่วลิสง มาแช่ในสารละลายแบคทีเรียปริมาตร 3,000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาที ผึ่งให้แห้ง ใส่ถุงพลาสติกปริมาณ 1 กิโลกรัม/ถุง สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินหลังเก็บรักษาไว้ 7, 14 และ 28 วัน หลังจากเก็บตัวอย่างไว้ 28 วัน แกะเมล็ด และนำเมล็ดถั่วไปตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18

การทดลองที่ 1.3 การควบคุมการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรโดยใช้เชื้อรา *Aspergillus flavus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษ

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-56

1. การเก็บตัวอย่างผลิตผลเกษตร และการคัดแยกเชื้อรา *Aspergillus flavus*

โดยเก็บเมล็ด ถั่วลิสง ข้าวโพด และเมล็ดธัญพืช และตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆ มาแยกเชื้อเก็บเส้นใยเชื้อราบริสุทธิ์

2. การคัดแยกเชื้อรา *Aspergillus flavus* สายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ (Toxigenic strains) และสายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษ (Non-Toxigenic strains) โดยเทคนิคอณูพันธุศาสตร์

โดยการการสกัด ดี เอ็น เอ ด้วยชุดน้ำยา DNeasy® Plant Mini Kit (QIAGEN, USA) การจัดลำดับยีน และการวิเคราะห์ ทำการเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอ โดยปฏิกิริยา PCR (Polymerase Chain Reaction) กับไพรเมอร์ (primer) ที่มีความจำเพาะและตรวจปริมาณ ดี เอ็น เอ ที่เพิ่มปริมาณได้ด้วยอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซีส การทดสอบจะมียีนต้นแบบของ *Aspergillus flavus* สายพันธุ์ที่สร้างสารพิษเป็นตัวเปรียบเทียบ

3. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Aspergillus flavus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซิน

3.1 การทดสอบการเป็นปฏิปักษ์โดยวิธี Competition plate method บน อาหาร PDA

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินโดยวิธี Dual culture method ในอาหารเหลว YES medium พร้อมกับเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่สร้างสารพิษเป็นเวลา 14 วัน แล้วทดสอบปริมาณสารแอฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA

4. การผลิตชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *Aspergillus flavus* คัดเลือกสายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินโดยใช้สูตรต่าง ๆ ในการผลิตประมาณ 5 สูตร แล้วนำไปทดสอบใช้ในแปลงปลูกถั่วลิสง

การทดลองที่ 1.4 การควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในพืชผักโดยใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อรา *Macrocybe crassa* (Berk.) Pegler and Lodge

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. แหล่งที่มาของเชื้อ

1.1 เชื้อรา *Macrocybe crassa* (Berk.) Pegler & Lodge ได้รับจากศูนย์รวบรวมและเก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ด กรมวิชาการเกษตร

1.2 เชื้อ *Salmonella* spp. , *Escherichia coli*, *Shigella* spp. *Staphylococcus anreus* และเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ได้รับอนุเคราะห์จากกองพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การเตรียมสารสกัดออกฤทธิ์จากเชื้อรา *M. crassa*

เลี้ยงเชื้อรา *M. crassa* บนอาหาร PDA นาน 7 วัน จากนั้นเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 30 วัน กรองเส้นใยและเก็บเส้นใยที่ได้นำไปอบที่ตู้อบอุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 3 วัน สำหรับใช้สกัดสารต่อไป

3. การสกัดสารออกฤทธิ์

3.1 สกัดจากเส้นใย ด้วยเอทิลอะซีเตต (ethyl acetate, EtOAc) และระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้ส่วนสกัดหยาบ

3.2 สกัดจากอาหารเลี้ยงเชื้อรา (Culture filtrate)

3.3 สกัดจากดอกเห็ดของเชื้อรา *M. crassa* (เห็ดตีนแรด)

4. การเตรียมสารทดสอบจากสารสกัด

โดยเตรียมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm โดยใช้ Dimethylsulfoxid (DMSO) เป็นตัวละลายร่วมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เพื่อใช้เป็นสารทดสอบต่อไป

5. การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ในสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในสภาพห้องปฏิบัติการ การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ด้วยวิธี Filter paper

disc method ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 50 และ 500 ppm บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 °C นาน 7 วัน การบันทึกข้อมูล วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของการเกิด clear zone ในจุลินทรีย์แต่ละชนิดทุกวัน

6. การทดสอบการประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ในสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆในพืชผัก โดยเตรียมใบผักกาดขาว โดยฆ่าเชื้อที่ผิวใบด้วย 70 % EtOH จากนั้นจุ่มใบผักกาดในสารละลายเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่เจือจางเชื้อในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ วางทิ้งไว้ประมาณ 1 ชม. หลังจากนั้นนำมาจุ่มในสารสกัดที่ได้จากเห็ดตีนแรดที่ความเข้มข้น 0, 10, 50 และ 500 ppm จากนั้นนำตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การทดลองที่ 1.1 การใช้สารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อลดความสูญเสียของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-58

โรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยว มีสาเหตุจากเชื้อราหลายชนิด คือ *Lasiodiplodia theobromae, Gliocephalotrichum* spp., *Greeneria* sp., *Colletotrichum gloeosporioides, Pestalotiopsis* sp., *Phomopsis* sp. ลักษณะอาการของโรคผลเน่าเริ่มแรกเป็นจุดสีน้ำตาลอ่อนขยายไปตามเปลือกของเงาะ ต่อมาแผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำอย่างรวดเร็ว บางผลพบว่ามีการสร้างเส้นใยสีเทาฟูหรือเส้นใยสีขาวแกมเหลืองบนผลเงาะ ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อราสาเหตุของโรคผลเน่าของเงาะ ลักษณะภายในผลเงาะที่เป็นโรคผลเน่า ในระยะแรกไม่รุนแรง เปลือกเงาะด้านในเป็นสีน้ำตาลอ่อน ส่วนของเนื้อเงาะยังมีสีขาว ไม่มีน้ำเยิ้ม เมื่อแผลขยายลุกลามมากขึ้น เปลือกเงาะด้านในเป็นสีน้ำตาลเหลืองขยายลามใกล้เคียงกับเปลือกที่แสดงอาการด้านนอก เนื้อเงาะจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาลอมเหลือง เนื้อจะนิ่มและเละมีน้ำเยิ้ม และมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว

คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากเมล็ดถั่วลิสง เมล็ดถั่วแดง ลำไยอบแห้ง ขั้วหวีของกล้วยหอมทอง สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ 10 สายพันธุ์ คือ PN2, PN-A3, PN-A5, PN7, PN10, DL7, DL9, BA1 และ BP พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ PN10, PN12, DL9 และ DL7 มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *L. theobromae, G. bulbilium,* และ *Greeneria* sp.และสารจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ PN7, DL9, PN10 และ PN12 มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *L. theobromae, G. bulbilium,* และ *Greeneria* sp. จากการศึกษาพบว่า เชื้อรา *L. theobromae* และ *G. bulbilium* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะที่ทำให้เกิดอาการของโรครุนแรง และ *Greeneria* sp. เป็นเชื้อราที่พบมาก

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ DL9, PN10 และ DL7 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ 57.82, 55.82 และ 52.97% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการพ่นด้วย อิมาซาลิล 500 mg/l. สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ 16.91%

การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารละลายส่วนใสจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 10 สายพันธุ์ พบว่าไม่เป็นพิษต่อการงอกของเมล็ดข้าว (พืชใบเลี้ยงเดี่ยว) และเมล็ดถั่วเขียว (พืชใบเลี้ยงคู่) และนำสารสกัดหยาบของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ PN10, Dl7 และ DL9 จำนวน 3 สายพันธุ์ มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการตรวจสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) ไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ไตลิง

จำแนกชนิดของแบคทีเรียปฏิปักษ์ 3 สายพันธุ์ ด้วยชุดทดสอบ API Test Kits พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ PN 10, DL 7 และ DL 9 เป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* หรือ *B. subtillis* มีค่าความเชื่อมั่นของการจำแนก 99.1-99.9% และเมื่อจำแนกด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล พบว่าสายพันธุ์ DL7 DL7 มีลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA gene เหมือนกับแบคทีเรีย *B. siamensis* 100.00 % ส่วน PN 10 และ DL 9 มีลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA gene เหมือนกับแบคทีเรีย 2 ชนิด 99.91 และ 99.86 % ได้แก่ *B. siamensis* และ *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ PN10, DL7 และ DL9 สามารถผลิตเอนไซม์ได้ 3 ชนิด คือ อะไมเลส, เซลลูเลส และโปรตีเอส

สารสกัดหยาบจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 3 สายพันธุ์ คือ PN10, DL7 และ DL9 บนแผ่น TLC ซึ่งมีเพสเคลื่อนที่ (mobile phase) คือ คลอโรฟอร์ม : เมทานอล : น้ำ (65:25:4 v/v/v) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ 3 ตำแหน่ง ที่ Rf เฉลี่ย 0.47, 0.61 และ 0.70 นำมาวิเคราะห์ชนิดของสารด้วยเครื่อง MS-MS ได้สาร 2 ชนิด คือ iturin และ surfactin

ชีวภัณฑ์สูตรที่ 3 ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สูงที่สุด เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ DL7และ DL9 ชีวภัณฑ์สูตรที่ 2 มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สูงกว่าชีวภัณฑ์สูตรที่ 1 ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ PN10 คือ ชีวภัณฑ์สูตรที่ 1 มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สูงกว่าชีวภัณฑ์สูตรที่ 2

ชีวภัณฑ์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ PN10, DL7 และ DL9 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะและการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยว เช่นเดียวกับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ข้อเสียของการใช้ชีวภัณฑ์โดยตรง คือ ผลเงาะจะมีลักษณะคล้ายผงแป้งสีขาวติดอยู่บนผล

การทดลองที่ 1.2 การใช้แบคทีเรียดินควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-56

การนำแบคทีเรียดินที่คัดแยกมาจากดินในแปลงปลูกถั่วลิสงและข้าวโพดในเขตภาคกลางจำนวน 59 ไอโซเลต มาทดสอบประสิทธิภาพในการแข่งขันการเจริญเติบโตกับเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยวิธี Dual culture method พบว่า แบคทีเรีย 14 ไอโซเลต สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 41.18 –60.56% ขณะที่สารสกัดของแบคทีเรียจำนวน 21 จาก 59 ไอโซเลต สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 43.75-75.0 % เมื่อทดสอบด้วยวิธี Poison plate method ส่วนการทดสอบด้วยวิธี Tip culture method ทำให้สามารถแบ่งแบคทีเรียตามความสามารถของสารสกัดได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินที่ 62.88- 91.10% และ 86.14-94.68% ตามลำดับ ได้แก่ไอโซเลต C4 C6 C14 C25 C43 C37 C8 C46 และ C52 กลุ่มที่ 2 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราน้อยมากแต่สามารถยับยั้งสารแอฟลาทอกซินได้สูงมาก ที่ 20.11-39.94% และ 58.18-92.69% ตามลำดับ ได้แก่ C9 C12 C18 และ C21 กลุ่มที่ 3 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยที่ 51.90-91.10% แต่ไม่ยับยั้งการสร้างสารพิษ ได้แก่ C31 C32 C40 C41 C43 C53 C57 และ C58

คัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *A. flavus* แบบแข่งขัน และไอโซเลตที่สารสกัดสามารถยับยั้งทั้งการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษได้ 15 ไอโซเลต ได้แก่ C1 C2 C3 C5 C9 C12 C17 C21 C33 C36 C37 C46 C52 C53 และ C57 นำมาทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากแต่ละไอโซเลตในการทำลายสารพิษโดยตรงพบว่า C1 สามารถทำลายสารแอฟลาทอกซินได้สูงถึง 66.49% ขณะที่ สารสกัดของแบคทีเรียไอโซเลตที่ C36 C37 C46 และ C53, ไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายสารพิษโดยตรง และการทดลองต่อมาพบว่าแบคทีเรียทั้ง 15 ไอโซเลตสามารถเจริญเพิ่มปริมาณได้ในอาหารที่มีสารแอฟลาทอกซินผสมอยู่ด้วย และสารสกัดของแบคทีเรียทุกไอโซเลตไม่มีความเป็นพิษต่อการงอกของเมล็ดข้าวเปลือกและถั่วเขียว แสดงว่าสารสกัดแบคทีเรียมีความปลอดภัยที่จะนำใช้กับผลิตผลเกษตร

การจำแนกชนิดแกรมของแบคทีเรียทั้ง 15 ไอโซเลตเป็นแบคทีเรียแกรมลบ และผลจากการใช้ชุดทดสอบ API 50 CHB พบว่า แบคทีเรียทั้ง 15 ไอโซเลตเป็นกลุ่ม Bacillus และผลจากการจำแนกด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล (Single Strand16S rDNA sequencing) จำนวน 10 ไอโซเลตพบว่าเป็น *Bacillus* sp. ทั้ง 10 ไอโซเลต โดย C33 แล C46 คือ *Bacillus tequilensis* C53 และ C57 คือ *B. subtilis subsp. Inaquosorum*

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดแบคทีเรียของไอโซเลต C33, C46 และ C53 ในการลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนถั่วลิสงตามธรรมชาติพบว่า สารแอฟลาทอกซินลงได้ 64.24, 69.18 และ 27.67 % ตามลำดับ หลังการคลุกเมล็ดถั่วลิสง 14 วัน ขณะที่การคลุกด้วยเซลล์แบคทีเรียไอโซเลต C46 ลดได้

มากกว่าที่ 85.98 % เมื่อเทียบกับปริมาณแอฟลาทอกซินของชุดควบคุมที่ 28 วันหลังการแช่ฝักถั่วลิสง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียดินไอโซเลต C46 ทั้งในรูปสารสกัดแบคทีเรียและเซลล์แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ในการลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเมล็ดถั่วลิสงกะเทาะเปลือก และไม่กะเทาะเปลือกก็ได้

ผู้เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน ผู้ประกอบการแปรรูป รวมทั้งเกษตรกร สามารถนำผลการทดลองนี้ไปใช้ในการควบคุมเชื้อรา *Aspergillus flavus* และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรทุกขั้นตอนการผลิตตั้งแต่ในแปลงปลูก ช่วงการเก็บรักษา และก่อนนำไปผลิตผลเกษตรไปแปรรูปเป็นอาหาร และอาหารสัตว์ ซึ่งจะทำให้ผลิตผลเกษตร และผลิตภัณฑ์ มีคุณภาพปลอดภัยจากการปนเปื้อนของเชื้อรา และสารแอฟลาทอกซินนอกจากนี้ยังสามารถนำแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพที่ได้จากการทดลองนี้ไปพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เพื่อผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไปได้

การทดลองที่ 1.3 การควบคุมการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรโดยใช้เชื้อรา *Aspergillus flavus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษ

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-56

สำรวจการแพร่กระจายของเชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างสารแอฟลาทอกซินจากดินปลูกพืชซึ่งดำเนินการตามภาคต่าง ๆ ทั่วประเทศ 22 จังหวัด ระหว่างเดือนธันวาคม 2552-กันยายน 2555 การทดลองนี้สามารถแยกเชื้อรา *Aspergillus* section *Flavi* สายพันธุ์ที่สร้างสารแอฟลาทอกซินในดินของประเทศไทยได้ 3 ชนิด คือ *A. flavus*, *A. tamarii* และ *A. nomius* และไม่พบ *A. parasiticus* เมื่อพิจารณาจากลักษณะสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุลสามารถแบ่งกลุ่มย่อยเชื้อรา *A. flavus* ที่พบในดินประเทศไทย ได้เป็น 3 กลุ่มวิวัฒนาการย่อย (Clade) เป็น Clade A B และ C แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *A. flavus* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง โดยพบเชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างสารแอฟลาทอกซินเป็นเชื้อราที่กระจายตัวมากที่สุดในดิน 60.25 % ชี้ให้เห็นว่าประเทศไทย มีความเสี่ยงต่อการตรวจพบการสร้างสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรสูง ในขณะเดียวกันผลการทดลองนี้ประสบความสำเร็จในการแยกเชื้อราที่ไม่สร้างสารพิษที่มีประสิทธิภาพดีตามธรรมชาติที่ตรวจไม่พบยีนการสร้างสารพิษ Aflatoxin gene (*pks*A *afl*R และ *nor*A) จำนวน 1 สายพันธุ์ *A. flavus* (561) เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพการเป็นปฏิปักษ์ในเมล็ดข้าวโพด พบว่าสามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินในข้าวโพดได้ถึง 97.43 % แสดงให้เห็นว่า *A. flavus* (561) ที่ไม่สร้างสารพิษ เป็นเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่พบในประเทศไทย และมีประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อราที่สร้างสารพิษ ทำให้สารแอฟลาทอกซินลดลงถึง 97.43 % สามารถนำไปพัฒนาต่อเป็นในเชิงพาณิชย์ได้

การทดลองที่ 1.4 การควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในพืชผักโดยใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อรา *Macrocybe crassa* (Berk.) Pegler and Lodge

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. ทำการเตรียมสารสกัดออกฤทธิ์จากเชื้อรา *Macrocybe crassa* โดยการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 °C นาน 7 วัน จากนั้นเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว PDB ตั้งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 30 วัน กรองเส้นใยและเก็บเส้นใยที่ได้นำไปอบที่ตู้อบอุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 3 วัน นำเส้นใยแห้งมาบดให้ละเอียด เตรียมไว้สกัดสารออกฤทธิ์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพ

2. การสกัดสารออกฤทธิ์โดยนำเส้นใยแห้งมาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น (blender) จากนั้นสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยเอทิลอะซีเตต (ethyl acetate, EtOAc) จำนวน 3 ครั้ง เก็บสารละลายที่ได้มากรองและระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้ส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซีเตต (crude EtOAc) เก็บ crude ที่ได้ไว้ทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การควบคุมโรคพืชและสารพิษจากเชื้อราด้วยเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าโรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวมีสาเหตุจากเชื้อราหลายชนิด คือ *Lasiodiplodia theobromae, Gliocephalotrichum* spp., *Greeneria* sp., *Colletotrichum gloeosporioides, Pestalotiopsis* sp., *Phomopsis* sp. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกมา 3 สายพันธุ์ คือ DL9, PN10 และ DL7 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ ไม่เป็นพิษต่อพืชปลูก (เมล็ดข้าวและเมล็ดถั่วเขียว) และไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ไตลิง เมื่อจำแนกพบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtillis* หรือ *B. amyloliquefaciens* เมื่อใช้ผลิตเป็นชีวภัณฑ์โดยผสมกับแป้งข้าวเจ้า น้ำมันถั่วเหลืองและซูโครส พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวได้ดี

การใช้แบคทีเรียดินควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร พบว่าแบคทีเรียดินที่คัดแยกได้ จำแนกได้เป็น *Bacillus tequilensis* และ *Bacillus subtilis sub sp. Inaquosorum* สามารถยับยั้งทั้งการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษแอฟลาทอกซิน สามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนถั่วลิสงตามธรรมชาติ ได้มากกว่า 85.98 % ที่ 28 วัน หลังการเก็บรักษา โดยไม่มีความเป็นพิษต่อการงอกของเมล็ดข้าวเปลือกและถั่วเขียว

ประสบความสำเร็จในการแยกเชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษจำนวน 1 สายพันธุ์คือ *A. flavus* (561) ซึ่งไม่มียีนสร้างสารพิษ Aflatoxin gene (*pks*A *afl*R และ *nor*A) เป็นเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่พบในประเทศไทย มีประสิทธิภาพในการควบคุมการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร และมีประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อราที่สร้างสารพิษ สามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินในข้าวโพดได้ถึง 97.43 %

การศึกษาสารสกัดออกฤทธิ์จากเชื้อรา *Macrocybe crassa* พบว่าสามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักกาดขาวได้

2 กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยสารสกัดจากพืช

2 Controls of Post-harvest Plant Diseases and Mycotoxins by Using Plant Extracts

หัวหน้ากิจกรรม

นายชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์

คำสำคัญ

โรคผลเน่า แอฟลาทอกซิน เชื้อรา สารสกัด

Anthracnose, Rot, Aflatoxin, Antagonist, Extract,

บทคัดย่อ

กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยสารสกัดจากพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกชนิดพืชและพัฒนาวิธีการใช้เพื่อการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร กิจกรรมนี้ประกอบด้วย 4 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลไม้หลังเก็บเกี่ยว ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชและวิธีการสกัด พบว่าข่า สารสกัดไพลและขมิ้นชันสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides C. capsici* และ *C. musae* ได้ การทดสอบบนผลพบว่าขมิ้นชันและไพลที่ความเข้มข้น 50,000 ppm มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคบนผลมะม่วงและมะละกอ สารสกัดจากขมิ้นชันความเข้มข้น 50,000 ppm ไพลความเข้มข้น 30,000 และ 20,000 ppm มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคบนผลกล้วยหอม การเตรียมตัวอย่างพืชด้วยวิธีการ freeze dry มีความเหมาะสมในการผลิตสารสกัดจากพืช และพบว่าสารสกัดไพลสามารถชะลอการสูญเสียความแน่นเนื้อและสีเขียวบนผลมะม่วง มะละกอได้

การทดลองที่ 2 การใช้สารสกัดพืชและจุลินทรีย์เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* ในการผลิตผักสด ได้ศึกษาสารสกัดจากพืชในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในสะระแหน่ พบว่าสารสกัดจากผงเปลือกผลทับทิมความเข้มข้น 12,000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ลดการปนเปื้อนในผักสะระแหน่ระหว่างการเก็บรักษาได้ โดยยังคงฤทธิ์การควบคุมถึงช่วง 6 ชม.หลังการทดลอง สามารถควบคุมเชื้อได้ 81.90 %

การทดลองที่ 3 การใช้สารสกัดกระเทียมควบคุมเชื้อราและสารแอฟลาทอกซิน ในพริกแห้ง และพริกป่น ได้ศึกษาสารสกัดจากกระเทียมพบว่า ในน้ำคั้นที่สกัดจากหัวกระเทียมมีสาร allicin และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* สามารถป้องกันเชื้อราและลดการเกิดสารแอฟลาทอกซิน

ได้ เก็บรักษาได้นานถึง 4 เดือน สามารถลดการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินพริกแห้งและพริกป่นที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินได้ 56.52 และ 76.67 % ตามลำดับ

การทดลองที่ 4 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกระชายดำและกะเพราในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *Aspergillus flavus* และลดปริมาณสารแอฟลาทอกซิน ได้ศึกษาสารสกัดหยาบกระเทียม ไพล กระชายดำ ปุดสิงห์ และข่า พบว่ากระชายดำและกะเพราสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และการสร้างสารแอฟลาทอกซินได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ลดการผลิตเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์สารแอฟลาทอกซินลง ควบคุมการเจริญของเชื้อ *A. flavus* บนถั่วลิสงหลังจากเคลือบเป็นเวลา 1 เดือน

Abstract

The objective of activities on “Control of postharvest diseases and mycotoxins by using plant extracts” are selections and developments of effective plant extracts to control the postharvest diseases and mycotoxins in agricultural commodities. The activity is consists of the 4 experiments.

The first experiment is using of plant extracts to control the postharvest antracnose disease on fruits. The extracts from galangal (*Alpinia galanga*) and turmeric (*Curcuma longa*) curcumin (*Curcuma longa*) showed inhibitory effects on mycelial growth of the fungus *C. musae*, *C. gloeosporioides* and *C. capsici*. The results showed that antracnose disease on mango and papaya fruits were controlled with turmeric and curcumin at the same concentrations of 50,000 ppm. While, the extracts at a concentration of 50,000 ppm of turmeric, and 20,000 and 30,000 ppm of curcumin were effective on controlling of antracnose disease on banana fruits. Freeze dry was the most effective method for the production of plant extracts. Furthermore, the mango and papaya fruits treated with curcumin extract gave the low losses of firmness and colors.

The second experiment is using of plant extracts and microorganisms to reduce contamination of *E. coli* and *Salmonella* in fresh produces. The pomegranate (*Punica granatum*) peel powder extracts at a concentration of 12,000 ppm showed that inhibitory effect in *in vitro* test and the efficacy on controlling of *E. coli* contamination in kitchen mint (*Mentha cordifolia*) during storage. The effective of control was 81.90 % and maintaining for 6 hours after the experiment

The third experiment is using of garlic (*Allium sativum*) extract on control of fungi and their aflatoxins production in dry chili and chili powder. The results of the study

revealed that garlic extract, containing allicin, were effective on inhibition of mycelial growth of *Aspergillus flavus* and reduced aflatoxins contamination and the effectiveness was stabled in storage condition up to 4 months. The contamination of aflatoxin in dry chili and chili powder were reduced of 56.52 and 76.67% respectively.

The fourth experiment studies on the efficacy of parviflora (*Kaempferia parviflora*) and holy basil (*Ocimum sanctum*) extracts to control the growth of *A. flavus* and their aflatoxins production. The results showed that parviflora and holy basil were inhibited mycelial growth of *A. flavus* in *in vitro* test and reduced the production of an enzyme involved to aflatoxins synthesis. Moreover, the extracts were provided the effective of control on *A. flavus* contamination on the peanuts at 1 month after the experiment.

บทนำ

การใช้สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นทางเลือกหนึ่งในการที่จะลดปริมาณการใช้สารเคมี เพราะประชาชนตื่นตัวตะหนักถึงพิษภัยและอันตรายที่เกิดจากสารเคมีในด้านสุขภาพและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ประเทศไทยมีพืชสมุนไพรหลากหลายชนิดที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูพืช แต่ในการที่จะนำมาใช้ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวในผลไม้ชนิดต่าง ๆควรจะเลือกชนิดของสมุนไพรที่มนุษย์สามารถบริโภคได้ เพราะผลไม้หรือผลิตผลเกษตรต่างๆเหล่านั้นพร้อมที่จะบริโภคอยู่แล้ว ดังนั้นไม่ควรที่จะมีสารอื่นๆที่เป็นอันตรายตกค้างอีก ผลไม้ดิบและสมุนไพรมีสารออกฤทธิ์ที่ต้านทานโรคและแมลง พบอยู่ทั่วไปหาง่ายและราคาถูก ดังนั้นการทดลองนี้จึงเอาสารสกัดจากผลไม้ดิบและสมุนไพรมาใช้เพื่อลดการเน่าเสียจากโรคแอนแทรคโนส และโรคผลเน่า รวมทั้งการใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดตีนแรดมาควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในผัดสดด้วย

การทบทวนวรรณกรรม

ฉวีวรรณ (2541) รายงานว่าสารสกัดจากสะเดา ตะไคร้หอมและแมงลักคา สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum musae* ได้ โดยสารสกัดสะเดาควบคุมได้ดีที่สุด แต่ไม่สามารถควบคุมโรคโรคแอนแทรคโนสในผลกล้วยหอมได้

วิไลรัตน์ และคณะ (2551) รายงานว่าสารสกัดจาก ข่า กระเทียม และใบดีปลี ที่ระดับความเข้มข้น 50, 500, 5,000 , 10,000 และ 20,000 µg /ml สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการงอกของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ โดยสารสกัดจากข่า กระเทียม และใบดีปลี ที่ใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยถึงปานกลางมีฤทธิ์ในการยับยั้งได้ 100% ที่ความเข้มข้น 5,000 µg /ml ขึ้นไป นอกจากนี้มีรายงานว่า สารสกัดจาก ข่า กระเจี๊ยบแดง และเจตมูลเพลิงแดง ที่ระดับความเข้มข้น 30,000 , 20,000 และ 9,000 ppm ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100 % และที่ระดับความเข้มข้น 15,000 , 20,000 , และ 7,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ 100% (นิรนาม, 2552ก)

นิธิกร (2551) รายงานว่า สารสกัดจากตะไคร้หอม ตะไคร้บ้าน ขมิ้นชัน มีสรรพคุณป้องและกำจัดโรคแอนแทรคโนสและโรคเลื้อยของหอมใหญ่ที่เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides* และไพลมีสรรพคุณป้องกันและกำจัดโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *C. capcisi* นอกจากนี้ นิรนาม (2552ข) รายงานว่าไพลและมะละกอมีสารฆ่าเชื้อรา

Barkai-golan (2001) รายงานว่าพืชตระกูลกะหล่ำ (Cruciferae) เช่นหัวไช่เท้า ผักกวางตุ้ง กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บล็อกคลอลี่ จะผลิตสาร glucosinate ในเนื้อเยื่อ เมื่อพืชเหล่านี้ถูกทำให้ฉีกขาด เอนไซม์ myrosinase ในพืชจะทำปฏิกิริยากับสาร glucosinate ได้สารตัวใหม่ชื่อ isothiocyanate ซึ่งมีคุณสมบัติต้านการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ จึงได้นำสาร isothiocyanate มาทดลองในห้องปฏิบัติการและ

ทดลองกับผลแพร์โดยตรงผลการทดลองพบว่าสาร isothiocyanate สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ได้

นอกจากนี้มีรายงานว่า ผลไม้ขณะดิบจะเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวน้อยกว่าระยะสุก เพราะบนเปลือกของผลไม้มีสารต้านเชื้อรา เช่น resorcinol ในเปลือกของมะม่วง tanninในเปลือกของกล้วยและ benzylisothiocyanate ในเปลือกของมะละกอ เมื่อผลไม้สุกสารต้านเชื้อราจะมีปริมาณน้อยลง (Barkai-golan, 2001)

Punnawich *et al.* (2010) รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกหมากซึ่งประกอบด้วย fernenol arundoin สารผสม stigmasterol และ β -sitosterol และกรด lauric ยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์*Colletotrichum gloeosporioides* ทั้งในห้องปฏิบัติการและในการทดลองกับผลมะม่วงโดยตรงโดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 36.7 47.5 56.7 และ 111.5 µg /l

อมรา และคณะ (2551) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสมุนไพรพื้นบ้าน 16 ชนิดพบว่าสารสกัดจากกระเทียมและกานพลู สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ได้ 100 % แต่สารสกัดกานพลูไม่สามารถทำลายสารแอฟลาทอกซิน ขณะที่สารสกัดกระเทียม กระเพรา โหระพา และข่าสามารถยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินได้ 80-90 % นอกจากนี้สารสกัดกระเทียมสามารทำลายสารแอฟลาทอกซินได้โดยตรงถึง 95.1 %

ผักสดเป็นผลิตผลทางการเกษตรที่มีการเสื่อมเสียได้ง่าย การผลิตในระดับอุตสาหกรรมจึงต้องมีการควบคุมที่ดีโดยเริ่มตั้งแต่แหล่งเพาะปลูก ซึ่งปัจจุบันได้มีการนำระบบ GAP (Good Agricultural Practice) มาใช้ในการเพาะปลูกจนกระทั่งผลิตออกมาเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมจำหน่าย ปัจจุบันมีความต้องการในการบริโภคผักสดพร้อมบริโภคสูงขึ้น ดังนั้น กระบวนการผลิตจึงผ่านวิธีการที่สะอาดและปลอดภัยต่อการบริโภค จากรายงานการเกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจาก การบริโภคผักผลไม้ พบว่ามีสาเหตุมาจากผักเป็นส่วนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งผักสลัด ซึ่งมักเป็นผักสดที่ต้องผ่านการจับต้องจากผู้ประกอบอาหาร ดังนั้น ผู้ที่ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องจึงต้องระมัดระวังเรื่องสุขอนามัยเป็นอย่างยิ่ง แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษและมักพบว่าปนเปื้อนมากับผักผลไม้พร้อมบริโภค คือ *Escherichia coli* O 157:H7, *Listeria monocytogenes, Shigella, Salmonella* และไวรัสตับอักเสบเอ (Singh *et al.*, 2002)

นอกจากผักผลไม้จะมีการปนเปื้อนของยาฆ่าแมลงหรือสารเคมีแล้ว ยังมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม โดยอาจมาจากดิน น้ำ หรือปุ๋ย (Brackett, 2000) ชนิดของแบคทีเรียที่มักพบในดินและทำให้เกิดโรค คือ *Bacillus*, *Clostridium* และ *Listeria* โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียที่ทนทานต่อความร้อน เช่น *Clostridium botulinum* และ *C. perfringens* บริเวณพื้นที่ที่ใช้เลี้ยงสัตว์มักมีจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ปะปนออกมากับสิ่งขับถ่ายของสัตว์ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในมนุษย์ ดังนั้นการใช้ปุ๋ยคอกบำรุงพืชอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนสู่อาหาร เช่น มีการตรวจพบแบคทีเรีย

Salmonella typhimurium และ *E. coli* O157:H7 ที่ใบและรากของผักที่ปลูกโดยการใช้ปุ๋ยคอก (Natving *et al*, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่า *Salmonella, E. coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* สามารถรอดชีวิตอยู่ในปุ๋ยคอกได้เป็นระยะเวลานาน (Tauxe, 1997; Brackett, 1999) ผัก-ผลไม้ต่างชนิดกันจะมีจำนวนและชนิดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนต่างกัน จำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเริ่มต้นจะบ่งชี้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ในขั้นตอนสุดท้าย หากมีจุลินทรีย์เริ่มต้นปนเปื้อนในวัตถุดิบมาก จะทำให้ผักผลไม้มีคุณภาพที่ด้อยลงและมีอายุการเก็บที่สั้นกว่าปกติ (Zagory, 1999)

โดยทั่วไปนิยมใช้คลอรีนในการการล้างผักและผลไม้ โดยใช้ในรูปของสารละลายไฮโปคลอไรต์ ปริมาณ 50-200 ppm (Active chlorine) อย่างไรก็ตามไม่ควรนำน้ำที่ใช้ในการล้างผักและผลไม้กลับมาหมุนเวียนใช้ใหม่ เพราะจะทำให้มีการสะสมของจำนวนจุลินทรีย์มากขึ้นและเป็นการเพิ่มการปนเปื้อนให้กับตัววัตถุดิบ (Hulland, 1980) สารอินทรีย์ที่สะสมในน้ำจะทำให้ประสิทธิภาพของคลอรีนลดลง นอกจากนี้จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความต้านทานต่อคลอรีนที่แตกต่างกัน *Listeria monocytogenes* มีความต้านทานต่อคลอรีนมากกว่า *Salmonella* และ *E. coli* O157:H7 (Burnett and Beuchat, 2001)

นอกจากสารประกอบคลอรีนแล้ว ยังมีสารอีกหลายชนิดที่นิยมนำมาใช้กับผัก เช่น คลอรีนไดออกไซค์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหรือแอมโนเนียเกิดเป็นคลอรามีนซึ่งเป็นสารที่เป็นพิษ Food and Drug Administration แห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (USFDA) อนุญาตให้ใช้คลอรีนไดออกไซค์ในการล้างผักและผลไม้ (Singh *et al.*, 2002) นอกจากนี้ยังมีการใช้โอโซนซึ่งได้รับการรับรองแล้วว่าเป็นสารทีมีความ ปลอดภัยที่จะนำมาใช้กับอาหาร (Generally Recognized as Safe-GRAS) เพื่อล้างผักและผลไม้ (Xu, 1999) โดยโอโซนสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้หลากชนิดกว่าคลอรีน

ผักประเภทใบเป็นผักที่มีโอกาสในการปนเปื้อนสูงที่สุด เนื่องจากมีพื้นผิวสัมผัสมากทำให้ง่ายต่อการยึดเกาะของจุลินทรีย์ ถึงแม้ว่าการตัดแต่งส่วนที่เน่าเสียออกก่อนการล้างจะช่วยกำจัดจุลินทรีย์ออกบางส่วนก็ตาม แต่การตัดแต่งอาจทำให้เนื้อเยื่อพืชฉีกขาดทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับ น้ำหรือสิ่งแวดล้อมสามารถเข้าทำลายได้ง่ายขึ้น ผักบางชนิดไม่สามารถทำความสะอาดโดยวิธีการล้างเนื่องจากมีลักษณะทางกายภาพที่ค่อนข้างช้ำได้ง่าย เช่น พริกหวาน (Green pepper) จึงอาจใช้การฉายรังสีที่ความเข้มต่ำ (Low dose ionizing radiation) (NACMCF, 1999) ทดแทนเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

ด้วยเหตุที่ผักมักพบการปนเปื้อนที่ผิวโดยอาจเนื่องมาจากเซลล์อาจเกิดความเสียหาย ตั้งแต่แปลงเพาะปลูก จากการเข้าทำลายของแมลง นก หรือจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังอาจเกิดความเสียหายในระหว่างการเก็บเกี่ยว เมื่อผักผลไม้เข้าสู่กระบวนการผลิต กรรมวิธีการผลิตก็อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เซลล์พืชสูญเสียความแข็งแรง สารอาหารภายในเซลล์จึงออกมาภายนอก ทำให้จุลินทรีย์ที่ผิวพืชสามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญและเพิ่มจำนวน หากกำจัดจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคเหล่านี้ไม่หมดในระหว่างกระบวนการผลิต หรือประกอบอาหารและผู้บริโภครับประทานเข้าไปจะทำให้ผู้บริโภคได้รับโรคอาหารเป็นพิษในที่สุด นอกจากนี้มีรายงานว่าสาร

ออกฤทธิ์จากเห็ดตีนแรดก็สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้ Boehlendorf *et al.* (2004) รายงานว่าสาร aurisin A ที่แยกได้จากเห็ดในสกุล *Panus* sp. มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น *Pythium ultimum*, *Venturia inaequalis*, *Plasmopara viticola*, *Puccinia graminis* และ *Phytopthora infestans* สุรีย์พร (2550) ได้ศึกษาสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* พบว่า สารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อการตายของไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) คือ สาร aurisin A

มีการศึกษาเพื่อลดปริมาณเชื้อราสาเหตุและสาร AFB1 หลายวิธีการ โดยเฉพาะการใช้สารเคมี แต่สารเคมีเหล่านั้นอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค (Pal and Gardener, 2006) จึงมีการศึกษาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ เช่น พืชและจุลินทรีย์ และวิธีการทางกายภาพ เช่น การใช้ความร้อน ในการควบคุมการเกิดเชื้อราและลดปริมาณ AFB1 รายงานวิจัยหลายฉบับพบว่าพืชสมุนไพร (medicinal plants) หลายชนิดมีสารสำคัญที่กำจัดเชื้อราได้ เช่น สารสกัดจากกานพลู กระเทียม ข่า ตะไคร้ กระชายดำและกะเพรา (อมรา และคณะ, 2553; Reddy *et al.*, 2009) โดย อมรา และคณะ (2553) รายงานว่าน้ำคั้นกระชายดำสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้ 83.33 % และ ยับยั้งการผลิตสารแอฟลาทอกซิน 92.43 % ขณะที่น้ำคั้นกะเพราสามารถชะลอการเจริญของเชื้อราได้ค่อนข้างต่ำ แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างสาร AFB1 ได้มากถึง 83.23 % นอกจากนี้ยังมีผลการศึกษาโดย Yenchai *et al*. (2004) พบว่าสารสำคัญในเหง้ากระชายดำ คือ borneol, sylvestrene, 5,7- dimethoxyflavone (5,7 DMF) และฟลาโวนอยด์ 9 ชนิด เช่น สาร 5,7,4'-trimethoxyflavone และ 3,5,7,4' –tetramethoxyflavone เป็นต้น ซึ่งมีฤทธิ์ในการขยายหลอดเลือดแดง (ในหนูทดลอง) ต้านการอักเสบ และต้านจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามการวิจัยที่ผ่านมามุ่งเน้นผลของสารออกฤทธิ์ในการรักษาหรือบรรเทาอาการเจ็บป่วยในสัตว์หรือมนุษย์ แต่ยังไม่มีผลการศึกษารายงานถึงชนิด ความเข้มข้น และกลไกการทำงานของสารสำคัญในกระชายดำและกะเพรา รวมถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และการทำลายสาร AFB1 ในผลิตผลเกษตร หากสามารถเข้าใจวิธีการทำงานของสารสำคัญจากสารสกัดพืช จะสามารถนำสารสำคัญเหล่านี้ไปพัฒนาเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ในการควบคุมเชื้อรา *A. flavus* และลดการปนเปื้อนสาร AFB1 ที่สามารถใช้ได้สะดวก รวดเร็วและเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภคผู้บริโภค

ระเบียบวิธีวิจัย

การทดลองที่ 2.1 การใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลไม้หลังเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-58

1 แยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

แยกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จากผลมะม่วง มะละกอ กล้วยหอม ที่เป็นโรค ด้วยวิธี Tissue Transplanting Technique พิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's Postulation)

2 ศึกษาชนิดพืชที่มีศักยภาพและเลือกประเภทตัวอย่างที่เหมาะสมและทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

โดยมีตัวอย่างพืชดังนี้ ไพล หญ้ามาเลเซีย เปลือกหมากดิบ เนื้อหมากดิบ ข่า เปลือกกล้วยหอมดิบ เปลือกมะม่วงดิบ ตะไคร้ เปลือกมะละกอดิบ หัวไชเท้า ใบกวางตุ้ง ขมิ้นชัน

เลือกวิธีเตรียมตัวอย่างพืชที่เหมาะสม 3 วิธี คือ สด Freeze dry และแห้ง ตัวอย่างพืชที่ผ่านการเตรียมดังกล่าว นำพืช 6 ชนิด ได้แก่ ข่า เปลือกกล้วยหอม เปลือกมะม่วง ตะไคร้ หัวใช้เท้า และไพล มาสกัดสารสกัดหยาบเพื่อนำไปทดสอบทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. capsici* และ *C. musae* ด้วยวิธี Filter paper disc method

3 ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดไพลและขมิ้นชัน ในการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง มะละกอและกล้วยหอมปลูกเชื้อ โดยคัดเลือกผลมะละกอ มะม่วง และกล้วยหอม ที่สมบูรณ์ ทำการปลูกเชื้อโดยการสเปรย์สปอร์แขวนลอย และทำแผลด้วยเข็มเขี่ย จากนั้นนำมาทาด้วยสารสกัดหยาบความเข้มข้นต่างๆ 2 ครั้ง เก็บรักษาผลิตผลที่อุณหภูมิห้อง บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและวัดเส้นผ่าศูนย์กลางแผล

4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนสและคุณภาพบนผลมะม่วง มะละกอและกล้วยหอมจากตามธรรมชาติจากแปลงปลูก (ไม่ปลูกเชื้อ) ดำเนินการเหมือนข้อ 3 แต่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ วัดคุณภาพตรวจเช็คเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำ ความแน่นเนื้อ ปริมาณกรดที่ไตรเตรทได้ (TA) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) วิตามินซีและสีประกอบด้วยค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง/เขียว (a*) และค่าสีเหลือง/น้ำเงิน (b*)

การทดลองที่ 2.2 การใช้สารสกัดพืชและจุลินทรีย์เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* ในการผลิตผักสด

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-56

1 การเตรียมสารสกัดพืช โดยนำตัวอย่างพืชแห้ง ได้แก่ เปลือกผลทับทิม ใบทับทิม ใบฝรั่ง เหง้าข่า รากกระชาย และเปลือกผลมังคุด มาบดให้ละเอียดแล้วสกัดด้วยเอธานอล 95 % สารสกัดหยาบที่ได้ นำมาลดปริมาตรด้วยเครื่องระเหยสารภายใต้ความดันอากาศต่ำ (vacuum rotary evaporator) วัดปริมาณผลผลิตสารสกัดที่ได้ต่อตัวอย่างพืชแห้ง 1 กรัม

2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมเชื้อ *E. coli* ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยนำสารสกัดทั้งหมด 8 ชนิด มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *E. coli* ในสภาพห้องปฏิบัติการโดยใช้วิธี

filter paper disc method วัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสที่เกิดรอบชิ้นกระดาษกรองทุก 24 ชม.เป็นเวลา 3 วัน

3. การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้สารสกัดพืช สารสกัดจากเปลือกผลทับทิมทั้งหมดที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 2 นำมาทดสอบการประมาณค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดพืชในการนำมาใช้ควบคุมเชื้อ *E. coli* ด้วยวิธี Gradient plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชเพื่อลดการปนเปื้อนในผักสะระแหน่ระหว่างการเก็บรักษา จากผลการทดลองที่ 1 พบว่าเปลือกผลทับทิมผงให้ผลผลิตสารสกัดมากเป็นอันดับสอง รองจากสารสกัดเปลือกผลมังคุด ต่อมาในการทดลองที่ 2 พบว่าสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมทุกตัวอย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดหยาบจากพืชอื่นในการควบคุมเชื้อ *E. coli* และผลจากการทดลองที่ 3 พบว่าสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมผงมีค่าโดยประมาณของความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้อยู่ที่ประมาณ 4,000 ppm จึงเลือกสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมผงมาทำการทดลองการลดการปนเปื้อนในผักสะระแหน่ระหว่างการเก็บรักษา เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ 12 ℃ บันทึกผลการทดลองทำโดย การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ด้วยวิธี plate count technique อาหารเลี้ยงเชื้อ Colinstant chlomogenic agar (Selective medium) เป็นเวลา 24 ชม. นับจำนวนโคโลนีที่เจริญ แล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อน้ำหนักตัวอย่างผักสด 1 กรัม (cfu/ml) ทำการตรวจวัดการปนเปื้อนรวม 3 ครั้ง ที่ 0, 6 และ 24 ชม. หลังการทดลอง

การทดลองที่ 2.3 การใช้สารสกัดกระเทียมควบคุมเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินในพริกแห้งและพริกป่น

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. ศึกษาสารออกฤทธิ์ในกระเทียมที่ควบคุมการเจริญของเชื้อรา 3 รูปแบบ คือ กระเทียมผงละลายน้ำความเข้มข้น 10 % (W/V) น้ำคั้นกระเทียมสดเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็น 75% น้ำมันกระเทียมที่ได้จากการสกัดด้วยเอธานอล และ สาร allicin มาตรฐานความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่น TLC แล้วนำแผ่น TLC ไป develop ในโถแก้วที่มีสารตัวพา คือ hexane: isopropanol = 3:1 (v/v) นำแผ่น TLC มาตัดได้ชิ้นส่วน TLC จำนวน 36 ชิ้นต่อแถบสารสกัด วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอ ที่มีสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ผสม บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชม. หลังจากนั้นวัดขนาดของ Clear Zone ที่เกิดขึ้น

2 การศึกษาประสิทธ์ภาพของน้ำคั้นกระเทียมที่ความเข้มข้นระดับ 100, 50, 25 และ 12.5 % ต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยทดสอบการเจริญของเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อ ด้วยวิธี poisoned food technique และ ทดสอบการงอกของสปอร์ ด้วยวิธี slide culture method

3. การศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นกระเทียมและระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่พริกสดเม็ดใหญ่เพื่อแปรรูปเป็นพริกแห้ง โดยวางแผนการทดลองแบบ factorial in RCB จำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี โดยมี

2 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1คือระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นกระเทียม 3 ระดับคือ 75, 50 และ 25 % ปัจจัยที่ 2 คือ ระยะเวลาในการแช่พริกสด คือ 10, 20 และ 30 นาที นำพริกสดผลใหญ่แช่ในน้ำคั้นกระเทียมตามกรรมวิธี อบที่อุณหภูมิ 60 ℃ เป็นเวลา 72 ชม. เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 วัน ตรวจการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA

4 การทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาพริกแห้งแปรรูป โดยการแช่น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 75, 50 และ 25 % เป็นเวลา 20 นาที เก็บในถุงพลาสติก PE (Polyethylene) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน นำพริกแห้งมาตรวจการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA ทุกเดือน

5. การศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นกระเทียมในการแช่พริกแห้ง พริกแห้งผลใหญ่ทดสอบที่ความเข้มข้นของน้ำคั้นกระเทียม 3 ระดับคือ 75, 50 และ 25 % เก็บรักษา 1 และ 2 เดือน พริกแห้งผลเล็กทดสอบกับน้ำคั้นกระเทียมที่ระดับความเข้มข้น 50 % เพียงระดับเดียว

6. ศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นกระเทียมในการลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินในพริกป่นและระยะเวลาในการเก็บรักษา ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นกระเทียม 5 ระดับ คือ 100, 75, 50, 25 และ 0 % (ชุดควบคุม) ตัวอย่างพริกป่นคลุกให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน ใส่ในเครื่องกวนแล้วเติมน้ำคั้นกระเทียมลงไปปริมาณ 300 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม ผึ่งให้แห้ง บรรจุในถุง PE ปริมาณ 100 กรัมต่อถุง เก็บที่อุณหภูมิห้อง สุ่มตัวอย่างที่เวลา 5, 10 และ 15 วัน ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน

7. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำคั้นกระเทียมที่ใช้แล้วในการทำลายสารแอฟลาทอกซินโดยตรง น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 75, 50 และ 25% ทำการทดสอบประสิทธิภาพในหลอดทดลองในอัตราส่วน 1: 1 บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน วิเคราะห์ปริมาณสารแอฟลาทอกซิน โดยวิธี ELISA

การทดลองที่ 2.4 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกระชายดำและกะเพราในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *Aspergillus flavus* และลดปริมาณสารแอฟลาทอกซิน

ระยะเวลาเริ่มต้น-สิ้นสุด ปี 56-58

การทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ทดสอบการสกัดพืชตัวอย่างด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ตามชนิด polarity ได้แก่ เอธานอล เมธานอล ไดคลอโรมีเธน และเฮกเซน

2. ทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในการควบคุมเชื้อราและสารพิษจากเชื้อรา วางแผนการทดลองแบบ CRD สารสกัดหยาบพืช 5 ชนิด ได้แก่ กระเทียม กระชายดำ ไพล ข่า และปุดสิงห์ และความเข้มข้น 12 ระดับ ได้แก่ 0, 50, 100, 200, 400, 800, 1,000 2,000 3,000 4,000 5,000 และ 6,000 ppm จำนวน 5 ซ้ำต่อกรรมวิธี

3. เปรียบเทียบลักษณะของเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมของสารสกัดหยาบชนิดต่างๆ หลังจากเก็บที่ 30 °C เป็นเวลา 10 วัน และวิเคราะห์ปริมาณสารแอฟลาทอกซินด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ในวันที่ 14 ของการทดลอง

4. ทดสอบผลของสารสกัดหยาบต่อเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเชื้อรา *A. flavus*

5. ทดสอบผลของสารสกัดหยาบชนิดต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อ *A. flavus* และผลิต Aflatoxin B1 ในเมล็ดถั่วลิสง วางแผนการทดลองแบบ CRD สารสกัดหยาบ 4 ชนิดได้แก่ กระชายดำ ไพล ข่า และปุดสิงห์ จำนวน 5 ซ้ำต่อกรรมวิธี เก็บรักษาที่ 30 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 80 % เป็นเวลา 1 เดือน

6. วิเคราะห์สารประกอบสำคัญในสารสกัดหยาบแต่ละชนิด ด้วยวิธี GC-MS

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การทดลองที่ 2.1 การใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลไม้หลังเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-58

1 เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส คือ *Colletotrichum gloeosporioide* และ *C. musae*

2. ชนิดพืชที่มีศักยภาพและเลือกประเภทตัวอย่างที่เหมาะสมและทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา พบว่าสารสกัดที่มีศักยภาพคือ ข่า ไพล เปลือกกล้วยหอม เปลือกมะม่วง ตะไคร้ หัวไชเท้า สามารถยับยั้ง *C. gloeosporioides* ของ มะละกอ และมะม่วง และ *C. musae* ของกล้วยได้ และพบว่าสารสกัดโดย freeze dry และวิธีตากแห้ง มีประสิทธิภาพเท่ากัน ในการยับยั้ง *C. gloeosporioides* โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 16.39 และ 14.50 มม. ส่วนประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการเจริญของ *C. musae* พบว่าสารสกัดจาก freeze dry มีประสิทธิภาพมากที่สุด รองลงมาคือ พืชตากแห้ง สารสกัดจากพืชสดมีประสิทธิภาพต่ำสุด

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* *C. capsici* และ *C. musae* ในจานเลี้ยงเชื้อ พบว่าสารสกัดหยาบจาก ข่า ไพล และขมิ้นชัน ที่ความเข้มข้น 5,000ม 10,000 และ 50,000 ppm สามารถควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides*, *C. capsici* และ *C. musae* ในจานเลี้ยงเชื้อได้ดี โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 50,000 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางของการยับยั้งสูงสุด

4. ทดสอบประสิทธิภาพ ของสารสกัดในการยับยั้ง การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง มะละกอ และกล้วยหอมปลูกเชื้อ จากผลการทดลองในมะม่วง พบว่า ไพลและขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 50,000 ppm มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและเส้นผ่าศูนย์กลางแผลต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม 1 (น้ำ) และ ควบคุม 2 (แอลกอฮอล์ 20 %) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ วันที่ 7 ของการเก็บรักษา

มะละกอ จากผลการทดลองพบว่า ไพลและขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 50,000 ppm มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสจากเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ไม่สามารถควบคุมโรคจากการทำแผลเพราะเมื่อเกิดบาดแผลเชื้อเจริญอย่างรวดเร็ว

กล้วยหอม จากผลการทดลองพบว่า การสเปรย์เชื้อทุกกรรมวิธี มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ส่วนวิธีทำแผล พบว่าขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 50,000 ppm และ ไพลที่ความเข้มข้น 30,000 และ 20,000 ppm มีเส้นผ่าศูนย์กลางของการเกิดแผลต่ำกว่ากรรมวิธีการควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทาสถิติ

5. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนสและคุณภาพบนผลมะม่วง มะละกอ และกล้วยหอม ตามธรรมชาติจากแปลงปลูก (ไม่ปลูกเชื้อ) พบว่าในมะม่วงมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและการสูญเสียน้ำไม่แตกต่างกันระหว่างกรรมวิธี ในมะละกอ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่มีความแตกต่างระหว่างกรรมวิธี กรรมวิธีที่ทาด้วยไพลมีความแน่นเนื้อ วิตามินซี ค่าความสว่างและมีค่าสีแดงต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น

6. กรรมวิธีที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงและมะละกอคือการทาด้วยไพลและขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 50,000 ppm นอกจากนี้กรรมวิธีที่ทาด้วยไพลสามารถชะลอการสูญเสียความแน่นเนื้อและสีเขียว กรรมวิธีที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของกล้วยหอมคือขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 50,000 ppm และ ไพลที่ความเข้มข้น 30,000 และ 20,000 ppm

การทดลองที่ 2.2 การใช้สารสกัดพืชและจุลินทรีย์เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* ในการผลิตผักสด

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-56

1 จากการการสกัดสารสกัดพืชจากตัวอย่างพืชแห้งพบว่าสารสกัดจากผงเปลือกผลทับทิมให้ผลผลิตสารสกัดต่อกรัมตัวอย่างพืชแห้งมากเป็นอันดับสองรองจากสารสกัดเปลือกผลมังคุด

2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมเชื้อ *E. coli* ในระดับห้องปฏิบัติการพบว่ามีเพียงสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมเท่านั้นที่แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *E. coli*

3 จากการทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้สารสกัดพืช พบว่ากรรมวิธีสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมผงมีความยาวโคโลนีเชื้อ *E. coli* สั้นที่สุด มีค่าประมาณของความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้อยู่ที่ประมาณ 4,000 ppm

4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืช เพื่อลดการปนเปื้อนในผักสะระแหน่ระหว่างการเก็บรักษา สารสกัดจากผงเปลือกผลทับทิมที่ความเข้มข้น 12,000 ppm ซึ่งเทียบเท่ากับ 18.18 กรัมน้ำหนักแห้ง

ของเปลือกทับทิมผงต่อน้ำ 1 ลิตร ช่วยลดการปนเปื้อนเริ่มต้นได้ถึง 69.54 % ดีกว่าการล้างด้วยคลอร็อกซ์ 120 ppm และการล้างน้ำกลั่นอย่างเดียว และยังคงฤทธิ์การควบคุมถึงช่วง 6 ชม.หลังการทดลอง โดยควบคุมได้ 81.90 % อย่างไรก็ตาม ที่ 24 ชม. หลังการทดลองไม่มีกรรมวิธีใดที่สามารถควบคุมการปนเปื้อนให้ต่ำกว่า 100 cfu/ml

การนำไปใช้ประโยชน์ การใช้สารสกัดเปลือกทับทิมผงในการควบคุมการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ในผักสดถือเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำไปใช้ในโรงคัดบรรจุ ทั้งยังเป็นการนำเอาวัสดุเหลือใช้จากอุตสาหกรรมผลิตน้ำทับทิมมาใช้ให้เกิดประโยชน์ และอาจใช้เพื่อควบคุมเชื้อ *E. coli* ในผลิตผลอื่นได้ หรือแม้แต่ประยุกต์ใช้ในแปลงเพื่อลดการปนเปื้อนตั้งต้นตั้งแต่ก่อนการเก็บเกี่ยว

การทดลองที่ 2.3 การใช้สารสกัดกระเทียมควบคุมเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินในพริกแห้งและพริกป่น

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

สารสำคัญในน้ำคั้นกระเทียมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ได้คือสาร allicin และน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 100, 75 และ 50% สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* ได้ภายในเวลา 24 ชม. การแปรรูปจากพริกสดเป็นพริกแห้งที่มีคุณภาพ ทำได้โดยการคัดเลือกผลพริกสดที่มีคุณภาพ ไม่เน่าเสีย นำมาล้างน้ำให้สะอาด แล้วแช่น้ำคั้นกระเทียมที่ความเข้มข้น 50-75 % นาน 20 นาที ผึ่งให้แห้งแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 72 ชม. จะสามารถป้องกันเชื้อราและลดการเกิดสารแอฟลาทอกซินได้ และเก็บรักษาได้นานถึง 4 เดือน นอกจากนี้พริกที่ผ่านการแช่น้ำคั้นกระเทียมจะมีผิวที่มันวาวและไม่เหี่ยวย่น ในกรณีของพริกแห้งผลใหญ่ที่วางจำหน่ายตามตลาดที่มีการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินมาก่อแล้ว เมื่อนำมาแช่น้ำกระเทียมความเข้มข้น 75 % นาน 20 นาที แล้วอบให้แห้งอีกครั้งสามารถลดการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินลงได้ถึง 56.52 % เมื่อเก็บพริกไว้นาน 2 เดือน ในพริกป่นที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินสูงถึง 78.3 พีพีบี เมื่อนำมาคลุกด้วยน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 100, 75, 50 และ 25 % ในอัตราส่วน 3:1 (พริกป่น:น้ำคั้นกระเทียม w/v) สามารถลดสารแอฟลาทอกซินลงได้ 76.67, 67.67, 38.21 และ 17.02 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าน้ำกระเทียมที่ใช้แล้วเมื่อนำมาเก็บอุณหภูมิ 15 °C นาน 15 วัน สามารถนำกลับมาใช้ได้โดยยังมีประสิทธิภาพในการทำลายแอฟลาทอกซินถึง 87.41 %

การทดลองที่ 2.4 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกระชายดำและกะเพราในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *Aspergillus flavus* และลดปริมาณสารแอฟลาทอกซิน

ระยะเวลาเริ่มต้น-สิ้นสุด ปี 56-58

สารสกัดหยาบกระเทียม ไพล กระชายดำ ปุดสิงห์ และข่า ที่สกัดด้วยเอธานอล 95 % มีประสิทธิภาพในการลดอัตราการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* รวมถึงลดการสร้างสารแอฟลาทอกซินได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Sucrose (YES) ทั้งแบบอาหารแข็งและอาหารเหลว และพบว่าสารสกัดพืชในการทดลองนี้ทำ

ให้ลักษณะสัณฐานของ *A. flavus* มีการเจริญที่ปกติเมื่อเทียบกับเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารสกัดพืชผสม นอกจากนี้สารสกัดหยาบพืชนี้ทำให้ *A. flavus* ผลิตเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์สารแอฟลาทอกซินได้น้อยลง เมื่อนำสารสกัดหยาบพืชเคลือบถั่วลิสงเพื่อควบคุมการเจริญของเชื้อ *A. flavus* พบว่าไม่มีเชื้อราปรากฏบนถั่วลิสงหลังจากเคลือบเป็นเวลา 1 เดือน อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบทำให้ถั่วลิสงมีสีและกลิ่นเปลี่ยนแปลงไป อาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

สามารถนำไปใช้ประโยชน์โดยเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับนักวิจัยที่เกี่ยวข้องและผู้สนใจทั่วไป และสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้กับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการควบคุมโรคพืชและสารพิษจากเชื้อราด้วยสารสกัดจากพืช พบว่า ข่า สารสกัดไพลและขมิ้นชันสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides C. capsici* และ *C. musae* ได้ ขณะที่การทดสอบบนผล พบว่าขมิ้นชันและไพลที่ความเข้มข้น 50,000 ppm มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคบนผลมะม่วงและมะละกอ สารสกัดจากขมิ้นชันความเข้มข้น 50,000 ppm ไพลความเข้มข้น 30,000 และ 20,000 ppm มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคบนผลกล้วยหอม การเตรียมตัวอย่างพืชด้วยวิธีการ freeze dry มีความเหมาะสมในการผลิตสารสกัดจากพืช และพบว่าสารสกัดไพลสามารถชะลอการสูญเสียความแน่นเนื้อและสีเขียวบนผลมะม่วง มะละกอได้

สารสกัดจากผงเปลือกผลทับทิมความเข้มข้น 12,000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ลดการปนเปื้อนในผักสะระแหน่ระหว่างการเก็บรักษาได้ โดยยังคงฤทธิ์การควบคุมถึงช่วง 6 ชม.หลังการทดลอง สามารถควบคุมเชื้อได้ 81.90 % เป็นทางเลือกหนึ่งในการนำไปใช้ในโรงคัดบรรจุ หรือแม้แต่ประยุกต์ใช้ในแปลงเพื่อลดการปนเปื้อนตั้งต้นตั้งแต่ก่อนการเก็บเกี่ยวในการผลิตผักสด

การควบคุมเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินด้วยสารสกัดจากพืชพบว่า สาร allicin ในน้ำคั้นที่สกัดจากหัวกระเทียมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* สามารถป้องกันเชื้อราและลดการเกิดสารแอฟลาทอกซินได้ เก็บรักษาได้นานถึง 4 เดือน ลดการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินพริกแห้งและพริกป่นที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินสูงได้ 56.52 และ 76.67 % ตามลำดับ

สารสกัดหยาบกะเพรา และกระชายดำ ที่สกัดด้วยเอธานอล 95 % มีประสิทธิภาพในการลดอัตราการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และการสร้างสารแอฟลาทอกซินได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้ *A. flavus* ผลิตเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์สารแอฟลาทอกซินได้น้อยลง ควบคุมการเจริญของเชื้อ *A. flavus* บนถั่วลิสงหลังจากเคลือบเป็นเวลา 1 เดือน

3 กิจกรรมการควบคุมโรคโดยใช้สารกลุ่ม GRAS

3 Controls of Post-harvest Plant Diseases by Using GRAS Agents

หัวหน้ากิจกรรม

นางสาวรัมม์พัน โกศลานันท์

คำสำคัญ

โรคผลเน่า ไบคาร์บอเนต กรดอินทรีย์ คาร์บอเนต สารกลุ่มปลอดภัย

Anthracnose, Rot, GRAS, Methyl jasmonate, Methyl salicylate

บทคัดย่อ

กิจกรรมการควบคุมโรคโดยใช้สารกลุ่ม GRAS มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกชนิดสารที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (generally recognized as safe, GRAS) ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว ได้ดำเนินการทดลอง 5 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การใช้กรดอินทรีย์ควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว ได้ศึกษาประสิทธิภาพกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ พบว่า acetic acid และ oxalic acid สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp ใน มะละกอ กล้วยหอม มะม่วง และแก้วมังกรที่ปลูกเชื้อได้ ขณะที่มีเพียง oxalic acid เท่านั้นที่ควบคุมโรคที่เกิดโดยธรรมชาติบนผลมะละกอ

การทดลองที่ 2 การใช้ Methyl Jasmonate และ Methyl Salicylate เพื่อควบคุมโรคเน่าของผลไม้จากเชื้อ *Phomopsis* sp. พบว่าสาร methyl salicylate มีศักยภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของผลเงาะและลองกองที่เกิดจากเชื้อ *Phomopsis* sp. โดยให้ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับระดับการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ β -1,3 glucanase ที่สูงขึ้นในผลลองกองที่ได้รับสาร

การทดลองที่ 3 การใช้กรดอินทรีย์และเกลืออนินทรีย์ควบคุมโรคผลเน่าของผลไม้หลังเก็บเกี่ยว ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว พบว่า citric acid ที่ 3 % สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Dothiorella* sp. ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) แต่การทดลองบนผลมะม่วง (*in vivo*) กลับพบว่า sodium metabisulphite ที่ 1 % สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ดีกว่า

การทดลองที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ และเกลืออนินทรีย์ ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเน่าหลังเก็บเกี่ยวของผลไม้ ได้ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโรคผลเน่าของแก้วมังกรหลังการเก็บเกี่ยวในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) และบนผลแก้วมังกร (*in vivo*) พบว่า propionic acid และ

sodium carbonate ที่ความเข้มข้น 0.08 และ 3.0 % ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคได้ แต่กลับไม่สามารถควบคุมโรคในการทดลองบนผลแก้วมังกร

การทดลองที่ 5 วิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักสดหลังการเก็บเกี่ยว ได้ศึกษาประสิทธิภาพสาร GRAS พบว่าcitric acid ที่ 0.6 % สามารถควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* ในการทดลองกับยอดสะระแหน่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 10 $^{\circ}$C ขณะที่การทดลองที่ทำกับยอดสะระแหน่ที่เก็บเกี่ยวจากแปลงปลูก พบว่าการล้างด้วย citric acid ที่ 6 % และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 $^{\circ}$C สามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ได้นานถึง 3-24 ชม.

Abstract

The objective of activities on “Control of postharvest diseases by using GRAS substances” are a selection of GRAS (generally recognized as safe) substances those effective on control postharvest diseases. The five experiments in this activity were conducted as described below.

The first experiment is using of organic acids on controlling of postharvest anthracnose diseases on fruits. The results of the studies showed that acetic acid and oxalic acid were effective to control anthracnose disease caused by *Colletotrichum* spp. on the artificial of papaya, mango and banana while, the trials on controlling of the naturally infected fruits of papaya, only oxalic acid gave effective results.

The second experiment is using of Methyl Jasmonate and Methyl Salicylate on control of fruits rot caused by *Phomopsis* sp.. The results showed that methyl salicylate has the potential to control fruit rot of longkong (*Lansium parasiticum*) and rambutan (*Nephelium lappaceum*) fruits caused by *Phomopsis* sp.. The results revealed that the substance was involved with the activity of enzyme β -1,3 glucanase stimulated in longkongs were exposure.

The third experiment is using of organic acids and inorganic salts to control postharvest fruit rot. The results showed that citric acid at a concentration of 3 % was effective on mycelial growth inhibition of *Dothiorella* sp., in *in vitro* test, while the trials on controlling postharvest fruit rot of mangoes (*in vivo*) revealed that sodium metabisulphite at a concentration of 1 % gave better results on inhibition.

The fourth experiment is the efficacy tests of organic acids and inorganic salts to control postharvest fruit rots. The efficacy tests of organic acids and inorganic salts were conducted in the laboratory (*in vitro*) and on the fruits (*in vivo*). The results showed that propionic acid and sodium carbonate at concentrations of 0.08 and 3.0 % respectively, provided an inhibitory effect on the mycelial growth of the pathogen (*Colletotrichum* sp.), But unable to control disease on fruits.

The fifth experiment is the reducing of postharvest microbial contamination in vegetables. The efficacy tests of GRAS substances were conducted, the results revealed that 0.6 % of citric acid gave highest effective on control of *E. coli* on kitchen mint (*Mentha cordifolia*) stored at 5 and 10 $^{\circ}$C, while the trial on kitchen mint harvested from plantations and washed with 6 % citric acid stored at 5 $^{\circ}$C, provided highly effective control on *E. coli* contamination up to 3-24 hours.

บทนำ

สารกลุ่ม GRAS เป็นสารเคมีที่ไม่มีอันตรายต่อผู้บริโภค เพราะเป็นสารที่นำมาใช้ในการประกอบอาหารอยู่แล้ว เช่น เกลือ carbonate bicarbonate Methyl Jasmonate และ Methyl Salicylate ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคของผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวกันมาก เช่นการใช้ sodium carbonate ควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง เพื่อลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา จึงมีการพัฒนาการใช้สารในกลุ่มปลอดภัยต่อผู้บริโภค (generally recognized as safe, GRAS) มาทดแทนการใช้สารเคมี ในการควบคุมโรคผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว

การทบทวนวรรณกรรม

การใช้กรดอินทรีย์เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว Sholberg (1998) ทดลองรม กรด Acetic , Formic และ Propionic ที่ความเข้มข้น 1.9, 1.2 และ 2.5 µl/l. กับเชอรี่ 8 พันธุ์ที่ถูกปลูกเชื้อ *Monilinia fruiticola , Rhizopus stolonifer* และ *Penicillium expansum* พบว่าเชอรี่ ทั้ง 8 พันธุ์ มีการเน่าเสียน้อยลง Sholberg *et al*. (2004) พบว่า ลูกแพร์ (d' Aujou pear) มีการเน่าเสียลดลง เมื่อรมด้วยกรด acetic ที่ความเข้มข้น 292 µl/l. ต่อชั่วโมง จำนวน 3 ครั้ง และรมด้วยกรด Acetic ที่ความเข้มข้น 586 µl/l. ต่อชั่วโมง จำนวน 1 ครั้ง แอปเปิล องุ่น กีวี่ ลูกแพร์ และมะเขือเทศ ที่ปลูกด้วยเชื้อ *Botrytis cinerea* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลงเมื่อรมด้วยกรด Acetic ที่ความเข้มข้น 2.0 หรือ 4.0 mg/l. Zheng *et al.* (2007) พบว่าการแช่มะม่วงด้วยกรด Oxalic ความเข้มข้น 5 มิลลิโมล เป็นเวลา 10 นาที สามารถลดการเกิดโรคได้

Jasmonic acid และ Methyl jasmonate เป็นสารระเหยธรรมชาติที่ลดการเน่าเสียใน สตรอวเบอรี่ (Moline *et al*., 1997) กีวี่ (Wang and Buta, 2003) มะละกอ (Gonyalery-Aguilar *et al*., 2004) และผลิตผลอื่นๆ (Tripathi and Dubey 2004) โดย Jasmonic acid และ Methyl jasmonate เป็นสารที่มีกลิ่นหอมและไม่เป็นพิษกับสิ่งแวดล้อม Methyl salicylate ซึ่งเป็นสารระเหยกลิ่นหอมที่ถูกผลิตออกมาเมื่อผล Peach สุกสามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อราในหลอดทดลอง (Wilson *et al*., 1987) และควบคุมเชื้อราที่ปลูกบนผล Peach, Nectarine และ Plum (Caccioni *et al*., 1995) รัมม์พัน และคณะ (2550) พบว่า กรรมวิธีที่มีศักยภาพควบคุมโรคได้ดีที่สุดทั้งในหลอดทดลองและทดลองกับผลมะม่วงโดยตรงคือกรรมวิธีที่รมด้วย Hexanal 170 ppm แต่มีข้อเสียคือเกิดความเป็นพิษกับผลมะม่วง ส่วนกรรมวิธีที่ควบคุมโรคได้ดีและเกิดความเป็นพิษน้อยคือกรรมวิธีที่รมด้วย Methyl jasmonate และ Methyl salicylate 250 ppm แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม

การใช้เกลืออนินทรีย์ควบคุมกลุ่มเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยว Meteau *et al*. (2002) ศึกษาผลของเกลืออินทรีย์และเกลืออนินทรีย์ในการควบคุมโรค day rot ของมันฝรั่ง เกิดจากเชื้อรา *Fusarium sambucinum* พบว่า การจุ่มหัวมันฝรั่งใน 0.2 โมล ของสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์

โซเดียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบคาร์บอเนต นาน 10 นาที ก่อนการปลูกเชื้อรา *F. sambucinum* มีผลช่วยลดความรุนแรงของโรคได้ Alvindia and Natsuaki (2007) ควบคุมโรคขั้วเน่าของกล้วยซึ่งเกิดจากเชื้อราสาเหตุ เช่น *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum musae*, *Thielaviopsis paradoxa* และ *F. verticillioides* โดยใช้เกลืออนินทรีย์ พบว่า NaClO และ $NaHCO_3$ อัตรา 5 กรัมต่อลิตร และ $CaCl_2$+ surfactant อัตรา 5 กรัมต่อลิตร มีผลให้เกิดโรคลดลง 61, 58 และ 58 % ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาผลกล้วยที่อุณหภูมิ 12-13 $^{\circ}$C นาน 3 สัปดาห์

ระเบียบวิธีวิจัย

การทดลองที่ 3.1 การใช้กรดอินทรีย์ควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-58

1 แยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

แยกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จากผลมะม่วง กล้วยหอม มะละกอ และแก้วมังกร ที่เป็นโรคด้วยวิธี Tissue Transplanting Technique พิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's Postulation)

2 การทดสอบประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในจานเลี้ยงเชื้อ (*in vitro*) ด้วยวิธี Poisoned Food Technique บนอาหาร PDA ผสมกรดอินทรีย์ oxalic acid, acetic acid ความเข้มข้นต่างๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง วัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราทุก 24 ชม. นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย

3 การทดสอบประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ที่มีผลต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์โดยผสม PDA และกรดอินทรีย์ตามกรรมวิธีในข้อ 2 หยดสปอร์แขวนลอยที่มีอายุ 7 วัน ในจานเลี้ยงเชื้อ 5 µl บ่นเชื้อนาน 9 ชั่วโมง นำสไลด์ไปตรวจนับจำนวนสปอร์ที่งอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์นับจำนวนสปอร์ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์

4 การทดสอบประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ในการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนส

ทำการทดสอบกรดอินทรีย์ในผลิตผลทั้ง 4 ชนิด (กล้วยหอม, มะม่วง, มะละกอ และแก้วมังกร) โดยการปลูกเชื้อด้วยวิธีการทำบาดแผลหรือการพ่นด้วยสปอร์แขวนลอย ก่อนหรือหลังการแช่กรดอินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดคือ oxalic acid, acetic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับ prochloraz

5 ทดสอบประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง มะละกอ กล้วยหอม และแก้วมังกรที่ติดมาจากแปลงปลูก (เชื้อตามธรรมชาติ)

คัดเลือกผลมะม่วง มะละกอ กล้วยหอมและแก้วมังกร ที่สมบูรณ์ นำมาแช่ในกรดอินทรีย์ตามกรรมวิธีในข้อ 4 ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ตรวจเช็คเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำ ความแน่นเนื้อ ปริมาณกรดที่ไตรเตรทได้ (TA) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) วิตามินซีและสีประกอบด้วยค่าความสว่าง (L*) ค่าสีเขียว/แดง (a*) และค่าน้ำเงิน/สีเหลือง (b*)

การทดลองที่ 3.2 การใช้ Methyl Jasmonate และ Methyl Salicylate เพื่อควบคุมโรคผลเน่าของผลไม้จากเชื้อ *Phomopsis* sp.

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 56-58

1 แยกเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่า แยกเชื้อรา *Phomopsis* spp. จากผลลองกอง เงาะ ที่เป็นโรคผลเน่าด้วยวิธี tissue transplanting technique พิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation)

2 การทดสอบประสิทธิภาพของ Methyl Jasmonate และ Methyl Salicylate ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าในจานเลี้ยงเชื้อ (*in vitro*) ด้วยวิธี Filter paper disc method บนอาหาร PDA วัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย

3 การทดสอบประสิทธิภาพของ Methyl Jasmonate และ Methyl Salicylate ในการยับยั้งการเกิดโรคผลเน่าของลองกองและเงาะ (*in vivo*) โดยทำการทดลองดังนี้

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของ MS และ MJ ในการยับยั้งการเกิดโรคผลเน่าบนผลที่มีการปลูกเชื้อ โดยการปลูกเชื้อรา *Phomopsis* spp. ก่อนหรือหลังการรมด้วยสาร Methyl Jasmonate และ Methyl Salicylate ที่ความเข้มข้นต่างๆ บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของ MJ และ MS ในการยับยั้งการเกิดโรคผลเน่าบนผลที่มีการติดเชื้อตามธรรมชาติ (ไม่ปลูกเชื้อ) โดยนำผลเงาะและลองกองมาทดสอบกับสาร MJ/MS ที่ความเข้มข้นต่างๆ บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

4 วัดกิจกรรมของเอนไซม์ β-1 ,3 glucanase โดยนำผลเงาะและลองกองมาทดสอบกับสาร MJ/MS ที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วเก็บที่ 13 ºC นาน 7 10 และ 13 วัน เก็บเปลือกลองกองแช่ตู้- 80 °C เพื่อทำการทดลองเอนไซม์ต่อไป สำหรับเงาะเก็บตัวอย่างเมื่อ 5 7 และ 9 วัน การสกัดโปรตีนจากพืชและวัดกิจกรรมของเอนไซม์ β-1 ,3 glucanase

5 วัดกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase

การทดลองที่ 3.3 การใช้กรดอินทรีย์และเกลืออนินทรีย์ควบคุมโรคผลเน่าของผลไม้หลังเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 56-57

1. แยกเชื้อและจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่ามะม่วง ด้วยวิธี tissue transplanting technique พิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation)

2. ทดสอบประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์และเกลืออนินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของมะม่วง *Dothiorella* sp.

โดยทดสอบประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ จำนวน 3 ชนิด 1.กรดแอสคอบิก 2.กรดซิตริก 3.กรดซอบิก และเกลืออนินทรีย์ จำนวน 11 ชนิด 1.โซเดียมเบนโซเอท 2.โซเดียมเมทาไบซัลไฟต์ 3.โพแทสเซียมไนเตรท 4.โพแทสเซียมเมทาไบซัลไฟต์ 5.โพแทสเซียมซอเบท 6.คอปเปอร์ซัลเฟต 7.โซเดียมคาร์บอเนต 8.โซเดียมไบคาร์บอเนต 9.แอมโมเนียมคาร์บอเนต 10.โพแทสเซียมคาร์บอเนตและ 11.โพแทสเซียมไบคาร์บอเนต ที่ระดับความเข้มข้น 1 % 2 % และ 3 % ด้วยวิธีอาหารพิษ (Poisoned Food Technique) บันทึกผล โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

3. ทดสอบประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์และเกลืออนินทรีย์ในการยับยั้งความรุนแรงของโรคผลเน่าที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Dothiorella* sp. บนผลมะม่วง

ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เบอร์4 ความแก่ 80 % ทำการปลูกเชื้อบนผลมะม่วงด้วยเชื้อรา *Dothiorella* sp. อายุ 7 วัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 12 ชม. จึงนำชิ้นวุ้นออก นำผลมะม่วงปลูกเชื้อแช่สารจากข้อ 2 นาน 5 นาที ตรวจผลเมื่อกรรมวิธีชุดควบคุมแสดงอาการของโรค โดยวัดเส้นผ่านศูนย์ของแผล (เซนติเมตร) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

การทดลองที่ 3.4 การทดสอบประสิทธิภาพกรดอินทรีย์ และเกลืออนินทรีย์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเน่าหลังเก็บเกี่ยวของผลไม้

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. แยกเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่า ด้วยวิธี tissue transplanting technique พิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch' postulation)
2. ประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ และเกลืออนินทรีย์ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

ด้วยวิธี Poisoned Food Technique โดยเตรียมอาหาร PDA แล้วผสมสาร เช่น กรด oxalic, กรด acetic, กรด Propionic, โซเดียมคาร์บอเนต, โซเดียมไบคาร์บอเนต, แคลเซียมคลอไรด์, โซเดียมคลอไรด์ เป็นต้น ที่ความเข้มข้นต่างๆ นำเส้นใยเชื้อราที่มีอายุ 7 วัน วางบนผิวหน้าอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ตรวจผลเมื่อเชื้อราในชุดควบคุม control เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย

3. ทดสอบกรดอินทรีย์ และเกลืออนินทรีย์ชนิดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าในแก้วมังกร

โดยการเตรียมแก้วมังกรที่ผ่านการล้างด้วยน้ำผสมคลอรีน ร้อยละ 10 เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างผลด้วยน้ำเปล่าอีกครั้งหนึ่ง หลังจากนั้นนำผลแก้วมังกร ไปผึ่งให้แห้งแล้วจึงนำมาทำการทดลอง โดยปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บ่มเชื้อไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง นาน 12 ชม. แล้วจึงนำผลแก้วมังกรมาจุ่มในสารละลายกรดอินทรีย์ความเข้มข้นต่างๆ สารละลายเกลืออนินทรีย์ความเข้มข้นต่างๆ นาน 5 นาที ผึ่งไว้ให้แห้ง วางไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง ตรวจนับผลแก้วมังกร ที่เกิดโรคทุกวัน

การทดลองที่ 3.5 วิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผักสดหลังการเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. การทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่ม GRAS ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารในกลุ่ม GRAS ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ด้วยวิธี filter Paper disc method ที่แต่ละระดับความเข้มข้นตามกรรมวิธีดังนี้

1. กรดอะซิตริค ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 10 %
2. กรดซิตริค ความเข้มข้น 0.4, 0.5, 0.6 และ 1.0 %
3. กรดแลคติค ความเข้มข้น 0.2, 0.3, 0.5 และ 1.0 %
4. โซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 mM

แล้วนำมาวางบนอาหารสังเคราะห์ (Selective media) ที่มีจุลินทรีย์เชื้อสาเหตุ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ นาน 5 วัน บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่ม GRAS ในการควบคุมจุลินทรีย์ในผัก

สะระแหน่ที่เก็บจากแปลงเกษตรกร GAP ทำความสะอาดด้วยสารละลายตามกรรมวิธีดังนี้

1. ไม่ล้างผัก เป็นตัวควบคุม
2. ล้างผักด้วยน้ำประปา เป็นตัวควบคุม
3. ล้างผักด้วยสารละลายกรดอะซิตริค ความเข้มข้น 3.0 %
4. ล้างผักด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6 %
5. ล้างผักด้วยสารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.5 %

นำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C สุ่มผักทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ 0, 3, 6, 15, 24, 48 ชม. ด้วยวิธี Total plat count technique

3. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผัก

สะระแหน่ที่เก็บจากแปลงเกษตรกรนำมาผ่านกรรมวิธีโดยมีการกำหนดปัจจัยดังนี้

ปัจจัยที่ 1 การทำความสะอาดด้วยสารละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนผัก 5 กิโลกรัมต่อสารละลาย 20 ลิตร มี 3 วิธี ได้แก่

1 การไม่ล้างน้ำ เป็นตัวควบคุมที่ 1
2 ล้างด้วยน้ำประปา เป็นตัวควบคุมที่ 2
3 ล้างด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6 % และนำไปล้างน้ำเปล่า นาน 3 นาที

ปัจจัยที่ 2 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผักหลังทำความสะอาด มี 2 ระดับ ได้แก่

1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 $^{\circ}$C
2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 $^{\circ}$C

สุ่มผักทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์หลังเก็บรักษานาน 0, 3, 6, 12, 24, 48 ชม. ด้วยวิธี Total plat count technique

4. การทดสอบประสิทธิภาพวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในสะระแหน่ในระดับแปลงปลูก

สะระแหน่ที่เก็บจากแปลงเกษตรกรนำมาสอบด้วยกรรมวิธีโดยมีการกำหนดปัจจัยดังนี้

ปัจจัยที่ 1 ล้างผักด้วยสารละลาย GRAS ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณเชื้อ *E. coli* ในอัตราส่วนผัก 5 กิโลกรัมต่อสารละลาย 20 ลิตร ได้แก่

สารละลายชนิดที่ 1 ล้างผักด้วยน้ำแบบน้ำล้น นาน 2 นาที เป็นวิธีการล้างของเกษตรกรผู้ปลูกสะระแหน่ GAP

สารละลายชนิดที่ 2 ล้างผักด้วยสารละลายซิตริค ความเข้มข้น 6% นาน 3 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำประปาแบบไหลผ่าน นาน 3 นาที

ปัจจัยที่ 2 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผักหลังทำความสะอาด มี 3 ระดับ ได้แก่

1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 $^{\circ}$C
2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$C

สุ่มผักทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์หลังเก็บรักษานาน 0, 3, 6, 12, 24, 48 ชม. ด้วยวิธี Total plat count technique

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การทดลองที่ 3.1 การใช้กรดอินทรีย์ควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-58

1. กรรมวิธีที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงปลูกเชื้อก่อน คือ acetic acid ความเข้มข้น 1 % และ oxalic acid ความเข้มข้น 0.96 % ส่วนกรรมวิธีที่ควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงปลูกเชื้อที่หลังคือ oxalic acid ความเข้มข้น 0.96 %

2. กรรมวิธีที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของกล้วยหอมปลูกเชื้อก่อนคือ acetic acid ความเข้มข้น 0.6 % และ oxalic acid ความเข้มข้น 0.96 % ส่วนกรรมวิธีที่ควบคุมโรคแอนแทรคโนส กล้วยหอมปลูกเชื้อที่หลังคือ oxalic acid ความเข้มข้น 0.96 % และ acetic acid ความเข้มข้น 0.60 %

3. กรรมวิธีที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะละกอ ปลูกเชื้อก่อนคือ acetic acid ความเข้มข้น 2 และ 3 % ส่วนกรรมวิธีที่ควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะละกอ ปลูกเชื้อที่หลังคือ oxalic acid ความเข้มข้น 0.24%

4. กรรมวิธีที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรปลูกเชื้อก่อนคือ acetic acid ความเข้มข้น 1 2 และ 3 % ส่วนกรรมวิธีที่ควบคุมโรคแอนแทรคโนสแก้วมังกรปลูกเชื้อที่หลังคือ oxalic acid ความเข้มข้น 0.48 % จะสังเกตุพบว่า acetic acid ควบคุมโรคแอนแทรคโนสปลูกเชื้อก่อนได้ดีกว่าปลูกเชื้อที่หลังเพราะ acetic acid มีผลโดยตรงต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราในขณะที่ oxalic acid ควบคุมโรคแอนแทรคโนสปลูกเชื้อที่หลังได้ดีกว่าปลูกเชื้อก่อนเพราะ oxalic acid กระตุ้นให้ผลิตผลสร้างสารต้านทานทางธรรมชาติ

5. กรรมวิธีที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของเชื้อตามธรรมชาติของมะละกอคือ oxalic acid เข้มข้น 0.48 % ส่วนเชื้อตามธรรมชาติของมะม่วง กล้วยหอมและแก้วมังกรไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี ส่วนคุณภาพตัวอื่นค่อนข้างแปรผันในผลไม้แต่ละชนิด

การทดลองที่ 3.2 การใช้ Methyl Jasmonate และ Methyl Salicylate เพื่อควบคุมโรคผลเน่าของผลไม้จากเชื้อ *Phomopsis* sp.

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 56-58

1. การทดลองที่ทำการปลูกเชื้อก่อนรมแล้วเก็บไว้ที่ 13 °C สำหรับลองกอง พบว่ากรรมวิธีที่มีศักยภาพสำหรับควบคุม *Phomopsis* stain 1 คือ MS ความเข้มข้น 1.50 µl/l และ stain 2 คือความเข้มข้น 0.75 µl/l ส่วนลองกองที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องพบว่ากรรมวิธีที่มีศักยภาพ stain 1 คือ MS ความเข้มข้น 0.75 และ1.50 µl/l ส่วน stain 2 ไม่แตกต่างทางสถิติ

2. การทดลองที่ปลูกเชื้อก่อนรมแล้วเก็บที่ 13 °C สำหรับเงาะพบว่า กรรมวิธีที่มีศักยภาพคือ MS ความเข้มข้น 0.75 µl/l แต่ที่อุณหภูมิห้องคือกรรมวิธีที่รมด้วย MS ความเข้มข้น 1.50 µl/l แสดงว่าที่อุณหภูมิต่ำใช้ MS ความเข้มข้นต่ำก็สามารถควบคุมโรคได้แล้วและควบคุมโรคได้ดีกว่าที่อุณหภูมิสูง

3. การทดลองที่ปลูกเชื้อหลังรมแล้วเก็บรักษาที่ 13 °Cและที่อุณหภูมิห้อง สำหรับลองกองพบว่ากรรมวิธีมีศักยภาพในการควบคุมโรคได้แก่ กรรมวิธีที่รมด้วย MS ความเข้มข้น 0.75 µl/lและ MJ ความเข้มข้น 2 และ 4 µl/l

4. การทดลองที่ปลูกเชื้อหลังรมและเก็บรักษาที่ 13 °C สำหรับเงาะพบว่า กรรมวิธีที่มีศักยภาพคือ MS ความเข้มข้น 0.75 µl/l และ MJ ความเข้มข้น 2 µl/l เป็นไปทำนองเดียวกับลองกอง ส่วนเงาะที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า MS ความเข้มข้น1.5 µl/lและ MJ ความเข้มข้น 2 µl/l มีศักยภาพในการควบคุมโรค

5. การรมลองกองด้วย MS และ MJ โดยไม่ได้ปลูกเชื้อ (เชื้อตามธรรมชาติ) พบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ระหว่างกรรมวิธีเพราะโรคอาจมีไม่มาก ดังนั้น จึงเห็นประสิทธิภาพของ MS และMJ ไม่ชัดเจน ส่วนคุณภาพตัวอื่นๆ ส่วนมากไม่แตกต่างทางสถิติ แต่การรมด้วย MS และMJ ทำให้ลองกองมีวิตามินซีสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม

6. การรมเงาะด้วย MS และ MJ โดยไม่ได้ปลูกเชื้อ พบว่าการรมด้วย MJ ความเข้มข้น 2 µl/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมากที่สุด เพราะเงาะมีโรคมากทำให้ MJ ไม่สามารถควบคุมโรคได้ส่วนค่าคุณภาพค่อนข้างแปรผัน กรรมวิธีควบคุมมีการสูญเสียน้ำและความแน่นเนื้อสูงสุด

7. กิจกรรมของเอนไซม์ β -1,3 glucanase ในลองกอง พบว่า เมื่อวันที่ 10 ของการเก็บรักษา พบว่า MJ ความเข้มข้น 2 และ 4 µl/l และ MS ความเข้มข้น 0.75 µl/l มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

8. กิจกรรมของเอนไซม์ β -1,3 glucanase ในเงาะ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี

9. กิจกรรมของเอนไซม์ chitinase ในเงาะ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี

การทดลองที่ 3.3 การใช้กรดอินทรีย์และเกลืออนินทรีย์ควบคุมโรคผลเน่าของผลไม้หลังเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 56-57

1. เชื้อราสาเหตุโรคผลเน่ามะม่วง แยกเชื้อและจัดจำแนกเชื้อราได้ 4 ชนิด คือ *Colletotrichum gloeosporioides, Dothiorella* sp., *Lasiodiplodia theobromae* และ *Phomopsis* sp.

2. กรดซิตริก ความเข้มข้น 3 % ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Dothiorella* sp. บนอาหาร PDA ได้ 89.9 % และสารในกลุ่มเกลือ ได้แก่ โซเดียมเมทาไบซัลไฟต์ โพแทสเซียมเมทาไบซัลไฟต์ คอปเปอร์ซัลเฟต แอมโมเนียมคาร์บอเนต โซเดียมคาร์บอเนต โพแทสเซียมคาร์บอเนต และโพแทสเซียมซอเบท สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100 %

3. การแช่ผลมะม่วงปลูกเชื้อ *Dothiorella* sp. ในสารโซเดียมเมทาไบซัลไฟต์ ความเข้มข้น 1 % นาน 5 นาที สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคบนผลได้ดีที่สุด

การทดลองที่ 3.4 การทดสอบประสิทธิภาพกรดอินทรีย์ และเกลืออนินทรีย์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเน่าหลังเก็บเกี่ยวของผลไม้

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. เชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าจากผลแก้วมังกรที่สามารถแยกได้ คือ *Colletotrichum* sp.

2. ทดสอบประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ และเกลืออนินทรีย์ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราพบว่ากรดโพรพิโอนิคที่ความเข้มข้น 0.08 % และโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 3 % สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp

3. การทดสอบประสิทธิภาพของกรดโพรพิโอนิค และโซเดียมคาร์บอเนต ไม่สามารถใช้ควบคุมโรคได้ จึงทดลองเพิ่มความเข้มข้นขึ้นก็ยังไม่สามารถนำมาใช้ควบคุมการเกิดโรคเน่าหลังเก็บเกี่ยวที่เกิดขึ้นได้ จึงพิจารณาไม่ทำต่อเนื่องจากสารทั้ง 2 ชนิดมีข้อจำกัดในการใช้งาน และส่งผลเสียต่อคุณภาพของผลผลิตเมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้นสูง

การทดลองที่ 3.5 วิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผักสดหลังการเก็บเกี่ยว (เสนอใหม่ ปี 2555)

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

ผลจากการศึกษาวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผักสดหลังการเก็บเกี่ยว โดยศึกษาวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตผลผักสดหลังการเก็บเกี่ยวเบื้องต้นในระดับแปลงปลูกและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาขณะขนส่งก่อนเข้าสู่โรงคัดบรรจุ

1. สารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6% มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ *E.coli* จากผักสะระแหน่ ทั้งการทดสอบในห้องปฏิบัติการและการทดสอบในผัก

2. การเก็บรักษาผักที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6% ที่อุณหภูมิ 5 และ 10 $^{\circ}$C สามารถควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* ในสะระแหน่ได้นานถึง 3 ชม.

3. การเก็บรักษาผักที่ล้างด้วยกรดซิตริค เก็บรักษาที่ 5 $^{\circ}$C นาน 3 ชม. มีปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* อยู่ที่ 77 cfu/g มีค่าไม่เกินค่ามาตรฐานที่กรมวิชาการเกษตร ที่กำหนดให้มีเชื้อ *E. coli* ในผลิตผลผักสดส่งออกไม่เกิน 100 cfu/g

4. เมื่อขยายผลทดสอบประสิทธิภาพวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในสะระแหน่ในระดับแปลงปลูก พบว่า การล้างสะระแหน่ด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 6 % และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 $^{\circ}$C สามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ได้นานถึง 3-24 ชม. (10-226 cfu/g) ถือเป็นวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *E. coli* ในผักสดหลังเก็บเกี่ยวเบื้องต้นที่เหมาะสมก่อนเข้าสู่โรงคัดบรรจุ เนื่องจากโรงคัดบรรจุมีศักยภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ในการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวระดับโรงคัดบรรจุ อยู่ที่ 75 % ดังนั้น หากปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* ในผักสดที่เข้าสู่โรงคัดบรรจุ เกินกว่า 400 cfu/g กระบวนการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในโรงคัดบรรจุจะไม่สามารถลดให้มีค่าอยู่ในมาตรฐานผักสดส่งออกของกรมวิชาการเกษตรได้ (ไม่เกิน 100 cfu/g)

เป็นเทคโนโลยีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่เหมาะสมระดับแปลงปลูก เพื่อใช้พัฒนาแนวทางการบริหารจัดการเทคโนโลยีลดความเสียหายจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักสดหลังการเก็บเกี่ยวเชิงระบบต่อไป

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการใช้สาร GRAS ควบคุมโรคพืชพบว่า acetic acid และ oxalic acid สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp ใน มะละกอ กล้วยหอม มะม่วง และแก้วมังกรที่ปลูกเชื้อได้ ขณะที่มีเพียง oxalic acid เท่านั้นที่ควบคุมโรคที่เกิดโดยธรรมชาติบนผลมะละกอ ส่วนการศึกษาการใช้กรดอินทรีย์ควบคุมโรคผลเน่าของมะม่วงพบว่า citric acid ที่ 3 % สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Dothiorella* sp. ในจานเลี้ยงเชื้อ แต่การทดลองบนผลมะม่วงกลับพบว่า sodium metabisulphite ที่ 1 % สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ดีกว่า

การศึกษาการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *E. coli* ในสะระแหน่ พบว่า citric acid ที่ 0.6 % สามารถควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* ในการทดลองกับยอดสะระแหน่ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 10 $^{\circ}$C ขณะที่การทดลองที่ทำกับยอดสะระแหน่ที่เก็บเกี่ยวจากแปลงปลูก พบว่าการล้างด้วย citric acid ที่ 6 % และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 $^{\circ}$C สามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ได้นานถึง 3-24 ชม.

การศึกษาการใช้สาร methyl salicylate พบว่าสารนี้มีศักยภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของผลเงาะและลองกองที่เกิดจากเชื้อ *Phomopsis* sp. โดยให้ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับระดับการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ β -1,3 glucanase ที่สูงขึ้นในผลลองกองที่ได้รับสาร

การทดสอบประสิทธิภาพของ propionic acid และ sodium carbonate ต่อโรคผลเน่าของแก้วมังกร พบว่าที่ความเข้มข้น 0.08 และ 3.0 % สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของแก้วมังกรได้ แต่กลับไม่สามารถควบคุมโรคในการทดลองบนผลแก้วมังกรได้

4 กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยวิธีทางกายภาพ

4 Controls of Post-harvest Plant Diseases and Mycotoxins by Using Physical Methods

หัวหน้ากิจกรรม

นางอมรา ชินภูติ

คำสำคัญ

วิธีทางกายภาพ เมล็ดธัญพืช เน่าเสีย โรคแอนแทรคโนส โรคผลเน่า แอฟลาทอกซิน

Contamination, Cereal, Aflatoxin,

บทคัดย่อ

กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยวิธีทางกายภาพ มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการทางกายภาพแบบต่างๆ ในการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว ที่สามารถใช้ทดแทนการใช้สารเคมีอันตราย มี 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราและสารโอคราทอกซินเอในผลไม้อบแห้งและการลดปริมาณสารพิษโดยใช้วิธีทางกายภาพ ได้เก็บผลไม้อบแห้งรวม 306 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราและปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ จากนั้นทดสอบวิธีการทางกายภาพในการลดการปนเปื้อน พบว่าการใช้เตาอบไมโครเวฟ ลดปริมาณโอคราทอกซินเอ ในตัวอย่างผลไม้อบแห้ง เช่น แครนเบอรรี่ และ ลูกเกดขาว ได้ 74.35 และ 84.56 % ตามลำดับ ขณะที่การใช้เตาอบลมร้อน ลดโอคลาทอกซินเอใน แครนเบอร์รี่อบแห้ง ลูกเกดขาว และ บลูเบอร์รี่อบแห้ง ได้ 83.59, 81.85 และ 43.30 % ตามลำดับ

การทดลองที่ 2 การควบคุมการปนเปื้อนเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรโดยวิธีทางกายภาพ ได้ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราและปริมาณสารแอฟลาทอกซินในตัวอย่างธัญพืชชนิดต่างๆ จากนั้นทดสอบวิธีการทางกายภาพในการลดการปนเปื้อน พบว่าการใช้เตาอบไมโครเวฟลดปริมาณแอฟลาทอกซินในงาดำได้ 26.81 % ขณะที่การใช้เตาอบลมร้อน ลดแอฟลาทอกซินใน ถั่วลิสง ข้าวกล้อง งาดำ และข้าวเหนียวดำได้ 19.82, 47.05, 59.26 และ 69.73 ตามลำดับ

การทดลองที่ 3 ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษฟูโมนิซินในธัญพืชและผลิตภัณฑ์ และการลดปริมาณสารพิษโดยใช้วิธีทางกายภาพ ได้เก็บธัญพืชและผลิตภัณฑ์รวม 275 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราและปริมาณสารสารพิษฟูโมนิซิน จากนั้นทดสอบวิธีการทางกายภาพในการลดการปนเปื้อน พบว่าการใช้เตาอบไมโครเวฟ ลดสารพิษฟูโมนิซินในข้าวบาร์เลย์ และ คอร์นเฟลก (cornflake) ได้

39.63 และ 41.71 % ตามลำดับ และการอาบแสงอัลตราไวโอเลตนาน 120 และ 90 นาทีลดการปนเปื้อนของสารพิษฟูโมนิซินในข้าวบาร์เลย์ ได้ 17.62 และ 17.47 % ตามลำดับ

Abstract

The objective of activities on “Controls of post-harvest plant diseases and mycotoxins by using physical methods” is to test the effectiveness of different physical methods for controls of postharvest disease and mycotoxins those use as replacement control measures the use of hazardous chemicals. The activities are consists of 3 experiments.

The first experiment studies on fungal and Ochratoxin A contaminations in dried fruits and decontaminations by using physical methods. Three hundred and six samples of dried fruits were collected and checked for contamination of mold and Ochratoxin A. The tests for the potential of physical methods to reduce the contamination were conducted. The results showed that the use of microwave ovens was reduced the amount of Ochratoxin A in dried fruits example, dried cranberry and white raisins were 74.35 and 84.56 %, respectively, while the convection oven was reduced in dried cranberries, white raisin and dried blueberries were 83.59, 81.85 and 43.30 % respectively.

The second experiment is control of contamination of mold and Aflatoxins in agricultural commodities and decontaminations by using physical methods. Grain samples were collected and checked the contamination of mold and Aflatoxins. The tests for the potential of physical methods to reduce the contamination were conducted. The results revealed that using of microwave oven were reduced amount of Aflatoxins in black sesame was 26.81% while the convection oven was reduced Aflatoxins in peanuts, brown rice, black sesame and rice were 19.82, 47.05, 59.26 and 69.73 respectively.

The third experiment studies on contamination of mold and Fumonisin in cereals and cereal products and decontaminations by using physical methods. Two hundred and seventy-five samples of cereals and cereal products were collected and checked the contamination of mold and Fumonisin. The tests for the potential of physical methods to reduce the contamination were conducted. The results revealed that using of microwave oven were reduced amount of Fumonisin in barley and cornflakes were 39.63 and 41.71 %,

respectively, and the barleys were exposed by ultraviolet for 120 and 90 minutes were reduced the contamination of Fumonisin were 17.62 and 17.47% respectively.

บทนำ

การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยวิธีทางกายภาพเป็นอีกทางเลือกของการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว โดยไม่ใช้สารเคมี วิธีทางกายภาพที่นิยมใช้และได้ผล เช่นการใช้ความร้อน การใช้ไมโครเวฟ การใช้แสงแดด การควบคุมโรคของผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยวโดยการใช้ไอน้ำรอนที่มีอุณหภูมิอยู่ระหว่า 50-60 °C เป็นวิธีการที่ใช้ได้ดีในการควบคุมโรคโดยไม่มีผลต่อคุณภาพผลผลิต หรืออาจใช้การจุ่มน้ำร้อนในระยะเวลาสั้นๆ หรือการล้างและแปรงด้วยน้ำร้อน การใช้แสงแดดในการลดความชื้นเมล็ดธัญพืชสามารถแก้ปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษในธัญพืชได้เช่นกัน ซึ่งวิธีทางกายภาพส่วนใหญ่จะเป็นวิธีการที่ง่ายไม่ยุ่งยากซับซ้อน เกษตรกรสามารถนำไปปฏิบัติได้ง่าย

การทบทวนวรรณกรรม

การใช้น้ำร้อนในการควบคุมเชื้อ การนำมะม่วง Keitt ตัดแต่งจุ่มในน้ำร้อน อุณหภูมิ 46 และ 50 °C นาน 75 และ 30 นาที และทำให้เย็น 15 นาที นำไปเก็บรักษาที่ 6 °C นาน 9 วัน สามารถยืดอายุการเก็บรักษา และควบคุมโรคในขั้นตอนการเก็บรักษาและรอจำหน่ายแก่ผู้บริโภค (Djioua *et al*., 2009)

โอคราทอกซิน เอ เป็นสารพิษที่สร้างโดยเชื้อราหลายชนิด ของกลุ่มเชื้อรา *Aspergillus* และ *Penicillium* พบปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรหลายชนิด ธัญพืช กาแฟ โกโก้ ถั่ว เครื่องเทศ สมุนไพร ไวน์ เบียร์ และในผลไม้อบแห้งชนิดต่างๆ โดยเฉพาะ ลูกเกด (Aish *et al*., 2004) สารโอคราทอกซินเป็นสารก่อมะเร็งระบบทางดินปัสสาวะ และทำลายระบบการทำงานของไต (Lock and Hard, 2004) เนื่องจากเป็นสารพิษปนเปื้อนในอาหารที่ประชาชนบริโภคเป็นประจำ สหภาพยุโรปจึงกำหนดค่าสูงสุดที่อนุญาตให้มีได้ในอาหารดังนี้ ในกาแฟคั่วให้มีได้ไม่เกิน 5 µg/kg. เมล็ดธัญพืช 5 µg/kg. และผลิตภัณฑ์จากธัญพืช 3 µg/kg. น้ำองุ่น 2 µg/kg. อาหารสำหรับเด็ก 0.5 µg/kg. (European Commission, 2005) Miraglia and Brere, 2002 รายงานว่าพบสารโอคราทอกซิน เอ ปนเปื้อนในผลไม้อบแห้งในปริมาณ 50-70 µg/kg. สำหรับในประเทศไทยข้อมูลการปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน เอ ในผลไม้อบแห้งยังไม่มีรายงาน และปัจจุบันมีการนำเข้าผลไม้อบแห้งจากต่างประเทศ เช่น จีน มาจำหน่ายมากมายทำให้คนไทยมีความเสี่ยงสูงต่อการได้รับสารโอคราทอกซิน เอ วิธีการลดปริมาณสารพิษสำหรับผู้ผลิต และผู้บริโภค แบบง่ายก็คือการโดยใช้วิธีทางกายภาพ เช่น การใช้ความร้อน และการใช้คลื่นไมโครเวฟ

ระเบียบวิธีวิจัย

การทดลองที่ 4.1 ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อรา และสารโอคราทอกซิน เอ ในผลไม้อบแห้งและการลดปริมาณสารพิษโดยใช้วิธีทางกายภาพ

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราและสารโอคราทอกซิน เอ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างผลไม้อบแห้งรวม 306 ตัวอย่าง

1.1 การตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราในผลไม้อบแห้ง โดยวิธี Direct Plate Count Method บนอาหารเลี้ยงเชื้อราDG18 บันทึกลักษณะและจำนวนเชื้อราที่พบ คำนวณการปนเปื้อนของเชื้อรา

1.2 การตรวจสอบปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ ในผลไม้อบแห้ง โดยวิธี ELISA ใช้ชุดทดสอบของ Veratox® NEOGEN

2. การลดปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ ในผลไม้อบแห้งด้วยวิธีทางกายภาพ โดยนำผลไม้อบแห้งที่มีการปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน เอ มาทดสอบวิธีการควบคุมโดยการ

2.1 การอบด้วยเตาไมโครเวฟ ตามกรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 กำลังไฟ 800 วัตต์ (ระดับความร้อนสูง) ระยะเวลา 30 วินาที
กรรมวิธีที่ 2 กำลังไฟ 800 วัตต์ (ระดับความร้อนสูง) ระยะเวลา 45 วินาที
กรรมวิธีที่ 3 กำลังไฟ 400 วัตต์ (ระดับความร้อนปานกลาง) ระยะเวลา 45 วินาที
กรรมวิธีที่ 4 กำลังไฟ 400 วัตต์ (ระดับความร้อนปานกลาง) ระยะเวลา 60 วินาที
กรรมวิธีที่ 5 กำลังไฟ 240 วัตต์ (ระดับความร้อนต่ำปานกลาง) ระยะเวลา 60 วินาที
กรรมวิธีที่ 6 กำลังไฟ 240 วัตต์ (ระดับความร้อนต่ำปานกลาง) ระยะเวลา 90 วินาที
กรรมวิธีที่ 7 ไม่ผ่านการอบ (ใช้ในการคำนวณเปอร์เซ็นต์การลดลงของสารพิษ)

ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน ด้วยชุดทดสอบ Veratox® NEOGEN และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงของสารพิษ

2.2 การอบด้วยตู้อบลมร้อน ทำการทดลองเปรียบเทียบการอบด้วยระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการอบ คือ 60 70 และ 80 °C ที่ระยะเวลา 0, 30, 45 และ 60 นาที ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารโอคราทอกซินเอ ด้วยชุดทดสอบ Veratox® NEOGEN และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงของสารพิษ

การทดลองที่ 4.2 การควบคุมการปนเปื้อนเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรโดยวิธีทางกายภาพ

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. การตรวจการปนเปื้อนของเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินบี1 ในผลิตผลเกษตร 10 ชนิด เก็บตัวอย่างเมล็ดจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ข้าวสาร ข้าวกล้อง ข้าวเหนียวดำ ข้าวเหนียวขาว ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วแดง ถั่วลิสง งาขาว และงาดำ นำมาตรวจการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในเมล็ดด้วยวิธี direct plate count method บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Dichloran glycerol agar (DG18) และตรวจการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินบี1 โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป (DOA ELISA Test Kit)

2. การลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินบี1 ในผลิตผลเกษตรโดยวิธีทางกายภาพ

คัดเลือกเมล็ดที่มีการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินสูงเกินค่ามาตรฐาน (20 µg/kg.) จำนวน 4 ชนิด คือ ข้าวกล้อง ข้าวเหนียวดำ ถั่วลิสง และงาดำ นำมาทดสอบการลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินบี1 โดยวิธีทางกายภาพ โดยปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* นาน 14 วัน แล้วนำตัวอย่างมานึ่งฆ่าเชื้อ นำตัวอย่างจากทุกขวดคลุกให้เข้ากันใช้ในการทดลองตามวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2

วิธีที่ 1 การอบด้วยตู้อบความร้อน

ตัวอย่างเมล็ด ข้าวกล้อง ข้าวเหนียวดำ และงาดำ วางแผนการทดลองแบบ factorial 4x5 in CRD

ปัจจัยที่1 ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการอบ มี 4 ระดับ คือ 50, 60, 70 และ 80 °C
ปัจจัยที่2 ระดับเวลาที่ใช้ในการอบ มี 5 ระดับ คือ 30, 60, 90, 120 และ 150 นาที

ส่วนตัวอย่างถั่วลิสงวางแผนการทดลองแบบ factorial 2x5 in CRD

ปัจจัยที่ 1 ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการอบ มี 4 ระดับ คือ 50, 60, 70 และ 80 °C
ปัจจัยที่ 2 ระดับเวลาที่ใช้ในการอบ มี 5 ระดับ คือ 30, 60, 90, 120 และ 150 นาที

ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินบี1 โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การลดลงของสารแอฟลาทอกซินบี1

วิธีที่ 2 การอบด้วยไมโครเวฟ

ตัวอย่างเมล็ดงาดำที่ปลูกเชื้อนำมาอบในไมโครเวฟระดับความร้อนตามกรรมวิธี ดังนี้

1 ระดับความร้อนต่ำ เวลา 2 นาที
2 ระดับความร้อนต่ำ เวลา 3 นาที
3 ระดับความร้อนต่ำ เวลา 4 นาที
4 ระดับความร้อนกลาง เวลา 30 วินาที
5 ระดับความร้อนกลาง เวลา 60 วินาที
6 ระดับความร้อนกลาง เวลา 90 วินาที

7 ระดับความร้อนสูง เวลา 20 วินาที

8 ระดับความร้อนสูง เวลา 30 วินาที

9 ระดับความร้อนสูง เวลา 40 วินาที

10 ชุดควบคุม (control)

ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินบี1 โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การลดลงของสารแอฟลาทอกซินบี1

การทดลองที่ 4.3 ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษฟูโมนิซินในธัญพืชและผลิตภัณฑ์ และการลดปริมาณสารพิษโดยใช้วิธีทางกายภาพ (เสนอใหม่ ปี 2556)

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 56-57

การศึกษาข้อมูลการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษฟูโมนิซินในธัญพืชและผลิตภัณฑ์

เก็บตัวอย่างธัญพืชและผลิตภัณฑ์จากธัญพืชรวม 275 ตัวอย่าง นำมาการตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อราโดยวิธี Direct plate count method บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา DG18 แยกเชื้อราที่พบ จำแนกชนิดของเชื้อรา ทดสอบความสามารถในการสร้างสารพิษฟูโมนิซิน โดยเลี้ยงในอาหารเหลว YES medium เป็นเวลา 14 วัน ตรวจปริมาณสารพิษฟูโมนิซินโดยใช้ชุดตรวจสอบสารพิษฟูโมนิซิน Veratox® NEOGEN

ศึกษาวิธีลดปริมาณสารพิษฟูโมนิซินในผลิตภัณฑ์จากธัญพืชโดยวิธีทางกายภาพ

เลือกตัวอย่างข้าวบาร์เลย์ คอร์นเฟลก และ อาหารสำหรับทารก นำมาทดสอบโดยทำการเติมสารพิษฟูโมนิซินมาตรฐานลงในตัวอย่าง ก่อนนำไปทดสอบวิธีการลดปริมาณสารพิษฟูโมนิซินด้วยวิธีการดังนี้

1. การอบด้วยเตาไมโครเวฟ วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธี	ข้าวบาร์เลย์		อาหารเช้าจากธัญพืช		อาหารสำหรับทารก	
	กำลังไฟ (วัตต์)	เวลา (วินาที)	กำลังไฟ (วัตต์)	เวลา (วินาที)	กำลังไฟ (วัตต์)	เวลา (วินาที)
1	800	90	800	45	400	60
2	800	60	800	30	400	30
3	800	30	400	90	240	90
4	400	120	400	60	240	60
5	400	90	240	120	ชุดควบคุม (ไม่ผ่านการอบ)	
6	400	60	240	90		
7	ชุดควบคุม (ไม่ผ่านการอบ)		ชุดควบคุม (ไม่ผ่านการอบ)			

2. การใช้แสงอัลตราไวโอเลต โดยใช้หลอดไฟยูวีที่ช่วงคลื่น 100-280 นาโนเมตร วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แสงอัลตราไวโอเลต เป็นเวลา 30 นาที
กรรมวิธีที่ 2 แสงอัลตราไวโอเลต เป็นเวลา 60 นาที
กรรมวิธีที่ 3 แสงอัลตราไวโอเลต เป็นเวลา 90 นาที
กรรมวิธีที่ 4 แสงอัลตราไวโอเลต เป็นเวลา 120 นาที
กรรมวิธีที่ 5 ชุดควบคุม (ไม่ผ่านแสงอัลตราไวโอเลต)

ตัวอย่างจากทั้ง 2 วิธีการมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษโดยวิธี ELISA และคำนวณเปอร์เซ็นต์การลดลงของสารพิษ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การทดลองที่ 4.1 ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อรา และสารโอคราทอกซิน เอ ในผลไม้อบแห้งและการลดปริมาณสารพิษโดยใช้วิธีทางกายภาพ

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. เชื้อราที่พบในผลไม้อบแห้งที่ผลิตในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศได้แก่ *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. aculeatus*, *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp.

2. พบการปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน เอ ปริมาณสูงสุดในบลูเบอร์รี่อบแห้ง ลูกเกดขาว และแครนเบอร์รี่อบแห้ง โดยการปนเปื้อนสารพิษในบลูเบอร์รี่ และลูกเกดขาว มีค่าเกิน10 ppb ซึ่งสูงกว่าค่ามาตรฐานกำหนดสูงสุดสำหรับโอคราทอกซิน เอ ในผลไม้อบแห้ง ที่กำหนดโดยกลุ่มสหภาพยุโรป

3. การอบลูกเกดขาวด้วยเตาไมโครเวฟที่กำลังไฟ 400 วัตต์ นาน 60 วินาที สามารถลดปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ ได้ 84.56 % และการอบแครนเบอร์รี่อบแห้งด้วยเตาไมโครเวฟที่กำลังไฟ 800 วัตต์ นาน 45 วินาที มีผลทำให้สารโอคราทอกซิน เอ ลดลง 74.35 %

4. การอบแครนเบอร์รี่อบแห้ง ลูกเกดขาว และบลูเบอร์รี่อบแห้ง ด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C นาน 60 นาที สามารถลดปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ ลงได้ 83.59, 81.85 และ 43.30 % ตามลำดับ

5. ผู้บริโภคสามารถนำวิธีการลดปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ ในผลไม้อบแห้ง ไปปฏิบัติในครัวเรือนได้ โดยเฉพาะการอบด้วยเตาไมโครเวฟซึ่งเป็นวิธีการที่ง่าย และสะดวก โดยเลือกระดับความร้อน และระยะเวลาที่เหมาะสมกับผลไม้แต่ละชนิด เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

การทดลองที่ 4.2 การควบคุมการปนเปื้อนเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรโดยวิธีทางกายภาพ

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. การปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus flavus* พบในถั่วลิสงมีการปนเปื้อนสูงที่สุดถึง 80 %

2. การปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินบี1 (Aflatoxin B1) พบในถั่วลิสงมีปริมาณ Aflatoxin B1 สูงที่สุด 186.4 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และมีตัวอย่างที่มีปริมาณ Aflatoxin B1 เกินมาตรฐาน 40.70 % ของตัวอย่างถั่วลิสง

3. การลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินบี1 ด้วยตู้อบความร้อนให้ผลดีที่สุด ดังนี้

- การอบข้าวกล้องที่อุณหภูมิ 80 ºC 30 นาที ปริมาณ Aflatoxin B1 ลดลง 47.05 %
- การอบข้าวเหนียวดำที่อุณหภูมิ 80 ºC 150 นาที ปริมาณ Aflatoxin B1 ลดลง 69.73 %
- การอบงาดำที่อุณหภูมิ 70 ºC 60 นาที ปริมาณ Aflatoxin B1 ลดลง 59.26 %
- การอบถั่วลิสงที่อุณหภูมิ 50 ºC 150 นาที ปริมาณ Aflatoxin B1 ลดลง 19.82 %

4. การลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินบี1 ด้วยไมโครเวฟ ขนาดกำลังไฟฟ้า 800 วัตต์ โดยการอบงาดำที่ความร้อนระดับกลาง เวลา 90 วินาที ปริมาณ Aflatoxin B1 ลดลง 26.81 %

การลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนโดยวิธีทางกายภาพสามารถปฏิบัติได้ง่ายในครัวเรือน ไม่ก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภค ทำได้ด้วยการใช้ตู้อบความร้อน หรือไมโครเวฟ ในแต่ละวิธีการควรเกลี่ยให้เมล็ดบางทั่วกันเพื่อที่จะได้รับความร้อนอย่างทั่วถึง และเลือกใช้ระดับความร้อน และเวลาที่พอเหมาะ ดังนี้

1. วิธีการอบด้วยตู้อบความร้อน ควรอบข้าวกล้องที่อุณหภูมิ 80 ºC เวลา 30 นาที ข้าวเหนียวดำอบที่อุณหภูมิ 80 ºC ช่วงเวลา 60-120 นาที ถั่วลิสงอบที่อุณหภูมิ 50 ºC เวลา 150 นาที สำหรับงาดำการอบที่อุณหภูมิ 70 ºC เวลา 60 นาที ให้ผลคุ้มค่าที่สุด

2. วิธีการอบด้วยไมโครเวฟ ขนาดกำลังไฟฟ้า 800 วัตต์ อบงาดำที่ความร้อนระดับกลาง เวลา 90 วินาที

เนื่องจากตัวอย่างเมล็ดที่ใช้ในการทดลองเป็นชุดที่ทำการปลูกเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณสารแอฟลาทอกซินจากผลการทดลองในข้าวกล้อง และข้าวเหนียวดำ สามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินลงได้ต่ำกว่า 20 µg/kg. ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานที่สามารถใช้เพื่อบริโภคได้ ในขณะที่ งาดำ และถั่วลิสง เป็นแหล่งอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราและการสร้างสารแอฟลาทอกซิน จึงมีผลต่อการเพิ่มปริมาณสารแอฟลาทอกซินในตัวอย่างได้สูง ทำให้ไม่สามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินลงได้ต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนด

ข้อแนะนำสำหรับผู้บริโภค

เลือกซื้อผลิตผลเกษตรที่สะอาด เมล็ดไม่แตกหัก ไม่ชื้น เก็บในบรรจุภัณฑ์ที่ควบคุมความชื้นได้ดี ดังนั้นเมื่อพบมีราสีเขียวอมเหลืองปนเปื้อนในเมล็ด ไม่ควรนำมาบริโภค เพื่อความปลอดภัยจากการได้รับสารแอฟลาทอกซิน

การทดลองที่ 4.3 ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษฟูโมนิซินในธัญพืชและผลิตภัณฑ์ และการลดปริมาณสารพิษโดยใช้วิธีทางกายภาพ (เสนอใหม่ ปี 2556)

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 56-57

พบการปนเปื้อนของเชื้อราในตัวอย่างกลุ่มธัญพืชและอาหารเช้าจากธัญพืช ซึ่งส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างที่ยังไม่ผ่านกระบวนการแปรรูป และพบเชื้อรา *F. moniliforme* จำนวน 3.5 % ในเมล็ดข้าวโพดดิบ ซึ่งเป็นเชื้อราชนิดที่สร้างสารพิษฟูโมนิซินและมีการสร้างสารพิษอยู่ระหว่าง 12.22-18.03 µg/ml. ธัญพืชและผลิตภัณฑ์จากธัญพืชที่นำมาตรวจวิเคราะห์ไม่มีการปนเปื้อนของสารพิษฟูโมนิซินที่เกินมาตรฐานกำหนด การลดการปนเปื้อนของสารพิษฟูโมนิซินโดยการใช้ความร้อนจากเตาไมโครเวฟ สามารถลดการปนเปื้อนของสารพิษในข้าวบาร์เลย์ได้ 39.63 % เมื่ออบที่กำลังไฟ 800 วัตต์ นาน 90 วินาที และการอบคอร์นเฟลกด้วยกำลังไฟ 400 วัตต์ นาน 90 วินาที สามารถลดสารพิษได้ 41.71 % สำหรับการใช้แสงอัลตราไวโอเลตในการลดการปนเปื้อนของสารพิษฟูโมนิซิน สามารถลดสารพิษลงได้ 17.62 และ 17.47 % ในข้าวบาร์เลย์ เมื่อผ่านแสงอัลตราไวโอเลต นาน 120 และ 90 นาที

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาวิธีการทางกายภาพในการควบคุมสารพิษจากเชื้อรา พบว่าการใช้เตาอบไมโครเวฟที่ระดับต่างๆ สามารถลดสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลและผลิตภัณฑ์ได้ คือ สามารถลดปริมาณโอคราทอกซินเอ ในตัวอย่างผลไม้อบแห้ง เช่น แครนเบอรรี่ และ ลูกเกดขาว ได้ 74.35 และ 84.56 % ตามลำดับ สามารถลดปริมาณแอฟลาทอกซินในงาดำได้ 26.81 % ลดสารพิษฟูโมนิซินในข้าวบาร์เลย์ และ คอร์นเฟลก (cornflake) ได้ 39.63 และ 41.71 % ตามลำดับ

การใช้เตาอบลมร้อน สามารถลดโอคลาทอกซินเอใน แครนเบอร์รี่อบแห้ง ลูกเกดขาว และ บลูเบอร์รี่อบแห้ง ได้ 83.59, 81.85 และ 43.30 % ตามลำดับ ลดแอฟลาทอกซินใน ถั่วลิสง ข้าวกล้อง งาดำ และข้าวเหนียวดำได้ 19.82, 47.05, 59.26 และ 69.73 ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบว่า การอาบแสงอัลตราไวโอเลตนาน 120 และ 90 นาทีลดการปนเปื้อนของสารพิษฟูโมนิซินในข้าวบาร์เลย์ ได้ 17.62 และ 17.47 % ตามลำดับ

5 กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยการประเมินโรคและการผสมผสานวิธีการ

5 Controls of Post-harvest Plant diseases and Mycotoxins by Using Evaluation of Infection and Integrated Plant Disease Management

หัวหน้ากิจกรรม

นางรัตตา สุทธยาคม

คำสำคัญ

ผลไม้ เน่าเสีย โรคแอนแทรคโนส โรคผลเน่า เชื้อรา

Fruit, Produces, Cereal, Anthracnose, Rot, GRAS

บทคัดย่อ

กิจกรรมการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยการประเมินโรคและการผสมผสานวิธีการ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการนำวิธีควบคุมที่มีประสิทธิภาพมาใช้ร่วมกันในการการจัดการโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร รวมถึงการประเมินการเกิดโรคและความเสี่ยงของการเกิดโรคในขั้นตอนการผลิต เพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจในการควบคุมโรคพืช มี 7 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 วิธีการประเมินการเข้าทำลายของโรคแอนแทรคโนสในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวโดยการตรวจสอบการเข้าทำลายแฝง ได้ศึกษาประเมินการเข้าทำลายโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ พบว่าการจุ่มผลมะม่วงในสารละลาย paraquat ที่ 2,000 ppm นาน 1 นาที สามารถกระตุ้นการแสดงอาการโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ โดยแสดงอาการภายใน 72 ชม. หรือ 3 วัน

การทดลองที่ 2 การใช้ความร้อนร่วมกับสารกลุ่มคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนตควบคุมโรคแอนแทรคโนสของผลไม้หลังเก็บเกี่ยว ได้ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำร้อนร่วมกับสารกลุ่มคาร์บอเนตทั้งในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) และบนผล (*in vivo*) พบว่าการใช้ ammonium carbonate ที่ 2-3 % และ potassium carbonate ที่ 2 % ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C นาน 5 นาที สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสในแก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง มะละกอพันธุ์ปักไม้ลาย และมะม่วงน้ำดอกไม้เบอร์ 4 ได้

การทดลองที่ 3 การใช้สาร GRAS ร่วมกับน้ำร้อนในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกหวานหลังการเก็บเกี่ยว ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสาร GRAS ร่วมกับน้ำร้อนทั้งในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) และบนผล (*in vivo*) พบว่า การใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 53 °C นาน 4 นาที ร่วมกับ potassium sorbate ที่ 500 mg/l.

ยับยั้งความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลพริกหวานได้ 91.45 % โดยไม่มีผลต่อคุณภาพของผลพริกหวาน

การทดลองที่ 4 การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของไม้ดอกวงศ์ขิง ได้สำรวจโรคหลังการเก็บเกี่ยวของไม้ดอกวงศ์ขิงตามแหล่งปลูก ศึกษาลักษณะอาการโรค แยกเชื้อสาเหตุ ศึกษาวิธีการควบคุมโรคใช้สารสกัดจากพืช ทั้งในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) และบนหัวพันธุ์ (*in vivo*) พบว่าเชื้อสาเหตุโรคคือ *Fusarium* sp. *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. เมื่อศึกษาการควบคุมโรคพบว่า การจุ่มหัวพันธุ์ด้วยสารสกัดน้ำมันหอมระเหยขมิ้นชัน ตะไคร้หอม กะเพรา และกานพลู สามารถควบคุมโรคในหัวพันธุ์ปทุมมา จากเชื้อสาเหตุโรคคือ *Fusarium* sp. ได้

การทดลองที่ 5 การลดความสูญเสียในผลิตผลผักสดหลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีผสมผสานตลอดห่วงโซ่การผลิต ได้ศึกษาขั้นตอนในกระบวนการผลิตผักสะระแหน่เพื่อส่งออก สุ่มตัวอย่างตรวจเชื้อ *Escherichia coli* และ Salmonella ประเมินความรุนแรงและกำหนดความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ทดสอบการปฏิบัติในขั้นตอนที่มีความเสี่ยง พบว่าขั้นตอนการล้างหลังจากเก็บเกี่ยวที่แปลงปลูกเป็นจุดที่มีความเสี่ยงสูงที่สุด รองลงมาคือขั้นตอนการล้างในโรงคัดบรรจุ และการควบคุมอุณหภูมิในขณะขนส่ง

การทดลองที่ 6 การลดความสูญเสียในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีผสมผสานตลอดห่วงโซ่การผลิต ได้ศึกษาการควบคุมเชื้อราบนผิวลองกองในบรรจุภัณฑ์ active film เก็บที่อุณหภูมิ 15 ℃ พบว่าการใช้ 1-MCP ที่ความเข้มข้น 500 ppm และ chitosan ที่ 0.25 % ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ active film หนา 40 ไมครอน สามารถชะลอการหลุดร่วง ลดการเกิดสีน้ำตาล และลดการเกิดโรคได้นาน 12 วัน

การทดลองที่ 7 การควบคุมการเน่าเสียของขิงระหว่างการเก็บรักษาด้วยชีววิธีและการฉายรังสี ได้ศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากเชื้อราและรังสี UV พบว่าสารสกัดจากราที่แสดงปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์แบบ Antibiosis ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) แต่ปริมาณผลผลิต secondary metabolites ที่ได้ต่ำมากจึงไม่มีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้งาน และการให้รังสี UV แก่แง่งขิง ร่วมกับการบ่มสมานบาดแผลในสภาพความชื้นสัมพัทธ์สูง (95 % RH.) สามารถเร่งการสมานบาดแผลได้ในเวลา 12-24 ชม. จากเดิมที่ใช้เวลา 48 ชม.

Abstract

The objective of activities on “control of post-harvest plant diseases and mycotoxins by using evaluation of infections and Integrated plant disease management” are studies on the integrated use of effective control to manage postharvest diseases and mycotoxins in agricultural commodities, including disease and risk assessments assessment in production processes. The experiments in this activity were conducted as described below.

The first experiment is the evaluations of postharvest quiescent infection of anthracnose disease on mangoes 'Num Dok Mai'. The results of studies showed that mango fruits dipped in paraquat at a concentration of 2,000 ppm for 1 minute could provoke symptoms of quiescent infectious fungi (*C. gloeosporioides*) within 72 hours or three days.

The second experiment is using of heat treatments combining with carbonate and bicarbonate compounds to controlling of postharvest anthracnose disease of the fruits. The studies on the efficiency of hot water combining with carbonate compounds were conducted in the laboratory (*in vitro*) and the fruits (in vivo), the results showed that the use of ammonium carbonate and potassium carbonate at 2 % and 2-3% respectively, in hot water treatment at 55 ℃ for 5 minutes provided highly effective control of anthracnose disease on dragon fruits, papayas and mangoes.

The third experiment is using of GRAS substances combining with hot water treatments to control postharvest anthracnose diseases on the sweet pepper. The studies on the efficiency of GRAS substances combining with hot water treatments were conducted in the laboratory (*in vitro*) and the fruits (in vivo), the results showed that the use of hot water treatment at 53 ℃ for 4 minutes with potassium sorbate at a concentration of 500 mg/l. provided highly inhibitory effects on postharvest anthracnose diseases, caused by *C. gloeosporioides* on sweet peppers at 91.45 %, without affecting the quality.

The fourth experiment is controlling of postharvest diseases of a Curcuma combs. The studies were conducted by surveyed postharvest diseases of Curcuma, isolated the causal fungi and tested for disease controls by using plant extracts. The studies were conducted in the laboratory (*in vitro*) and on Curcuma combs (*in vivo*). The results showed that causal fungi of Curcuma were *Fusarium* sp. *Curvularia* sp. And *Alternaria* sp.. The results of Curcuma comb those dipped in extracts, essential oils, lavender, holy basil, turmeric and cloves gave highly effective on disease control of Curcuma caused by *Fusarium* sp..

The fifth experiment is the reducing of postharvest losses of fresh produces by using integrated control throughout the production chain. The studied were conducted on surveyed the processes of kitchen mint productions. A sampling of *Escherichia coli* and *Salmonella* in processes of production evaluated the severity and the risk of microbial contaminations. The results revealed that the process of cleaning at plantations after

harvesting is the highest risk step the second is the step of washing at the packing houses and temperature control during transports.

The sixth experiment is the reducing of post-harvest losses in fruits by using integrated control throughout the production chain. The studied on controlling of mold on longong fruits using an active film combining with 1-MCP and chitosan was conducted. The results showed that the use of 1-MCP at a concentrations of 500 ppm chitosan at a concentrations of 0.25 % and the active film thickness of 40 microns provided extending of the fallen of fruits, reduced browning and disease at 12 days after storage.

The seventh experiment is controlling of ginger spoilage during storage by using biological control and radiation. The efficacy tests of mold extracts and UV-C were conducted, extracts of the mold those opposed as the Antibiosis interaction in the laboratory (*in vitro*), gave very low of the yield of secondary metabolites, so there is a low possibility to use in *in vivo* tests. The ginger rhizomes those exposed to UV-C showed the stimulating effects on wound curing under high humidity (95 % RH.) wounds were healed in 12-24 hour comparing with the original time of 48 hours.

บทนำ

การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวกับผลไม้ชนิดใดชนิดหนึ่งบางครั้งการใช้วิธีการควบคุมวิธีเดียวอาจจะไม่ได้ผลร้อยเปอร์เซ็นต์ เพราะการเกิดโรคอาจจะเกิดจากเชื้อราสาเหตุหลายชนิดพร้อมกัน หรืออาจเกิดการเข้าทำลายในแต่ละช่วงอายุหลังการเก็บเกี่ยว ดังนั้นการใช้วิธีการแบบผสมผสานอาจจะทำให้การควบคุมมีคุณภาพมากยิ่งขึ้น เช่นการใช้น้ำร้อนร่วมกับการสารกลุ่ม GRAS การใช้ความร้อนร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ หรือการใช้สารสกัดพืชร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ เป็นต้น นอกจากนี้การประเมินสถานการณ์การเกิดโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรก็เป็นอีกแนวทางในการที่จะหาวิธีการที่เหมาะสมในการที่จะมาควบคุมหรือแก้ปัญหาแบบผสมผสานในจุด หรือขั้นตอนเสี่ยงระหว่างกระบวนการผลิตจนถึงผู้บริโภคโดยไม่ต้องใช้สารเคมี

การทบทวนวรรณกรรม

ปัจจุบันพบว่ามะม่วงมีปัญหาจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ซึ่งสามารถเข้าทำลายมะม่วงได้ทุกระยะการเจริญเติบโต (ปิ่มมาลา, 2520; สุชาติ และคณะ, 2531) โดยเฉพาะในระยะติดดอกออกผล ทำให้ช่อดอกเน่าดำ ติดผลน้อยลง และผลม่ะม่วงเป็นจุดดำ มักพบอาการรุนแรงต่อมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ และทองดำ (สมศิริ, 2531; อังสุมา, 2530; นิพนธ์, 2535) นอกจากนี้ยังพบปัญหาการติดเชื้อแบบแฝง (quiescent infection) ตั้งแต่ระยะแทงช่อดอก (Jeger *et al*., 1987) ที่ทำให้เกิดอาการจุดดำในผลมะม่วงที่กำลังสุก (นิพนธ์, 2532; Jeger *et al*., 1987) ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากต่อการผลิตมะม่วงเพื่อการส่งออก (McDonald, 1992) โดยเฉพาะมะม่วงน้ำดอกไม้ที่นิยมรับประทานและส่งออกเป็นผลไม้รับประทานผลสุก (ชวาลา, 2530) จากปัญหาความเสียหายที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชและปัญหาการต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อสาเหตุโรคพืช (Prusky and Keen, 1993; Sanders *et al*., 2000) จึงมีการศึกษากลไกการเข้าทำลาย สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลาย (Estrada and Ilag, 1990; Estrada *et al*., 2000; Dodd *et al*., 1991) และการแพร่ระบาด (Fitzell and Peak, 1984) เพื่อหาแนวทางป้องกันกำจัดโรคตั้งแต่ในสภาพแปลงปลูก (อรุณี, 2533; นิพนธ์, 2542)

ในการเกิดโรค สปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถแพร่ระบาดโดยลมและฝนโดยเฉพาะในสภาพอากาศที่ชื้นสลับกับอุณหภูมิสูงและมีความแห้งแล้ง รวมทั้งในแปลงที่แน่นทึบมีความชื้นสูงและอยู่ในระยะแตกยอดอ่อน แทงช่อดอก และติดผลอ่อน ซึ่งจะทำให้เป็นโรคได้ง่ายโดยสปอร์ของเชื้อราจากใบที่เป็นโรคจะไหลไปตามหยดน้ำลงสู่ขั้วผลแล้วกระจายไปทั่วผลทำให้ขั้วและก้นผลเน่า ในบางครั้งอาจพักตัวบนผลและทำให้ผลเน่าในระยะหลังเก็บเกี่ยว (นิพนธ์, 2542) conidia ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถเจริญอยู่บนใบ ช่อดอก และฐานรองดอกที่เป็นโรค จากนั้นจะแห้งและร่วงหล่น ซึ่งเป็นแหล่งของโรคต่อไป (Fitzell and Peak, 1984) ในบางครั้งหลังจากเชื้อเข้าทำลายช่อดอกแล้ว เชื้ออาจพักตัวอยู่ในผลดิบโดยไม่ขยายบริเวณทำลายหรือไม่ก่อให้เกิดแผลหรืออาการผลเน่าจนกว่ามะม่วงเริ่มสุก (Jeger *et al*., 1987; นิพนธ์, 2532) โดยผลมะม่วงที่เป็นโรคนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาคือมีอัตราการหายใจ ผลิตก๊าซ

คาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซเอทิลีนสูงกว่าปกติ (Sangchote, 1989) ซึ่งเอทิลีนที่เกิดขึ้นในขณะผลสุกมีผลในการชักนำทำให้เกิดการเข้าทำลายเซลล์พืชของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง (Flaishman *et al*., 1995)

ในการควบคุมโรคและลดความเสียหายต่าง ๆ การใช้วิธีการทางกายภาพร่วมกับการใช้สารเคมีเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพ ได้ดีกว่าการใช้วิธีการเพียงวิธีเดียว อาทิเช่น การใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง 54 และ 57 °C ก่อให้เกิดผลเสียหายและสูญเสียความเงา (Quimio and Quimio, 1974b; Spalding and Reeder, 1972) ในการใช้สารเคมี (benomyl หรือ thiabendazole) ร่วมกับการใช้น้ำร้อนสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้นานขึ้น ลดความเสียหายจากความร้อนที่ต้องใช้อุณหภูมิสูงและต้องจุ่มในระยะเวลาที่นานเมื่อใช้เพียงน้ำร้อนอย่างเดียว (Spalding and Reeder, 1972) การจุ่มผลมะม่วงพันธุ์ Tommy Alkins และ Keit เป็นเวลา 1- 3 นาที ในน้ำร้อน (52 °C) ที่มี benomyl 0.1% เก็บไว้ เป็นเวลา 17-18 วัน ที่อุณหภูมิ 13 °C และตามด้วยอุณหภูมิ 22 °C ให้ผลในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสโดยพบเปอร์เซ็นต์โรค 17 และ 25% ตามลำดับ (Spalding and Reeder, 1978) การจุ่มผลมะม่วงหลังจากเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชม. ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C นาน 5 นาที และเติม benomyl 0.025, 0.05 หรือ 0.1 % สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้เป็นอย่างดี (Sampio *et al*., 1981) การควบคุมโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงพันธุ์ Jamin Kent และ Keitt โดยใช้ความร้อนอุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยการจุ่มใน prochloraz (81 g. a.i./100 l.) ให้ผลดีในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส (Lonsdale, 1993) ซึ่งในการเติม benomyl 500 หรือ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ช่วยให้สามารถลดอุณหภูมิน้ำร้อนลงเป็น 51.5 °C และอุณหภูมิ 48.5 °C ได้โดยไม่ทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลง เมื่อเทียบกับการใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C (Muirhead, 1976) และการใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 52 °C เพียงอย่างเดียวเป็นเวลา 30 นาที ให้ผลในการควบคุมโรคในโรงเก็บที่มีอุณหภูมิ 12 °C ได้ถึง 26 วัน ซึ่งหากใช้ร่วมกับ carbendazim สามารถลดเวลาในการจุ่มน้ำร้อนลงเป็น 15 นาที ที่ระยะเวลาและอุณหภูมิเก็บรักษาเดียวกัน (Om-Prakash *et al*.,2000)

การใช้สารสกัดจากพืชควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง ในปี 1991 Korpraditskul *et al*. ได้ทดลองใช้สารสกัดจาก ทองพันชั่ง ข่า ชงโค และว่านน้ำ ควบคุมโรคแอนแทรคโนสภายหลังจากการปลูกเชื้อโรคพบว่าทองพันชั่งให้ผลการควบคุมดีที่สุด รองลงมาคือ ข่า ชงโค และว่านน้ำ ซึ่งความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.38, 1.50, 1.50 และ 1.65 ซม. ตามลำดับ โดยในกรรมวิธีควบคุมพบความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.25 ซม. Escopalao and Silvestre (1996) ได้ทดลองควบคุมโรคโดยใช้สารสกัดจากพืช 15 ชนิด พบว่ามีเพียงผล kamantigue และใบกระเทียม (garlic vine) ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยทำให้เกิดบริเวณของการยับยั้ง (Clear zone)

อย่างไรก็ตาม การควบคุมโรคจะทำได้อย่างมีประสิทธิภาพและคุ้มค่ามากขึ้นเมื่อสามารถประเมินการเข้าทำลายของเชื้อบนผลมะม่วงเพื่อให้ทราบถึงความเสียหายที่จะเกิดขึ้นแก่ผลผลิตทั้งหมด ซึ่งจะช่วยในการวางแผนเลือกใช้วิธีการที่เหมาะสมกับระดับความรุนแรงของโรค การตรวจสอบ การเข้าทำลายแฝง

(Quiescent Infection) เพื่อประเมินการเกิดโรคของไม้ผลหลังการเก็บเกี่ยว เป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยให้ทราบถึงการเข้าทำลายของเชื้อบนผลมะม่วงได้ Emery *et al*.(2000) ได้ศึกษาสาลี่ที่อ่อนแอต่อโรค brown rot ที่เกิดจากเชื้อ *Monilinia fructicola* ที่ทำให้ผลสุกเน่าช่วงก่อนเก็บเกี่ยว โดยที่เชื้อจะเข้าทำลายตั้งแต่ระยะดอกบานในฤดูใบไม้ผลิ ได้ทดลองเก็บผลสาลี่ ทุก 14 วัน นำมาให้ paraquat เพื่อกระตุ้น quiescent infection โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 สัปดาห์ แล้วบันทึกการเกิดโรคจนถึงช่วง 7-14 วันก่อนเก็บเกี่ยว พบว่าการเกิดโรคมีสหสัมพันธ์กับโรค blossom blight (r=0.9763) และการเน่าของผลในระยะเก็บเกี่ยว (r=0.996) ชี้ให้เห็นว่า quiescent infection เป็นแหล่ง inoculum ที่สำคัญในการเน่าของผลสาลี่ และสามารถใช้เป็น biological indicator ของความเสี่ยงในการเกิดโรคระหว่างเก็บเกี่ยวของสาลี่ ได้ ขณะที่ Ishikawa (2003) พบว่าการแช่เอทานอลช่วยกระตุ้นการแสดงอาการโรคแอนแทรคโนสบนใบสตรอว์เบอรี่ที่มีการเข้าทำลายแฝงโดยเชื้อ *Glomerella cingulata* ภายใน 5-10 วันหลังการบ่มที่ 28 ºC

การใช้ความร้อนร่วมกับคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนตควบคุมโรคแอนแทรคโนสของไม้ผลหลังเก็บเกี่ยว บูรณี (2548) ได้ทดลองควบคุมโรค green mold ในส้มสายน้ำผึ้ง โดยจุ่มผลส้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50, 52, 54 และ 56 ºC นาน 2 นาที สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *Penicillium digitatum* และพบการเกิดโรค 75.0, 66.7, 43.3 และ 20.0% ตามลำดับ การใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 56 ºC ร่วมกับ imazalil ที่ความเข้มข้น 500 ppm นาน 2 นาที ยับยั้งการเกิดโรคได้ 100 % ในขณะที่การใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 56 ºC ลดการเกิดโรคได้เพียง 58.3 %

Couey (1984) ได้ทดลองควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะละกอ โดยจุ่มผลในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 43-49 ºC นาน 20 นาที สามารถควบคุมโรคได้ และ Alvanze (1987) พัฒนาวิธีการใช้น้ำร้อน “Double Dip” มาใช้ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ รวมถึงมีผลต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนส

Conway *et al*. (2005) ได้ทดลองควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวของแอปเปิ้ล พันธุ์ Gloden Delicious โดยปลูกเชื้อราสาเหตุโรค *Penicillium expansum* และ *Colletotrichum acutatum* บนผล แล้วใช้ลมร้อน (Hot air treatment) ที่อุณหภูมิ 38 ºC นาน 4 วัน Sodium bicarbonate 2 % และ เชื้อปฏิปักษ์ 2 ชนิด หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 1 ºC นาน 4 เดือน พบว่าการใช้ ลมร้อนร่วมกับ Sodium bicarbonate และเชื้อปฏิปักษ์ ให้ผลควบคุมโรคบนผลที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคทั้งสองชนิดได้ดี รองลงมาคือ การใช้ลมร้อนร่วมกับ Sodium bicarbonate ขณะที่การใช้ลมร้อนเพียงอย่างเดียวให้ผลในการควบคุมเชื้อ *P. expansum* ได้ดีกว่าเชื้อ *C. acutatum*

Gamagal *et al*. (2003) ได้ทดลองควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในมะละกอระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13.5 ºC ความชื้นสัมพัทธ์ 95 % นาน 14 วัน โดยใช้ wax ร่วมกับลมร้อน Sodium bicarbonate 2 % และเชื้อยีสต์ (*Candida oleophila*) พบว่าวิธีการผสมผสานระหว่าง wax ร่วมกับ Sodium bicarbonate 2 % และเชื้อยีสต์ ลดการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคลง โดยมี

ลักษณะทางกายภาพอยู่ในระดับดี มีตำหนิเล็กน้อย รองลงมาคือ wax ร่วมกับ Sodium bicarbonate 2 % ลักษณะทางกายภาพอยู่ในระดับยอมรับได้ มีตำหนิปานกลาง

Palou *et al*. (2001) ควบคุมโรค blue mold เกิดจากเชื้อราสาเหตุ *Penicillium italicum* บนผลส้ม โดยใช้สารละลาย Sodium bicarbonate พบว่าที่ 2, 3 และ 4% ให้ผลในการควบคุมเชื้อรา *P. italicum* ในขณะที่ 1 % ไม่สามารถควบคุมเชื้อได้

Palou *et al*. (2002) ควบคุมโรค green mold เกิดจากเชื้อรา *P. digitatum* และโรค blue mold เกิดจากเชื้อ *P. italicum* บนผลส้มแมนดารินที่ปลูกเชื้อโดยใช้น้ำร้อน Sodium carbonate และ Sodium bicarbonate พบว่าการจุ่มผลส้มใน Sodium carbonate 3 % ที่ 50°C นาน 150 วินาที สามารถควบคุมโรค green mold และ blue mold ได้สมบูรณ์ โดยไม่เกิดความเสียหายต่อผลส้ม ในขณะที่การจุ่มผลส้มใน Sodium bicarbonate 3 % ที่อุณหภูมิปกตินาน 60 หรือ 150 วินาที จะช่วยลดการเกิดโรคทั้งสองชนิดได้ 40-60 % นอกจากนี้ Porat *et al*. (2003) ยังพบว่า Sodium bicarbonate มีผลให้การงอกของสปอร์เชื้อรา *P. italicum* ช้าลง ในส้มที่ปลูกเชื้อ *P. italicum* และ Sodium bicarbonate ที่ 2% สามารถฆ่าสปอร์ที่งอกแล้ว

Sivakumar *et al*. (2002) ควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะละกอโดยใช้ ammonium carbonate 3 % และ Sodium bicarbonate 2% เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13.5 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 95 % นาน 21 วันและ 2 วันที่อุณหภูมิวางจำหน่าย พบว่า ammonium carbonate 3 % ร่วมกับ wax มีผลให้การเกิดโรคตามธรรมชาติลดลง 70 % ยังช่วยรักษาความแน่นเนื้อและสีของผลมะละกอได้ดีกว่า Sodium bicarbonate 2 % ร่วมกับ wax ซึ่งมีการเกิดโรคตามธรรมชาติลดลง 54 %

Smilanick *et al.* (1995) ควบคุมโรค green mold เกิดจากเชื้อ *P. digitatum* บนผลส้ม โดยใช้สารในกลุ่ม GRAS เช่น sulfur dioxide, ethanol และ Sodium carbonate ที่อุณหภูมิ 45 °C พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเทียบเท่าการจุ่มในสารเคมี imazalil ที่อุณหภูมิ 25 °C

ในประเทศไทยพบเชื้อรา 2 ชนิด ที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก คือเชื้อรา *C. gloeosporioides* (Telomorp; *Glomerella cingulata*) และ *C. capsici* สามารถทำให้เกิดโรคบนผลพริกสุกได้กับพริกทุกพันธุ์ จะรุนแรงมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของพริก สมศิริ (2521) รายงานว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทำให้เกิดโรคอย่างรุนแรงกับพริกยักษ์ แสดงอาการปานกลางกับพริกชี้ฟ้าและพริกเหลือง แต่เป็นโรคน้อยที่สุดกับพริกขี้หนู ส่วนเชื้อรา *C. capsici* จะทำให้เกิดโรครุนแรงกับพริกหยวก พริกเหลืองและพริกบางช้าง แสดงอาการปานกลางกับพริกชี้ฟ้า และเป็นโรคน้อยที่สุดกับพริกขี้หนู

การควบคุมโรคแอนแทรคโนสในปัจจุบันนิยมใช้สารเคมีซึ่งมีการตกค้างของสารพิษทั้งในผลผลิตพริกและในสภาพแวดล้อม ซึ่งเป็นผลเสียต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค รวมถึงสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในสภาพแวดล้อม การใช้ความร้อนเป็นวิธีการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่น่าสนใจ นำมาใช้ในการควบคุมการควบคุมการเน่าเสียของ

ผลไม้และประสบความสำเร็จแล้วในผลไม้หลายชนิด เช่น มะม่วง มะละกอ (Couey, 1989) เป็นต้น การให้ความร้อนที่มากกว่า 40 °C เป็นเวลา 3-5 นาทีสามารถควบคุมการเน่าเสียจากเชื้อโรคที่พบบนผิวหรือที่เซลล์ชั้นนอก (outer cell layers) ได้ซึ่งโดยทั่วไปผลิตผลเหล่านี้ทนอุณหภูมิสูงที่ 50-60 °C นาน 5-10 นาที แต่ในการควบคุมโรคนั้นเพียงช่วงสั้น ของอุณหภูมิหนึ่งก็สามารถควบคุมโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวได้เพราะเชื้อโรคถูกทำลายไปในขณะที่ผลผลิตมีการเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย (Barkai-Golan and Phillips, 1991) การใช้ความร้อนยังช่วยลดอาการสะท้านหนาว (chilling injury) ในสภาพอุณหภูมิต่ำ ชักนำให้เกิดสาร PR protein เช่น chitinase และ β-1,3 glucanse เป็นต้น และสารต่อต้านเชื้อรา ชะลอการเสื่อมของสารต่อต้านเชื้อราที่มีอยู่แล้วในผลอ่อน และสามารถยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ polygalacturonases (Schirra *et al*., 2000)

Fallik *et al.* (1996) พบว่าการใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 50 °C นาน 3 นาที ในการควบคุมโรค grey mold และ black mold จากเชื้อรา *Botrytis cinerea* และ *Alternaria alternata* บนผลพริกหวาน สามารถยับยั้งการเน่าเสียได้อย่างสมบูรณ์ และไม่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช ต่อมา Gonzalez-Aguilar *et al.* (1997) ศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาพริกหวานโดยใช้ร้อนร่วมกับห่อด้วยฟิล์มพลาสติก พบว่าการจุ่มพริกหวานสีเขียวในน้ำร้อนอุณหภูมิ 53 °C เป็นเวลา 4 นาที ร่วมกับการห่อฟิล์มพลาสติก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 °C คงความสดของผลพริกหวานอยู่ได้เป็นเวลา 28 วัน

ในควบคุมการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร โดยเฉพาะธัญพืชพร้อมบริโภค ควรจะมีการประเมินการปนเปื้อนเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินในเมล็ดธัญพืช ก่อนที่จะหาวิธีการควบคุมที่เหมาะสม เนื่องจากไม่สามารถใช้วิธีการใดวิธีการหนึ่งเพียงอย่างเดียวในการควบคุมได้ประสบผลสำเร็จ จำเป็นต้องผสมผสานวิธีการเข้าด้วยกัน อมรา และคณะ (2549) ได้ศึกษาการปนเปื้อนเชื้อราในผลิตผลเกษตรจำนวน 17 ชนิด จากแหล่งจำหน่าย 10 แห่ง พบชนิดของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *A. niger* มากที่สุด โดยพบเชื้อรา *A. niger* ปนเปื้อนในผลผลิตมากที่สุด รองลงมาคือ *A. flavus* โดยพบในถั่วลิสง 46.8 % และ 38.6% ตามลำดับ ในลูกเดือยพบ *A. flavus* 20.34% และในงาดำ 13.77% นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อราในกลุ่ม *Penicillum* และ *Fusarium* ในหลายตัวอย่าง และเมื่อนำมาศึกษาการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน ด้วยวิธี ELISA พบว่าถั่วลิสงมีการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน 96.01 % และมีปริมาณสารพิษในระดับที่สูงมากคือ มากกว่า 1,000 ppb ในงาดำพบปนเปื้อน 92.27% และมีปริมาณสารพิษอยู่ระหว่าง 101-200 ppb และลูกเดือยพบสารปนเปื้อน 89.29%แต่มีปริมาณสารพิษอยู่ในระดับต่ำไม่เกิน 20 ppb

อินทิรา (2541) ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราเมล็ดพืชแห้งจากท้องตลาดจำนวน 251 ตัวอย่าง พบว่ามีเชื้อราปนเปื้อน 218 ตัวอย่าง โดยพบว่าตัวอย่างที่เป็นถั่วลิสง ถั่วเขียว ข้าวโพด ถั่วเหลือง ข้าวขาว และข้าวกล้อง มีการปนเปื้อน 100, 92, 88, 84, 72 และ 70 % ตามลำดับ เชื้อราที่พบมากที่สุดคือ *A. flavus* โดยพบ 112 ตัวอย่าง รองลงมาคือ *A. niger* 111 ตัวอย่าง เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารแอฟลาทอกซิน B_1 โดยวิธี ELISA ในถั่วลิสง 90 % ข้าวโพด ข้าวสาร ถั่วเหลือง และถั่วเขียว พบปริมาณแอฟลาทอกซิน 35, 27, 22 และ 16 % ตามลำดับ ซึ่งปริมาณแอฟลาทอกซินที่พบอยู่ในระดับต่ำคือ 3-36 ppb ยกเว้นในถั่งลิสงที่พบสูงถึง

268 ppb ซึ่งข้อมูลการปนเปื้อนเหล่านี้จำเป็นต้องทันสมัยตลอดเวลา เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และเป็นข้อมูลในการต่อรองทางการค้าด้วย

จากการศึกษาข้อมูลโรคหลังการเก็บเกี่ยวของไม้ดอกวงศ์ขิง Kumar and Roy (1990) โด้รายงานถึงอาการเน่าของแง่งขมิ้นในตลาดเดลี ประเทศอินเดีย โดยพบเชื้อราที่เข้าทำลายดังต่อไปนี้ *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *Drechslera [Setosphaeria] rostrata*, *Fusarium moniliforme* [*Gibberella fujikuroi*], *F. oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium* [*Corticium*] *rolfsii* นอกจากนั้นยังพบว่าเชื้อ *Aspergillus* spp. เป็นสาเหตุของอาการเน่าอย่างรุนแรงทั้งในแง่งที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผล

ในประเทศไทย ณัฐฏิมา และคณะ (2549) พบว่าปัญหาที่สำคัญในการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมาคือโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solamacearum* ที่ระบาดทำความเสียหายให้กับเกษตรกรและผู้ส่งออก เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถติดไปกับหัวพันธุ์ปทุมมาได้และเป็นเชื้อโรคที่สำคัญในการกักกันพืช ถ้าพบเชื้อนี้ติดไปกับหัวพันธุ์ที่ส่งออก หัวพันธุ์เหล่านั้นจะถูกเผาทำลายทันที วิภาดา และคณะ (2550) พบว่าไม่พบเชื้อสาเหตุโรคหัวเน่าหรือพบน้อยในหัวย่อยของปทุมมาจึงศึกษาแนวทางการขยายหัวพันธุ์ปทุมมาปลอดเชื้อโรคหัวเน่าจากหัวย่อย

โรคแง่งเน่าของขิงระหว่างการเก็บรักษามีรายงานในประเทศอินเดียตั้งแต่ปี ค.ศ.1952 โดยพบว่าแง่งขิงที่เก็บรักษาไว้เกิดเส้นใยสีขาวของเชื้อราเจริญปกคลุม เมื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์และจำแนกชนิด พบว่าเป็นเชื้อรา *Fusarium roseum* เมื่อนำมาปลูกเชื้อบนแง่งขิงปกติไม่แสดงอาการโรค แต่เมื่อปลูกเชื้อลงในบาดแผลบนแง่งขิง กลับทำให้แง่งขิงเกิดโรคเน่าเสียหายได้ จึงสรุปว่าเชื้อนี้เป็น secondary invader หรือ wound invader ของแง่งขิง (Mehrotra, 1952) ซึ่งต่อมามีรายงานการเน่าเสียของแง่งขิงระหว่างการเก็บรักษาที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุหลายชนิด เช่น Sarma and Nambiar (1974) ได้รายงานถึงโรค dry rot ของขิงที่เกิดทั้งในแปลงปลูกและระหว่างการเก็บรักษา เกิดจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* ต่อมา Sharma and Joshi (1976) รายงานว่าพบเชื้อราที่ก่อให้เกิดอาการ red rot (*Nectria inventa*), gray rot (*Trichorus spiralis*) และ black rot (*Memnoniella echinata*) บนแง่งขิงที่อยู่ระหว่างการเก็บรักษา และมีรายงานของ Mishra and Rath (1988) กล่าวถึงการแยกเชื้อรา *Gleocladium candidum* จากเนื้อเยื่อขิงที่ได้จากตัวอย่างแง่งขิงจากตลาดใน Bhubaneswar, Orissa และเชื้อดังกล่าวทำให้เกิดอาการเน่าเมื่อปลูกเชื้อลงบนแง่งขิงที่อุณหภูมิ 25 °c ความชื้นสัมพัทธ์ 100% นาน 15 วัน ต่อมา Rath and Misha (1993) รายงานการแยกเชื้อรา *F. oxysporum, F. equiseti, Nectria inventa, Cylindrocladium scoparium* และ *Cylindrocarpon* sp. จากแง่งขิงที่เก็บตัวอย่างจากท้องตลาดและในแปลงปลูก ในประเทศเกาหลีมีรายงานการแยกเชื้อจากแง่งขิงที่เน่าระหว่างการเก็บรักษาโดยแยกตามอาการที่พบคืออาการ yellow soft rot เกิดจากเชื้อ *Erwinia carotovora* และ *Pseudomonas aeraginosa* อาการ brown rot เกิดจากเชื้อ *Fusarium solani* และ *P. aeraginosa* อาการ localized ring rot เกิดจากเชื้อ *F. solani* และอาการ water soak rot เกิดจากเชื้อ

Pythium ultimum (Kim *et al*, 1998) ในประเทศไทยมีรายงานของประวัติ และคณะ (2521) ที่กล่าวถึงการเน่าของแง่งขิงที่อยู่ระหว่างการทดลองเก็บรักษาขิงสดเพื่อการส่งออก ซึ่งพบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* และรายงานของ ศศิธร และคณะ (2529) ถึงโรคเน่าของแง่งขิงที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp., *Sclerotium* sp. และ *Fusarium* sp. ในแปลงบางแหล่ง แต่ความรุนแรงในการระบาดไม่มากเท่าโรคเน่าที่เกิดจากแบคทีเรีย

พบว่าในแง่งขิงที่ยังไม่แสดงอาการเน่าให้เห็นก็สามารถตรวจพบเชื้อราสาเหตุได้เช่นกัน ขณะที่ Kim *et al* (1998) ได้รายงานว่าเชื้อรา *Pythium myriotylum* ที่เป็นเชื้อราสาเหตุที่ก่อโรคกับขิงในสภาพแปลง แต่ในสภาพเก็บรักษาเมื่อทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์กลับพบเชื้อเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ชี้ให้เห็นว่าเชื้อราชนิดนี้ไม่ได้เป็นเชื้อสาเหตุโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญของขิง เชื้อ *Pythium* sp. ไอโซเลตอื่นที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคเน่าที่แยกได้จากขิงที่เก็บรักษาอยู่นั้น เมื่อตรวจหาเชื้อก็พบในปริมาณที่น้อยลงในเนื้อเยื่อที่อยู่ห่างจากเนื้อเยื่อที่เน่าเสีย และเมื่อทดลองปลูกเชื้อก่อโรคหลายชนิดในบาดแผลบนแง่งขิง พบว่าความรุนแรงของโรคผันแปรไปตามอุณหภูมิที่บ่มเชื้อ (15, 20 และ 30 °C) โดยอาการโรคจะรุนแรงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่จากรายงานของ Lana *et al* (1993) กลับพบว่าการเก็บรักษาแง่งขิงที่อุณหภูมิห้อง (17-25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 40-80 %) มีการเกิดโรคเน่าน้อยกว่าการเก็บที่อุณหภูมิต่ำ (13±1 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 80 %) โดยที่การเก็บที่อุณหภูมิต่ำจะมีการสูญเสียน้ำน้อยกว่า และการเคลือบ wax ไม่ได้เป็นประโยชน์แก่การเก็บรักษา ขณะที่การห่อด้วยฟิล์มพลาสติกพีวีซี (Polyvinyl chloride) ช่วยลดการสูญเสียน้ำแต่กลับทำให้เกิดการเน่าของแง่งขิงเพิ่มขึ้น ซึ่ง Swarts and Bezvidenhout (1992) ได้รายงานสอดคล้องกันว่าการเก็บแง่งขิงที่อุณหภูมิ 10 °C ทำให้ขิงมีคุณภาพดีกว่าการเก็บที่อุณหภูมิ 13-21 °C แต่พบการเน่าเสียมากกว่า

การฉายรังสีอาหารคือการนำเอาอาหารที่บรรจุในภาชนะหรือหีบห่อที่เหมาะสมไปผ่านการฉายรังสีเอ็กซ์ หรือรังสีอิเล็กตรอน ในปริมาณที่เหมาะสมตามวัตถุประสงค์ เช่น การฆ่าเชื้อโรคและพยาธิ การยับยั้งการทำลายของแมลง การยืดอายุการเก็บรักษา การยับยั้งการงอกและชะลอการสุก (สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ, 2541)

การสมานบาดแผล (Wound healing) ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีรายงานในหลายพืชว่าสามารถลดการเน่าเสียระหว่างการเก็บรักษาได้ เช่น แครอท พบว่าการเก็บในสภาพอุณหภูมิ 15 °C ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 95-98 % เป็นเวลา 48 ชม. ก่อนนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ช่วยลดการเน่าเสียระหว่างการเก็บรักษาได้ ซึ่งผลการวิจัยในมันฝรั่งและมันเทศก็ให้ผลในทิศทางเดียวกัน นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้รังสี UV และความร้อนชั่วระยะเวลาหนึ่ง ก่อนการเก็บรักษายังสามารถกระตุ้นการสมานบาดแผลในผลกัมคว็อท และกีวี ตามลำดับ (Barkai-Golan, 2001) หากสามารถนำวิธีการนี้มาใช้ในขิงเพื่อการส่งออกทางเรือซึ่งใช้เวลาเดินทางนาน เป็นผลสำเร็จก็จะช่วยลดปัญหาด้านต้นทุนและการตกค้างของสารกำจัดราหลังการเก็บเกี่ยวได้อีกทางหนึ่ง

ระเบียบวิธีวิจัย

การทดลองที่ 5.1 วิธีการประเมินการเข้าทำลายของโรคแอนแทรคโนสในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวโดยการตรวจสอบการเข้าทำลายแฝง (Quiescent infection)

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 55-56

1. การศึกษาวิธีการกระตุ้น quiescent infection บนผลมะม่วง โดยใช้ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่แก่พร้อมเก็บเกี่ยว แต่ยังไม่สุก ที่สมบูรณ์ไม่มีอาการโรคแอนแทรคโนส ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 10% Clorox นาน 3 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แล้วผึ่งให้แห้ง นำผลมะม่วงมาชุบสารละลาย paraquat ที่ความเข้มข้น 0 (control), 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm เก็บในกล่องรักษาความชื้น ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเปลี่ยนแปลงและการเกิดอาการโรค

2. ศึกษาการปลูกเชื้อโดยจำลองสภาพธรรมชาติ เพื่อใช้เป็นกรรมวิธีควบคุมสำหรับเปรียบเทียบระหว่างการเข้าทำลายโดยธรรมชาติกับการเข้าทำลายจากการปลูกเชื้อ จึงทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบวิธีการปลูกเชื้อที่ผิวผลด้วยวิธีการ คือ

1 ไม่มีการทำบาดแผล

2 ทำบาดแผลด้วยกระดาษทรายละเอียด (เบอร์ 180) ขนาด 1 x 1 นิ้ว

3 ทำบาดแผลด้วยเข็มเขี่ยเชื้อรา

จากนั้นปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอยเชื้อ *C. gloeosporioides* เก็บในกล่องรักษาความชื้นนาน 24 ชม. นำผลมะม่วงมาชุบสารละลาย paraquat ที่ความเข้มข้น 2,000 ppm นาน 1 นาที เก็บในกล่องรักษาความชื้น ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการทดลอง สังเกตการเปลี่ยนแปลงของผิวผลมะม่วง และการเกิดอาการโรค

3. ศึกษาการประเมินผลการเข้าทำลายแฝงตามธรรมชาติเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อ

ศึกษาการประเมินการเข้าทำลายแฝงในธรรมชาติของโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวโดยการเตรียมผลมะม่วงตามการทดลองที่ 1 แล้วนำมาทำการทดลองตามกรรมวิธีดังนี้

1 ทำบาดแผลด้วยกระดาษทรายละเอียดแล้วปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอย ชุบด้วยสารละลาย paraquat ที่ความเข้มข้น 2,000 ppm (Inoculation+paraquat 2000 ppm)
2 ทำบาดแผลด้วยกระดาษทรายละเอียดแล้วปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอย ชุบน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (Inoculation)
3 ชุบสารละลาย paraquat ที่ความเข้มข้น 2,000 ppm (Non- Inoculation + paraquat 2000 ppm)

4 ชุบน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (Non- Inoculation) (control)

เก็บผลมะม่วงในกล่องรักษาความชื้น (moist chamber) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลอง 4 ซ้ำ โดยใช้ผลมะม่วง 3 ผลต่อ 1 ซ้ำ

การบันทึกผลการทดลอง สังเกตการเปลี่ยนแปลงของผิวผลมะม่วง การเกิดอาการโรค ที่ 48 และ 72 ชม. หลังการทดลอง

การทดลองที่ 5.2 การใช้ความร้อนร่วมกับสารกลุ่มคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนตควบคุมโรคแอนแทรคโนสของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-58

1. แก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง

1.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี Tissue transplanting technique พิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation) แล้วใช้ในการทดลอง

1.2 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มคาร์บอเนตต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุ

โดยวิธีอาหารพิษ (Poisoned Food Technique) โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารกลุ่มคาร์บอเนต 5 ชนิด ได้แก่ โซเดียมคาร์บอเนต (SC) โซเดียมไบคาร์บอเนต (SBC) โปแตสเซียมคาร์บอเนต (PC) โปแตสเซียมไบคาร์บอเนต (PBC) และ แอมโมเนียมคาร์บอเนต (AC) ที่ระดับความเข้มข้น 1 % 2 % และ 3 % และชุดควบคุม (อาหาร PDA ไม่ผสมสาร)

บันทึกผล : วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเมื่ออายุครบ 7 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

1.3 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มคาร์บอเนตในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อราบนผลแก้วมังกร

โดยใช้ผลแก้วมังกร อายุเก็บเกี่ยวความแก่ 80 % ล้าง แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ล้างน้ำเปล่าอีกครั้ง ผึ่งให้แห้ง ปลูกเชื้อบนผล โดยใช้เข็มปลายแหลม หยดสปอร์แขวนลอยเชื้อราสาเหตุบนแผล บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชม. นำผลปลูกเชื้อจุ่มกลุ่มคาร์บอเนต 5 ชนิด ได้แก่ โซเดียมคาร์บอเนต (SC) โซเดียมไบคาร์บอเนต (SBC) โปแตสเซียมคาร์บอเนต (PC) โปแตสเซียมไบคาร์บอเนต (PBC) และ แอมโมเนียมคาร์บอเนต (AC) ที่ระดับความเข้มข้น 1 % 2 % และ 3 % น้ำประปา และชุดควบคุม (อาหาร PDA ไม่ผสมสาร)

บันทึกผล : วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเมื่ออายุครบ 7 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

1.4 ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา

- ทดสอบเพื่อคัดเลือกอุณหภูมิของน้ำร้อนและเวลาที่เหมาะสม วางแผนการทดลองแบบ 6x2 Factorial in CRD

ปัจจัยที่ 1 อุณหภูมิน้ำร้อน 6 ระดับ คือ 43, 45, 47, 50, 53 และ 55 ℃
ปัจจัยที่ 2 เวลาในการจุ่มผลแก้วมังกร 2 ระดับ คือ 3 นาที และ 5 นาที

คัดเลือกผลแก้วมังกรเตรียมและทำการปลูกเชื้อราตามกรรมวิธีในข้อ 1.3 จึงนำผลปลูกเชื้อจุ่มในน้ำร้อน บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผล คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

- ทดสอบเพื่อคัดเลือกกรรมวิธีที่ให้ผลดี วางแผนการทดลองแบบ 3x4 Factorial in CRD

ปัจจัยที่ 1 อุณหภูมิน้ำร้อน 3 ระดับ คือ 50,. 53 และ 55 ℃
ปัจจัยที่ 2 เวลาในการจุ่มผลแก้วมังกร 4 ระดับ คือ 3 นาที 5 นาที 7 นาที และ 10 นาที

คัดเลือกผลแก้วมังกรเตรียมและทำการปลูกเชื้อราตามกรรมวิธีในข้อ 1.3 จึงนำผลปลูกเชื้อจุ่มในน้ำร้อน บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผล คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

1.5 ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนและสารกลุ่มคาร์บอเนตในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา

คัดเลือกกรรมวิธีที่ให้ผลดีในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส วางแผนการทดลองแบบ Split plot design

Main plot คือ อุณหภูมิและเวลาของน้ำร้อนที่ใช้จุ่มผลแก้วมังกร 3 ระดับ คือ

M1 = น้ำร้อนอุณหภูมิ 50 ℃ นาน 10 นาที
M2 = น้ำร้อนอุณหภูมิ 53 ℃ นาน 7 นาที
M3 = น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 ℃ นาน 5 นาที

Sub plot คือ สาร 5 ชนิด จุ่มผล นาน 5 นาที

S1 = โซเดียมคาร์บอเนต 2 %
S2 = โพแทสเซียมคาร์บอเนต 1 %
S3 = แอมโมเนียมคาร์บอเนต 2 %
S4 = อิมาซาลิล 0.035 %
S5 = น้ำอุณหภูมิห้อง

คัดเลือกผลแก้วมังกรเตรียมและทำการปลูกเชื้อราตามกรรมวิธีในข้อ 1.3 จึงนำผลปลูกเชื้อจุ่มในน้ำร้อน บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผล คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

2. มะละกอพันธุ์ปักไม้ลาย

2.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี Tissue transplanting technique พิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation) แล้วใช้ในการทดลอง

2.2 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มคาร์บอเนตต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุ

ด้วยวิธีอาหารพิษ (Poisoned Food Technique) โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารกลุ่มคาร์บอเนต 5 ชนิด ได้แก่ โซเดียมคาร์บอเนต (SC) โซเดียมไบคาร์บอเนต (SBC) โปแตสเซียมคาร์บอเนต (PC) โปแตสเซียมไบคาร์บอเนต (PBC) และ แอมโมเนียมคาร์บอเนต (AC) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2 และ 3 % และชุดควบคุม (อาหาร PDA ไม่ผสมสาร) นำชิ้นวุ้นที่ได้จากการตัดเส้นใยรอบโคโลนีเชื้อราที่มีอายุ 7 วัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร วางบนผิวหน้าอาหารที่ผสมสาร และชุดควบคุม บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง

บันทึกผล : วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเมื่ออายุครบ 7 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

2.3 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มคาร์บอเนตในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อราบนผลมะละกอ 2 สายพันธุ์ คือ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici*

โดยคัดเลือกผลมะละกอที่สมบรูณ์ ล้าง แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ล้างน้ำเปล่าอีกครั้ง ผึ่งให้แห้ง ปลูกเชื้อบนผล โดยใช้เข็มปลายแหลม วางชิ้นวุ้นเส้นใยเชื้อราสาเหตุอายุ 7 วัน บนแผล บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชม. จากนั้นเอาชิ้นวุ้นออก นำผลปลูกเชื้อจุ่มในสารโซเดียมคาร์บอเนต 3 % แอมโมเนียมคาร์บอเนต 1, 2 และ 3 % เปรียบเทียบกับ อิมาซาลิล โปรคลอราช และน้ำกลั่น บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผล (เซนติเมตร) เมื่อครบ 5 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

2.4 ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อราบนผลมะละกอ 2 สายพันธุ์ คือ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici*

โดยใช้อุณหภูมิน้ำร้อน 4 ระดับ 47,. 50, 53 และ 55 ℃ และระยะเวลา ในการจุ่มผลมะละกอมี 3 ระดับ 5 นาที 7 นาที และ 10 นาที คัดเลือกผลมะละกอที่สมบรูณ์ ล้าง แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ล้างน้ำเปล่าอีกครั้ง ผึ่งให้แห้ง ปลูกเชื้อบนผล โดยใช้เข็มปลายแหลม วางชิ้นวุ้นเส้นใยเชื้อราสาเหตุอายุ 7 วัน บนแผล บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชม. จากนั้นเอาชิ้นวุ้นออก นำผลปลูกเชื้อจุ่มน้ำร้อนตามกรรมวิธีที่กล่าวข้างต้น บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผล (เซนติเมตร) เมื่อครบ 5 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

2.5 ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนและสารกลุ่มคาร์บอเนตในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อราบนผลมะละกอ 2 สายพันธุ์ คือ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici*

โดยคัดเลือกระดับอุณหภูมิของน้ำร้อนและเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 2.4 (น้ำร้อนอุณหภูมิ 53 ℃ นาน 10 นาที 55 ℃ นาน 5 นาที และ 55 ℃ นาน 7 นาที) และสารกลุ่มคาร์บอเนต (โซเดียมคาร์บอเนต 0.5 และ

1.0% แอมโมเนียมคาร์บอเนต 0.5 และ 1.0 %) มาทำการทดลอง คัดเลือกผลมะละกอที่สมบรูณ์ ล้าง แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ล้างน้ำเปล่าอีกครั้ง ผึ่งให้แห้ง ปลูกเชื้อบนผล โดยใช้เข็มปลายแหลม วางชิ้นวุ้นเส้นใยเชื้อราสาเหตุอายุ 7 วัน บนแผล บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชม. จากนั้นเอาชิ้นวุ้นออก นำผลปลูกเชื้อจุ่มสารและน้ำร้อนตามกรรมวิธี บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผล (เซนติเมตร) เมื่อครบ 5 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

2.6 ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 ℃ นาน 5, 7 และ 10 นาที และสารกลุ่มคาร์บอเนตในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อราบนผลมะละกอ 2 สายพันธุ์ คือ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* โดยคัดเลือกผลมะละกอที่สมบรูณ์ ล้าง แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ล้างน้ำเปล่าอีกครั้ง ผึ่งให้แห้ง ปลูกเชื้อบนผล โดยใช้เข็มปลายแหลม วางชิ้นวุ้นเส้นใยเชื้อราสาเหตุอายุ 7 วัน บนแผล บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชม. จากนั้นเอาชิ้นวุ้นออก นำผลปลูกเชื้อจุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 ℃ นาน 5, 7 และ 10 นาที และสารกลุ่มคาร์บอเนตตามกรรมวิธี บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผล (เซนติเมตร) เมื่อครบ 5 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

3. มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์สี่

3.1 แยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสจากผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว ด้วยวิธี Tissue transplanting technique พิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation) แล้วใช้ในการทดลอง

3.2 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มคาร์บอเนตต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

ด้วยวิธีอาหารพิษ (Poisoned Food Technique) โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารกลุ่มคาร์บอเนต 5 ชนิด ได้แก่ โซเดียมคาร์บอเนต (SC) โซเดียมไบคาร์บอเนต (SBC) โปแตสเซียมคาร์บอเนต (PC) โปแตสเซียมไบคาร์บอเนต (PBC) และ แอมโมเนียมคาร์บอเนต (AC) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2 และ 3 % และชุดควบคุม (อาหาร PDA ไม่ผสมสาร) นำชิ้นวุ้นที่ได้จากการตัดเส้นใยรอบโคโลนีเชื้อราที่มีอายุ 7 วัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร วางบนผิวหน้าอาหารที่ผสมสาร

บันทึกผล : วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเมื่ออายุครบ 7 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

3.3 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มคาร์บอเนตในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อราบนผลมะม่วง

คัดเลือกผลมะม่วงที่สมบรูณ์ล้าง แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ล้างน้ำเปล่าอีกครั้ง ผึ่งให้แห้ง ปลูกเชื้อบนผล โดยพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อราสาเหตุบนด้านเดียวของผล บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชม. นำผลปลูกเชื้อจุ่มในสารกลุ่มคาร์บอเนต 5 ชนิด ได้แก่ โซเดียมคาร์บอเนต (SC) โซเดียมไบคาร์บอเนต (SBC) โปแตสเซียมคาร์บอเนต (PC) โปแตสเซียมไบคาร์บอเนต (PBC) และ แอมโมเนียมคาร์บอเนต (AC) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ นาน 5 นาที บันทึกผลโดยวัดเปอร์เซ็นต์พื้นที่เป็นโรคบนผลมะม่วง เมื่อครบ 7 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

3.4 ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อราบนผลมะม่วง

คัดเลือกผลมะม่วงที่สมบรูณ์ล้าง แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ล้างน้ำเปล่าอีกครั้ง ผึ่งให้แห้ง ปลูกเชื้อบนผล โดยพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อราสาเหตุบนด้านเดียวของผล บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชม. นำผลปลูกเชื้อจุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C นาน 1, 3 และ 5 นาที บันทึกผลโดยวัดเปอร์เซ็นต์พื้นที่เป็นโรคบนผลมะม่วง เมื่อครบ 7 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

3.5 ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนและสารกลุ่มคาร์บอเนตในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อราบนผลมะม่วง

คัดเลือกระดับอุณหภูมิของน้ำร้อน 55 °C และสารที่เหมาะสมจากข้อ 3.3 และข้อ 3.4 มาทดสอบโดยคัดเลือกผลมะม่วงที่สมบรูณ์ล้าง แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ล้างน้ำเปล่าอีกครั้ง ผึ่งให้แห้ง ปลูกเชื้อบนผลโดยพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อราสาเหตุบนด้านเดียวของผล บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชม. นำผลปลูกเชื้อจุ่มในน้ำร้อนและสารตามกรรมวิธี บันทึกผลโดยวัดเปอร์เซ็นต์พื้นที่เป็นโรคบนผลมะม่วง เมื่อครบ 7 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

การทดลองที่ 5.3 การใช้สาร GRAS ร่วมกับน้ำร้อนในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกหวานหลังการเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 55-56

1. ศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคและลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสของพริกหวานหลังการเก็บเกี่ยว

แยกเชื้อราสาเหตุด้วยวิธี Tissue Transplanting Technique พิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's Postulation)

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัย (GRAS) และน้ำร้อน ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัยต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราด้วยวิธี Poisoned food technique ด้วยอาหาร PDA ผสมกรดออกซาลิก โปแตสเซียม ซอร์เบท โพรพิลพาราเบน กรดซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้นต่างๆ บันทึกผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา นำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ

และทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัยต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา ด้วยวิธี Poisoned food technique ด้วยอาหาร PDA ผสมกรดออกซาลิก โปแตสเซียม ซอร์เบท โพรพิลพาราเบน กรดซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้นต่างๆ บันทึกผลการงอกของสปอร์เชื้อรา โดยตรวจนับเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา นำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์

และทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา โดยเตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อราสาเหตุขวดละ 1 มิลลิลิตรจุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 50, 53, 55 และ 57 °C เป็นเวลา 2, 4 และ 7 นาที นำสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ของเชื้อราสาเหตุมาหยดลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 9 ชม. บันทึกลักษณะการงอกของสปอร์เชื้อรา ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา นำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์

3. ทดสอบประสิทธิภาพของการใช้สารกลุ่มปลอดภัย (GRAS) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกหวาน

ทำการปลูกเชื้อบนผลพริกหวานที่สมบูรณ์ด้วยสปอร์แขวงลอยของเชื้อราสาเหตุโรค เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชม. หลังจากนั้นจุ่มพริกหวานในกรดออกซาลิก โปแตสเซียม ซอร์เบท โพรพิลพารา

เบน กรดซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน บันทึกการเกิดโรค (%) โดยนับจำนวนแผลที่เป็นโรคบนผล และวัดขนาดของแผลที่แสดงอาการของโรคนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

4. ทดสอบประสิทธิภาพของการใช้สารในกลุ่มปลอดภัยร่วมกับน้ำร้อน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกหวานปลูกเชื้อ

ทำการปลูกเชื้อบนผลพริกหวานที่สมบูรณ์ด้วยสปอร์แขวงลอยของเชื้อราสาเหตุโรค เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชม. หลังจากนั้นจุ่มพริกหวานในกรดออกซาลิก โปแตสเซียม ซอร์เบท โพรพิลพาราเบน กรดซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้นต่างๆ และน้ำร้อนอุณหภูมิ 53 °C เป็นเวลา 4 และ 7 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน บันทึกการเกิดโรค (%) โดยนับจำนวนแผลที่เป็นโรคบนผล และวัดขนาดของแผลที่แสดงอาการของโรคนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความรุนแรงของโรค

5. ศึกษาผลของการใช้สารกลุ่มปลอดภัย (GRAS) ร่วมกับน้ำร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลพริกหวานหลังการเก็บเกี่ยว

ผลพริกหวานที่สมบูรณ์ นำมาจุ่ม โปแตสเซียม ซอร์เบท 500 mg/l. ที่อุณหภูมิ 53 ºC เป็นเวลา 7 นาที กรดออกซาลิก 250 mg/l. ที่อุณหภูมิ 53 ºC เป็นเวลา 4 นาที และโพรพิลพาราเบน 500 mg/l. ที่อุณหภูมิ 53 ºC เป็นเวลา 4 นาที เป่าด้วยพัดลมเพื่อลดอุณหภูมิ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน บันทึกการสูญเสียน้ำหนัก วัดปริมาณของแข็งละลายในน้ำได้ และการเปลี่ยนแปลงสีเปลือก

การทดลองที่ 5.4 การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของไม้ดอกวงศ์ขิง

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคตามแหล่งปลูกไม้ดอกวงศ์ขิงที่สำคัญ และในแหล่งปลูกที่เคยมีรายงานการเกิดโรคระบาด บันทึกข้อมูลต่างๆ ที่สำคัญในพื้นที่ปลูก ข้อมูลเกษตรกร ข้อมูลพืช สภาพแวดล้อมอื่นๆ

2. ศึกษาลักษณะอาการโรคที่เกิดขึ้น จดบันทึกลักษณะอาการโรคที่เกิดกับหัวพันธุ์ ดอก ใบ

3. นำตัวอย่างที่ได้แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplanting technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ส่วนการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคทำลักษณะเดียวกันแต่ใช้อาหาร NA หรือ NGA หรือเลือกใช้ Selective media แล้วนำไปทำการพิสูจน์โรค และศึกษารายละเอียดของเชื้อราเพื่อทำการจำแนกเชื้อต่อไป

4. หาวิธีการที่เหมาะสมในการป้องกันการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว โดยทำศึกษาวิธีการควบคุมโรคใช้สารสกัดจากพืชและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บางชนิด ทดสอบประสิทธิภาพกับเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

โดยใช้สารสกัดขมิ้นชัน สารสกัดน้ำมันหอมระเหยขมิ้นชัน สารสกัดน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม สารสกัดน้ำมันหอมระเหยกานพลู ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุ

6 บันทึกข้อมูล รวบรวมผลและวิเคราะห์ สรุปผลเขียนรายงาน

การทดลองที่ 5.5 การศึกษาความสูญเสียของผลิตผลผักสดหลังการเก็บเกี่ยวจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-54

1. ติดต่อโรงงานคัดบรรจุที่มีการผลิตสะระแหน่เพื่อส่งออก

2. ทำการสัมภาษณ์เกษตรกรเครือข่ายโรงคัดบรรจุและผู้ปฏิบัติงานในโรงคัดบรรจุ สำรวจ และเก็บรวบรวมข้อมูลการปฏิบัติงาน

3. จัดทำแผนผังกระบวนการผลิตสะระแหน่เพื่อส่งออก เริ่มจากขั้นตอนการเก็บเกี่ยว การปฏิบัติหลังเก็บเกี่ยว การเก็บรักษาและการขนส่ง

4. การสุ่มตัวอย่างผัก และการตรวจเชื้อ *Escherichia coli* และ Salmonella ตามแผนผังกระบวนการผลิตผักเพื่อส่งออก ในแต่ละขั้นตอนตามแผนผังกระบวนการผลิตและนำมาส่งตรวจวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ตามวิธีของ AOAC 2000 991.14 (Pertifilm) และ Salmonella ตามวิธีของ AFNOR 2002 Bio 12/10-09/02 ณ บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด

5.การประเมินความรุนแรงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในแต่ละขั้นตอน และกำหนดความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ของแผนผังกระบวนการผลิตสะระแหน่เพื่อส่งออก

6. การทดสอบการปฏิบัติเบื้องต้นที่มีผลต่อการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในขั้นตอนที่มีความเสี่ยงระดับแปลง โรงคัดบรรจุ และการเก็บรักษาผลผลิต โดยมีการสุ่มตัวอย่างผัก น้ำล้าง/น้ำยาล้างผักและตัวอย่างการปนเปื้อนเชื้อจากผู้ปฏิบัติงานในขั้นตอนดังนี้

- ขั้นตอนที่มีความเสี่ยงระดับแปลง มีกรรมวิธีทดสอบดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ล้างผัก
กรรมวิธีที่ 2 ล้างผักด้วยน้ำบาดาล

- ขั้นตอนที่มีความเสี่ยงระดับโรงคัดบรรจุ มีกรรมวิธีทดสอบดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ล้างด้วยน้ำยาฆ่าจุลินทรีย์ที่ใช้ล้างรอบแรก
กรรมวิธีที่ 2 ล้างด้วยน้ำยาฆ่าจุลินทรีย์ที่ใช้ล้างรอบที่ 5

- ขั้นตอนที่มีความเสี่ยงระดับการเก็บรักษาผลผลิต มีกรรมวิธีทดสอบดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผักสะระแหน่ เก็บรักษาที่ 7.5 °C
กรรมวิธีที่ 2 ผักสะระแหน่ เก็บรักษาที่ 12.5 °C

การทดลองที่ 5.6 การลดความเสียหายในลองกองหลังการเก็บเกี่ยวระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่ง

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-54

ลองกองที่สมบูรณ์ เก็บเกี่ยวในระยะที่สีผลในช่อเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมากกว่า 80 % อายุหลังดอกบาน 13 สัปดาห์ นำมาทำการทดลองผลของไคโตซานระดับความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1.0 % และ 1-MCP ความเข้มข้น 500 ppb ในการควบคุมเชื้อราบนผิวลองกองหลังการเก็บเกี่ยว ใส่ในบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ เก็บรักษาในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 15 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 80-85 % ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา คือ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 วัน บันทึกผลการทดลอง การสูญเสียน้ำหนักสด การหลุดร่วงของผลลองกอง ปริมาณกรดในเนื้อผลลองกอง (TA) ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (TSS) การเกิดโรค การเน่าเสีย สีเปลือกด้านนอก คุณภาพประสาทสัมผัสของเนื้อลองกอง และการเกิดสีน้ำตาล

การทดลองที่ 5.7 การควบคุมการเน่าเสียของพืชหัววงศ์ขิงระหว่างการเก็บรักษาด้วยชีววิธีและการฉายรังสี

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1 ศึกษาเชื้อราสาเหตุโรค

การแยกและตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคเน่าของแง่งขิงระหว่างการเก็บรักษา โดยวิธี Tissue transplanting techniqueบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) พิสูจน์ว่าเป็นเชื้อสาเหตุของโรคตามสมมติฐานของ Koch และศึกษาการอยู่รอดและเพิ่มปริมาณประชากรเชื้อราสาเหตุโรคบนขิง โดยการเก็บเนื้อเยื่อขิงตาม นำมาตรวจสอบด้วยวิธี Spread plate technique

2 ศึกษาการควบคุมการเน่าเสียของขิงระหว่างการเก็บรักษาด้วยวิธีต่างๆ

2.1 การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมการเน่าเสียของขิงระหว่างการเก็บรักษา

การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ นำมาทดสอบปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธี Spot inoculation โดยเลือกเชื้อที่แสดงการเป็นปฏิปักษ์แบบ Antibiosis นำมาทดสอบชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อและอายุอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YES (Yeast extract sucrose) และ PDB (Potato dextrose broth) ที่เวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์หลังการเลี้ยง อาหารที่เก็บได้นำมาสกัดด้วย ethyl acetate นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อสาเหตุด้วยวิธี filter paper disc method แล้วทดสอบประสิทธิภาพ

ของเชื้อปฏิปักษ์ ในการควบคุมโรคเน่าบนแง่งขิง โดยนำสารสกัดจาก culture filtrate จากเชื้อปฏิปักษ์มาทดสอบการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคบนแง่งขิงโดยการปลูกเชื้อสาเหตุลงบนแง่งขิง เก็บในสภาพอุณหภูมิต่ำ (13 °C) สังเกตการณ์เกิดโรคเป็นเวลา 2 เดือน

2.2 การควบคุมการเน่าเสียของขิงระหว่างการเก็บรักษาด้วยการฉายรังสี UV ร่วมกับการบ่มสมานบาดแผล

โดยศึกษาระยะเวลาการฉายรังสี UV ที่เหมาะสม ในขิงแก่ผ่านขั้นตอนกานำมาล้าง ผึ่ง และทำบาดแผล บ่มภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ 95 % RH ในกล่องพลาสติก เป็นเวลา 48 ชม. เปรียบเทียบกับการบ่มภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ 95 % RH ร่วมกับฉายรังสี UV-C ที่ระยะเวลา 6, 12 และ 24 ชม. จากนั้นปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยการพ่นด้วย spore suspension นำมาบรรจุกล่องกระดาษ เก็บในสภาพอุณหภูมิต่ำ (13 °C) และตรวจสอบการเน่าเสียทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 2 เดือน

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การทดลองที่ 5.1 วิธีการประเมินการเข้าทำลายของโรคแอนแทรคโนสในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวโดยการตรวจสอบการเข้าทำลายแฝง (Quiescent infection)

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 55-56

การกระตุ้น quiescent infection บนผลมะม่วงโดยชุบด้วยสารละลาย paraquat ที่ความเข้มข้น 2,000 ppm ที่ 72 ชม. มีพัฒนาการด้านการสุกแก่อย่างเห็นได้ชัดเจน และเริ่มแสดงอาการจุดแผลโรคแอนแทรคโนสที่ผิวผล การปลูกเชื้อโดยการทำบาดแผลด้วยกระดาษทรายละเอียด (เบอร์ 180) ขนาด 1 x 1 นิ้ว สามารถจำลองสภาพการเกิดโรคแอนแทรคโนสตามธรรมชาติได้ การประเมินการเข้าทำลายแฝงในธรรมชาติของโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้ พบว่าการประเมินการเข้าทำลายแฝงของโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว ควรแบ่งตัวอย่างผลมะม่วงมาทำการปลูกเชื้อด้วยการทำบาดแผลด้วยกระดาษทรายควบคู่ไปกับการกระตุ้นอาการโรคจากการเข้าทำลายโดยธรรมชาติเสมอ

การทดลองที่ 5.2 การใช้ความร้อนร่วมกับสารกลุ่มคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนตควบคุมโรคแอนแทรคโนสของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-58

แก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง

1. พบเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนผลแก้วมังกร และการทดสอบด้วยวิธีอาหารพิษ พบว่า โซเดียมคาร์บอเนต 2 และ3 % แอมโมเนียมคาร์บอเนต 2 และ 3 % มีผลยั้งยับการเจริญของเส้นใยเชื้อรา 100 %

2. การจุ่มผลแก้วมังกรปลูกเชื้อในแอมโมเนียมคาร์บอเนต 2 % มีผลยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ 38.55 % และมีขนาดแผลบนผล 1.60 ซม. และการจุ่มผลในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 ℃ นาน 5 และ 3 นาที สามารถควบ คุมโรคได้ดี มีขนาดแผลบนผล 0.17 และ 0.51 ซม. ตามลำดับ

3. การใช้น้ำร้อนร่วมกับสารกลุ่มคาร์บอเนตในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส พบว่า น้ำร้อนเป็นปัจจัยที่มีผลในการควบคุมโรค ดังนั้น การจุ่มผลในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 ℃ นาน 5 นาที จึงเป็นวิธีการที่เพียงพอต่อการควบคุมโรค

มะละกอพันธุ์ปักไม้ลาย

1. พบเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนผลมะละกอ และด้วยวิธีอาหารพิษ พบว่า แอมโมเนียมคาร์บอเนต 1, 2 และ3 % มีผลยั้งยับการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ 100 %

2. การจุ่มผลมะละกอปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในสารกลุ่มคาร์บอเนตมีผลควบคุมโรคได้ต่ำ และบนผลปลูกเชื้อรา *C. capsici* การจุ่มผลในแอมโมเนียมคาร์บอเนต 3 % มีผลยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ 54.23 % ขณะที่การจุ่มผลมะละกอในโปรคลอราช 0.05 % นาน 5 นาที สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคบนผลปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ดีที่สุด

3. การจุ่มผลในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 ℃ นาน 5 นาที มีผลในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะละกอปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ 100 % และบนผลมะละกอปลูกเชื้อรา *C. capsici* มีผลยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ 80.01 %

มะม่วงน้ำดอกไม้เบอร์สี่

1. พบเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง และการทดสอบด้วยวิธีอาหารพิษ พบว่า แอมโมเนียมคาร์บอเนต 1, 2 และ 3 % มีผลยั้งยับการเจริญของเส้นใยเชื้อรา 100 %

2. การจุ่มผลมะม่วงปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในโพแทสเซียมคาร์บอเนต 2 % ยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ 78.59 % และโปรคลอราช 0.035 % มีผลยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ดี 97.47 %

3. การจุ่มผลมะม่วงปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 ℃ นาน 5 นาที ยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ 97.94 % มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใช้น้ำร้อนร่วมกับโซเดียมไบคาร์บอเนต 1 %

ข้อเสนอแนะ

วิธีควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว

1. คัดเลือกผลในระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม ดังนี้

แก้วมังกร เก็บเกี่ยวความแก่ 80 %
มะละกอ เก็บเกี่ยวระยะผลเขียวเริ่มเป็นสีเหลือง 1 แต้ม
มะม่วง เก็บเกี่ยวระยะแก่ผลเขียว

2. ทำความสะอาดผล และจุ่มผลในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C นาน 5 นาที หลังจากนั้นนำผลจุ่มในน้ำเย็นทันที (น้ำประปา) นาน 5 นาที เพื่อลดอุณหภูมิสะสมภายในผล ป้องกันผลเสียหายจากความร้อน

การทดลองที่ 5.3 การใช้สาร GRAS ร่วมกับน้ำร้อนในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกหวานหลังการเก็บเกี่ยว

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 55-56

โรคแอนแทรคโนสของพริกหวาน มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* อาการเริ่มแรกเป็นจุดแผลฉ่ำน้ำ ต่อแผลจะขยาย ลักษณะเป็นวงกลมซ้อนกันเป็นชั้นๆ และมีกลุ่มของสปอร์เป็นเมือกเยิ้มสีส้มบริเวณแผล พริกหวานสีเหลืองจะมีความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรคโนสมากที่สุด รองลงมาเป็นพริกหวานสีแดง และพริกหวานสีเขียว ตามลำดับ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้เลือกพริกหวานสีเหลืองมาใช้ในการทดลอง

การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของผลพริกหวานโดยสารปลอดภัย โพรพิลพาราเบน ความเข้มข้น 1,000 และ 500 mg/l. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ 100 % รองลงมาคือ โพรพิลพาราเบน ความเข้มข้น 250 mg/l. กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 1,000 mg/l. โพรพิลพาราเบน ความเข้มข้น 100 mg/l. และโปแตสเซียม ซอร์เบท ความเข้มข้น 1,000 mg/l. สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ 92.13, 58.06, 46.02 และ 37.09 % ตามลำดับ

การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่า โพรพิลพาราเบน ความเข้มข้น 100, 250, 500 และ 1,000 mg/l. โปแตสเซียม ซอร์เบท ความเข้มข้น 500 และ 1,000 mg/l. และ กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 500, 1,000 mg/l. สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ 100 % และเมื่อนำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* มาจุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 53 °C เป็นเวลา 4 นาที อุณหภูมิ 55 และ 57 °C เป็นเวลา 2 และ 4 นาที สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100 %

กรดออกซาลิก 250 mg/l. มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีการเกิดโรคน้อยที่สุด 67.50 % และ สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุด 62.45 % รองลงมาคือ โพรพิลพาราเบน 1,000 mg/l. กรดออกซาลิก 100 mg/l. โพรพิลพาราเบน 500 mg/l. และ โปแตสเซียม ซอร์เบท 500 mg/l. มีการยับยั้งความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส 54.06, 47.24, 42.58 และ 42.15 % ตามลำดับ และเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรครโนสบนผลพริก

หวานโดยการใช้สารปลอดภัยร่วมกับน้ำร้อน ทำให้สามารถลดการเกิดโรคและยับยั้งความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้น โดยผลพริกหวานที่จุ่มในโปแตสเซียม ซอร์เบท 500 mg/l. ที่อุณหภูมิ 53 °C เป็นเวลา 7 นาที มีการเกิดโรคน้อยที่สุด 35.00 % และสามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกหวานได้ 91.45 % รองลงมาคือ โพรพิลพาราเบน 500 mg/l. ที่อุณหภูมิ 53 °C เป็นเวลา 4 นาที มีการเกิดโรค 45.00 % และมีการยับยั้งความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกหวาน 88.83 %

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลพริกหวานที่จุ่มในโปแตสเซียม ซอร์เบท 500 mg/l. ที่อุณหภูมิ 53 °C เป็นเวลา 7 นาที หลังจากเก็บรักษา 7 วัน มีการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ และการเปลี่ยนแปลงสีของผลพริกหวานไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับผลพริกหวานที่จุ่มในน้ำ เป็นเวลา 4 นาที

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ทราบชนิดเชื้อราสาเหตุที่สำคัญของโรคแอนแทรคโนสของพริกหวาน และลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกหวาน

2. ผลของการทดสอบประสิทธิภาพสารปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ทำให้ทราบข้อมูลประสิทธิภาพของโพรพิลพาราเบน สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุด รองลงมาคือ กรดซาลิไซลิก โปแตสเซียม ซอร์เบท และกรดออกซาลิก ตามลำดับ ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราและการงอกของสปอร์เชื้อราขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ นำไปประยุกต์ใช้กับโรคแอนแทรคโนสของผลไม้ชนิดอื่นโดยไม่ต้องทำการทดลองในห้องปฏิบัติการอีก

3. น้ำร้อนอุณหภูมิ 53 °C เป็นเวลา 4 นาที และอุณหภูมิที่สูงกว่า 53 °C มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ 100 % สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับโรคแอนแทรคโนสของผลไม้ชนิดอื่นโดยไม่ต้องทำการทดลองในห้องปฏิบัติการอีก

4. ผลของสารกลุ่มปลอดภัยมาใช้ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกหวาน พบว่า การใช้กรดออกซาลิก 250 mg/l. จุ่มสาร 5 นาที ให้ผลดีในการควบคุมโรค และใช้สารในการควบคุมโรคในปริมาณที่น้อย ประหยัดต้นทุนการผลิต ผลจากการทดลองสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลไม้ชนิดอื่นได้

5.การใช้สารปลอดภัยร่วมกับน้ำร้อนทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส สารโปแตสเซียม ซอร์เบท 500 mg/l. ที่อุณหภูมิ 53 °C เป็นเวลา 4 นาที มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกหวานได้ดี แต่อย่างไรก็ตามควรมีการจัดการในแปลงปลูกที่ดี ปลอดสารเคมีที่เป็นพิษ เพิ่มศักยภาพในการส่งออกพริกหวานของประเทศไทยมากขึ้น

6. การใช้สารปลอดภัย ช่วยลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค

การทดลองที่ 5.4 การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของไม้ดอกวงศ์ขิง

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

1. จากการสำรวจโรคหลังการเก็บเกี่ยวของไม้ดอกวงศ์ขิงตามแหล่งปลูก แล้วเก็บตัวอย่างโรค มาทำการแยกเชื้อสาเหตุ จำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อ *Fusarium* sp. ที่บริเวณรากสะสมอาหารของหัวพันธุ์ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิงค์ โรคจุดสนิม ที่เกิดจากเชื้อรา *Sphaceloma* sp. บริเวณลำต้น ใบ กลีบดอก ของปทุมมาพันธุ์ แอนนา เชียงใหม่พิงค์ ไข่มุก และนอกจากนี้ยังพบเชื้อราอีก 2 ชนิด คือ *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp.

2. นำสารสกัดจากพืชโดยใช้สารสกัดน้ำมันหอมระเหยขมิ้นชัน สารสกัดน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม สารสกัดน้ำมันหอมระเหยกะเพรา สารสกัดน้ำมันหอมระเหยกานพลู มาทดสอบประสิทธิภาพร่วมกับสารเคมี carboxyl, terrazole และ ไคโตซาน โดยใช้วิธีจุ่มหัวพันธุ์ที่ระยะเวลาและอัตราต่างๆ กัน แล้วนำหัวพันธุ์ไปปลูกในโรงเรือน ผลการตรวจสอบโรคหลังการเก็บเกี่ยวในหัวพันธุ์ที่ปฏิบัติตามกรรมวิธีต่างๆ พบว่าในกรรมวิธีที่จุ่มหัวพันธุ์ด้วยสารสกัดน้ำมันหอมระเหยขมิ้นชัน สารสกัดน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม สารสกัดน้ำมันหอมระเหยกะเพรา สารสกัดน้ำมันหอมระเหยกานพลู นั้นได้ผลดีไม่พบโรคที่ติดมากับหัวพันธุ์

การทดลองที่ 5.5 การศึกษาความสูญเสียของผลิตผลผักสดหลังการเก็บเกี่ยวจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-54

ผลจากการศึกษาความสูญเสียของผลิตผลผักสดหลังการเก็บเกี่ยวจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ โดยวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในการผลิตสะระแหน่เพื่อส่งออกในระดับแปลงปลูก ระดับโรงคัดบรรจุ และระดับการเก็บรักษาผลผลิต

1. การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในสะระแหน่ส่งออกเกิดขึ้นได้ทุกขั้นตอนการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวในทุกระดับ

2. ความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจุลินทรีย์ระดับแปลงปลูก คือ การล้างทำความสะอาดด้วยน้ำและบรรจุเข่งพลาสติกคลุมด้วยผ้าชื้น ซึ่งเป็นจุดวิกฤตจุดแรกที่ต้องหาวิธีการควบคุม ดังนั้น การศึกษาวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผักสดหลังการเก็บเกี่ยวระดับแปลงปลูก รวมทั้งอุณหภูมิในการเก็บรักษาระหว่างการขนส่งไปยังโรงคัดบรรจุ จึงมีความจำเป็นอย่างมากต่อคุณภาพผักส่งออก

3. ความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในสะระแหน่ระดับโรงคัดบรรจุ คือ การล้างผักด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในระบบน้ำล้นน้ำวนของโรงคัดบรรจุซึ่งเป็นการล้างด้วยการใช้น้ำยาแบบเวียนซ้ำ จึงควรศึกษารูปแบบหรือระบบการล้างผัก ที่รักษาประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

4. ความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจุลินทรีย์ระดับการเก็บรักษาผลผลิต คือ ขั้นตอนการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิต่ำในการขนส่งผลผลิตของโรงคัดบรรจุ เพื่อรอขนส่งทางอากาศและการกระจายสินค้าสู่ผู้บริโภค ควรทำการศึกษาสภาพแวดล้อมในการเก็บรักษาเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ระหว่างการขนส่งและกระจายสินค้าสู่ตลาดปลายทาง ได้แก่ อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเก็บรักษา เป็นต้น

5. ควรศึกษาการบริหารจัดการเทคโนโลยีลดความเสียหายจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักสดหลังการเก็บเกี่ยวเชิงระบบต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เป็นข้อมูลในการศึกษากรรมวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่เหมาะสมระดับแปลงปลูก ระดับโรงคัดบรรจุ และระดับการเก็บรักษาผลผลิต เพื่อใช้พัฒนาแนวทางการบริหารจัดการเทคโนโลยีลดความเสียหายจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักสดหลังการเก็บเกี่ยวเชิงระบบต่อไป

การทดลองที่ 5.6 การลดความเสียหายในลองกองหลังการเก็บเกี่ยวระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่ง

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-54

1. การผสมผสานวิธีระหว่างไคโตซาน 1-mcp ร่วมกับบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ สามารถลดความเสียหายหลังการเก็บเกี่ยวในระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่งที่อุณหภูมิ 15 °C

2. การใช้ไคโตซานความเข้มข้น 0.25 % ร่วมกับ 1-mcp ความเข้มข้น 500 ppb ร่วมกับบรรจุภัณฑ์แอคทีฟฟิล์ม (active film) ความหนา 40 ไมครอน สามารถชะลอการหลุดร่วง การเกิดสีน้ำตาลบนเปลือก การเกิดเชื้อรา และการเน่าเสีย รวมทั้งได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคด้านรสชาติ ได้นาน 12 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้โคโตซานหรือ 1-mcp เพียงอย่างเดียว ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ active film

การทดลองที่ 5.7 การควบคุมการเน่าเสียของพืชหัววงศ์ขิงระหว่างการเก็บรักษาด้วยชีววิธีและการฉายรังสี

ระยะเวลาเริ่มต้น – สิ้นสุด ปี 54-55

เชื้อราสาเหตุโรคเน่าของแง่งขิงระหว่างการเก็บรักษา พบว่าเป็นเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และเข้าทำลายแต่เฉพาะส่วนที่เป็นบาดแผล ไม่สามารถทำลายส่วนผิวของแง่งขิงที่เป็นปกติได้ จึงถือว่าเป็น secondary invader หรือ wound invader

พบเชื้อรา 3 ไอโซเลต ที่แสดงปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์ ได้เลือกเอาเชื้อปฏิปักษ์ที่มีปฏิกิริยาแบบ Antibiosis มาใช้ในการทดลอง โดยเมื่อเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ สามารถสร้างสาร secondary metabolites ได้ดีที่สุด แต่ปริมาณผลผลิต secondary metabolites ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้ต่ำมากจึงไม่มีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้งาน

ผลของการฉายแสง UV-C ร่วมกับการบ่มสมานบาดแผลภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ 95 % RH ที่ระยะเวลา 12 และ 24 ชม. สามารถเร่งการเกิดกระบวนการสมานบาดแผล และยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคได้ โดยอาจเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นความต้านทานโรคของขิง

ผลการฉายแสง UV-C ร่วมกับการบ่มสมานบาดแผลที่ระยะเวลา 12 และ 24 ชม. สามารถนำมาปรับใช้ในกระบวนการผลิตขิงเพื่อการส่งออก โดยเฉพาะประเทศปลายทางที่มีความเข้มงวดในการใช้สารกำจัดเชื้อราในการควบคุมการเน่าเสียหรือเป็นตลาดพิเศษที่ต้องการผลผลิตขิงอินทรีย์

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการใช้น้ำร้อนร่วมกับสาร GRAS พบว่า การใช้ ammonium carbonate ที่ 2-3 % และ potassium carbonate ที่ 2 % ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C นาน 5 นาที สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* บนผลแก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง มะละกอพันธุ์ปักไม้ลาย และมะม่วงน้ำดอกไม้เบอร์ 4 ได้

การศึกษาในผลพริกหวานพบว่า การใช้น้ำร้อนร่วมกับ potassium sorbate ที่ 500 mg/l. ยับยั้งความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ผลพริกหวานได้ 91.45 % โดยไม่มีผลต่อคุณภาพของผลพริกหวาน

การศึกษาการเก็บรักษาลองกองพบว่าการใช้ 1-MCP ที่ความเข้มข้น 500 ppm และ chitosan ที่ 0.25 % ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ หนา 40 ไมครอน สามารถชะลอการหลุดร่วง ลดการเกิดสีน้ำตาล และลดการเกิดโรคได้นาน 12 วัน

การศึกษาการประเมินการเข้าทำลายโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ พบว่าการจุ่มผลมะม่วงในสารละลาย paraquat ที่ 2,000 ppm นาน 1 นาที สามารถกระตุ้นการแสดงอาการโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ โดยแสดงอาการภายใน 72 ชม. หรือ 3 วัน สามารถใช้ในการประเมินการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค

การศึกษาความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ในขั้นตอนการผลิตผักสะระแหน่ พบว่าขั้นตอนการล้างหลังจากเก็บเกี่ยวที่แปลงปลูกเป็นจุดที่มีความเสี่ยงสูงที่สุด รองลงมาคือขั้นตอนการล้างในโรงคัดบรรจุ และการควบคุมอุณหภูมิในขณะขนส่ง จุดเสี่ยงในขั้นตอนเหล่านี้จำเป็นมีการการจัดการเพื่อควบคุมการปนเปื้อน

พบเชื้อราที่แสดงปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์แบบ Antibiosis แต่ปริมาณผลผลิต secondary metabolites ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้ต่ำมากจึงไม่มีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้งาน และการให้รังสี UV แก่แง่งขิงร่วมกับการบ่มสมานบาดแผลในสภาพความชื้อสัมพัทธ์สูง (95 % RH.) สามารถเร่งการสมานบาดแผลได้ในเวลา 12-24 ชม. จากเดิมที่ใช้เวลา 48 ชม.ซึ่งช่วยลดระยะเวลาการสมานบาดแผลลงและเพิ่มความต้านทานโรคแก่แง่งขิง

การสำรวจโรคในหัวพันธุ์ปทุมมา พบเชื้อสาเหตุโรคคือ *Fusarium* sp. *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. เมื่อศึกษาการควบคุมโรคพบว่า การจุ่มหัวพันธุ์ด้วยจุ่มหัวพันธุ์ด้วยสารสกัดน้ำมันหอมระเหยขมิ้นชัน สารสกัดน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม สารสกัดน้ำมันหอมระเหยกะเพรา และสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกานพลู สามารถควบคุมโรคในหัวพันธุ์ปทุมมา จากเชื้อสาเหตุโรคคือ *Fusarium* sp. ได้

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

กิจกรรมที่ 1 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยจุลินทรีย์ ได้ศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อรา

การควบคุมโรคพืชและสารพิษจากเชื้อราด้วยเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าโรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวมีสาเหตุจากเชื้อราหลายชนิด คือ *Lasiodiplodia theobromae, Gliocephalotrichum* spp., *Greeneria* sp., *Colletotrichum gloeosporioides, Pestalotiopsis* sp., *Phomopsis* sp. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกมา 3 สายพันธุ์ คือ DL9, PN10 และ DL7 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ ไม่เป็นพิษต่อพืชปลูก (เมล็ดข้าวและเมล็ดถั่วเขียว) และไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ไตลิง เมื่อจำแนกพบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtillis* หรือ *B. amyloliquefaciens* เมื่อใช้ผลิตเป็นชีวภัณฑ์โดยผสมกับแป้งข้าวเจ้า น้ำมันถั่วเหลืองและซูโครส พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวได้ดี

การใช้แบคทีเรียดินควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร พบว่าแบคทีเรียดินที่คัดแยกได้ จำแนกได้เป็น *Bacillus tequilensis* และ *Bacillus subtilis sub sp. Inaquosorum* สามารถยับยั้งทั้งการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษแอฟลาทอกซิน สามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนถั่วลิสงตามธรรมชาติ ได้มากกว่า 85.98 % ที่ 28 วัน หลังการเก็บรักษา โดยไม่มีความเป็นพิษต่อการงอกของเมล็ดข้าวเปลือกและถั่วเขียว

ประสบความสำเร็จในการแยกเชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษจำนวน 1 สายพันธุ์คือ *A. flavus* (561) ซึ่งไม่มียีนสร้างสารพิษ Aflatoxin gene (*pks*A *afl*R และ *nor*A) เป็นเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่พบในประเทศไทย มีประสิทธิภาพในการควบคุมการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร และมีประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อราที่สร้างสารพิษ สามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินในข้าวโพดได้ถึง 97.43 %

การศึกษาสารสกัดออกฤทธิ์จากเชื้อรา *Macrocybe crassa* พบว่าสามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักกาดขาวได้

กิจกรรมที่ 2 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยสารสกัดจากพืช ได้ศึกษาสารสกัดจากพืช

การศึกษาการควบคุมโรคพืชและสารพิษจากเชื้อราด้วยสารสกัดจากพืช พบว่า ข่า สารสกัดไพลและขมิ้นชันสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides C. capsici* และ *C. musae* ได้ ขณะที่การทดสอบบนผลพบว่าขมิ้นชันและไพลที่ความเข้มข้น 50,000 ppm มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคบนผลมะม่วงและมะละกอ สารสกัดจากขมิ้นชันความเข้มข้น 50,000 ppm ไพลความเข้มข้น 30,000 และ 20,000 ppm มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคบนผลกล้วยหอม การเตรียมตัวอย่างพืชด้วยวิธีการ freeze dry มีความ

เหมาะสมในการผลิตสารสกัดจากพืช และพบว่าสารสกัดไพลสามารถชะลอการสูญเสียความแน่นเนื้อและสีเขียวบนผลมะม่วง มะละกอได้

สารสกัดจากผงเปลือกผลทับทิมความเข้มข้น 12,000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ลดการปนเปื้อนในผักสะระแหน่ระหว่างการเก็บรักษาได้ โดยยังคงฤทธิ์การควบคุมถึงช่วง 6 ชม.หลังการทดลอง สามารถควบคุมเชื้อได้ 81.90 % เป็นทางเลือกหนึ่งในการนำไปใช้ในโรงคัดบรรจุ หรือแม้แต่ประยุกต์ใช้ในแปลงเพื่อลดการปนเปื้อนตั้งต้นตั้งแต่ก่อนการเก็บเกี่ยวในการผลิตผักสด

การควบคุมเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินด้วยสารสกัดจากพืชพบว่า สาร allicin ในน้ำคั้นที่สกัดจากหัวกระเทียมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* สามารถป้องกันเชื้อราและลดการเกิดสารแอฟลาทอกซินได้ เก็บรักษาได้นานถึง 4 เดือน ลดการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินพริกแห้งและพริกป่นที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินสูงได้ 56.52 และ 76.67 % ตามลำดับ

สารสกัดหยาบกระเทียม ไพล กระชายดำ ปุดสิงห์ และข่า ที่สกัดด้วยเอธานอล 95 % มีประสิทธิภาพในการลดอัตราการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และการสร้างสารแอฟลาทอกซินได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้ *A. flavus* ผลิตเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์สารแอฟลาทอกซินได้น้อยลง ควบคุมการเจริญของเชื้อ *A. flavus* บนถั่วลิสงหลังจากเคลือบเป็นเวลา 1 เดือน

กิจกรรมที่ 3 การควบคุมโรคโดยใช้สารกลุ่ม GRAS ได้ศึกษาสารกลุ่ม GRAS

การศึกษาการใช้สาร GRAS ควบคุมโรคพืชพบว่า acetic acid และ oxalic acid สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp ใน มะละกอ กล้วยหอม มะม่วง และแก้วมังกรที่ปลูกเชื้อได้ ขณะที่มีเพียง oxalic acid เท่านั้นที่ควบคุมโรคที่เกิดโดยธรรมชาติบนผลมะละกอ ส่วนการศึกษาการใช้กรดอินทรีย์ควบคุมโรคผลเน่าของมะม่วงพบว่า citric acid ที่ 3 % สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Dothiorella* sp. ในจานเลี้ยงเชื้อ แต่การทดลองบนผลมะม่วงกลับพบว่า sodium metabisulphite ที่ 1 % สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ดีกว่า

การศึกษาการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *E. coli* ในสะระแหน่ พบว่า citric acid ที่ 0.6 % สามารถควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* ในการทดลองกับยอดสะระแหน่ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 10 $^{\circ}$C ขณะที่การทดลองที่ทำกับยอดสะระแหน่ที่เก็บเกี่ยวจากแปลงปลูก พบว่าการล้างด้วย citric acid ที่ 6 % และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 $^{\circ}$C สามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ได้นานถึง 3-24 ชม.

การศึกษาการใช้สาร methyl salicylate พบว่าสารนี้มีศักยภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของผลเงาะและลองกองที่เกิดจากเชื้อ *Phomopsis* sp. โดยให้ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับระดับการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ β -1,3 glucanase ที่สูงขึ้นในผลลองกองที่ได้รับสาร

การทดสอบประสิทธิภาพของ propionic acid และ sodium carbonate ต่อโรคผลเน่าของแก้วมังกร พบว่าที่ความเข้มข้น 0.08 และ 3.0 % สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของแก้วมังกรได้ แต่กลับไม่สามารถควบคุมโรคในการทดลองบนผลแก้วมังกรได้

กิจกรรมที่ 4 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยวิธีทางกายภาพ

การศึกษาวิธีการทางกายภาพในการควบคุมสารพิษจากเชื้อรา พบว่าการใช้เตาอบไมโครเวฟที่ระดับต่างๆ สามารถลดสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลและผลิตภัณฑ์ได้ คือ สามารถลดปริมาณโอคราทอกซินเอ ในตัวอย่างผลไม้อบแห้ง เช่น แครนเบอรรี่ และ ลูกเกดขาว ได้ 74.35 และ 84.56 % ตามลำดับ สามารถลดปริมาณแอฟลาทอกซินในงาดำได้ 26.81 % ลดสารพิษฟูโมนิซินในข้าวบาร์เลย์ และ คอร์นเฟลก (cornflake) ได้ 39.63 และ 41.71 % ตามลำดับ

การใช้เตาอบลมร้อน สามารถลดโอคลาทอกซินเอใน แครนเบอร์รี่อบแห้ง ลูกเกดขาว และ บลูเบอร์รี่อบแห้ง ได้ 83.59, 81.85 และ 43.30 % ตามลำดับ ลดแอฟลาทอกซินใน ถั่วลิสง ข้าวกล้อง งาดำ และข้าวเหนียวดำได้ 19.82, 47.05, 59.26 และ 69.73 ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบว่า การอาบแสงอัลตราไวโอเลตนาน 120 และ 90 นาทีลดการปนเปื้อนของสารพิษฟูโมนิซินในข้าวบาร์เลย์ ได้ 17.62 และ 17.47 % ตามลำดับ

กิจกรรมที่ 5 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยการประเมินโรคและการผสมผสานวิธีการ

การศึกษาการใช้น้ำร้อนร่วมกับสาร GRAS พบว่า การใช้ ammonium carbonate ที่ 2-3 % และ potassium **carbonate** ที่ 2 % ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 ℃ นาน 5 นาที สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* บนผลแก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง มะละกอพันธุ์ปักไม้ลาย และมะม่วงน้ำดอกไม้เบอร์ 4 ได้

การศึกษาในผลพริกหวานพบว่า การใช้น้ำร้อนร่วมกับ potassium sorbate ที่ 500 mg/l. ยับยั้งความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ผลพริกหวานได้ 91.45 % โดยไม่มีผลต่อคุณภาพของผลพริกหวาน

การศึกษาการเก็บรักษาลองกองพบว่าการใช้ 1-MCP ที่ความเข้มข้น 500 ppm และ chitosan ที่ 0.25 % ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ หนา 40 ไมครอน สามารถชะลอการหลุดร่วง ลดการเกิดสีน้ำตาล และลดการเกิดโรคได้นาน 12 วัน

การศึกษาการประเมินการเข้าทำลายโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ พบว่าการจุ่มผลมะม่วงในสารละลาย paraquat ที่ 2,000 ppm นาน 1 นาที สามารถกระตุ้นการแสดงอาการโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ โดยแสดงอาการภายใน 72 ชม. หรือ 3 วัน สามารถใช้ในการประเมินการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค

การศึกษาความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ในขั้นตอนการผลิตผักสะระแหน่ พบว่าขั้นตอนการล้างหลังจากเก็บเกี่ยวที่แปลงปลูกเป็นจุดที่มีความเสี่ยงสูงที่สุด รองลงมาคือขั้นตอนการล้างในโรงคัดบรรจุ และการควบคุมอุณหภูมิในขณะขนส่ง จุดเสี่ยงในขั้นตอนเหล่านี้จำเป็นมีการการจัดการเพื่อควบคุมการปนเปื้อน

พบเชื้อราที่แสดงปฏิกิริยาการเป็นปฏิปักษ์แบบ Antibiosis แต่ปริมาณผลผลิต secondary metabolites ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้ต่ำมากจึงไม่มีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้งาน และการให้รังสี UV แก่แง่งขิงร่วมกับการบ่มสมานบาดแผลในสภาพความชื้อสัมพัทธ์สูง (95 % RH.) สามารถเร่งการสมานบาดแผลได้ในเวลา 12-24 ชม. จากเดิมที่ใช้เวลา 48 ชม.ซึ่งช่วยลดระยะเวลาการสมานบาดแผลลงและเพิ่มความต้านทานโรคแก่แง่งขิง

การสำรวจโรคในหัวพันธุ์ปทุมมา พบเชื้อสาเหตุโรคคือ *Fusarium* sp. *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. เมื่อศึกษาการควบคุมโรคพบว่า การจุ่มหัวพันธุ์ด้วยจุ่มหัวพันธุ์ด้วยสารสกัดน้ำมันหอมระเหยขมิ้นชัน สารสกัดน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม สารสกัดน้ำมันหอมระเหยกะเพรา และสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกานพลู สามารถควบคุมโรคในหัวพันธุ์ปทุมมา จากเชื้อสาเหตุโรคคือ *Fusarium* sp. ได้

ผลการทดลองภายใต้โครงการสามารถนำไปใช้เป็นวิธีการทางเลือกแก่ผู้ประกอบการนำไปใช้ควบคุมโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร เพื่อให้เกิดความปลอดภัยทั้งแก่ผู้ผลิตและผู้บริโภค

บรรณานุกรม

กิจกรรมที่ 1 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยจุลินทรีย์

ฉวีวรรณ วีระเทศ 2541 ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิด (สะเดา แมงลักคาและตะไคร้หอม) *ใน* การควบคุมโรคแอนแทรคโนสของกล้วยหอม เอกสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 15 : เล่มที่ 1 สาขาพืชศาสตร์ 338 หน้า

ทัศวรรณ ศรีวะอุไร. 2547. การคัดเลือกจุลินทรีย์ผิวพืชเพื่อการควบคุมรา *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) สาเหตุโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะพันธุ์โรงเรียน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ฝ่ายข้อมูลวารสารเคหการเกษตร. 2537. การทำสวนทุเรียน-เงาะ และเทคนิคต่างๆ ที่เกี่ยวกับทุเรียน-เงาะ. *วารสารเคหการเกษตร* ฉบับพิเศษ. เจริญรัฐการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

วาริน อินทนา มนตรี อิสรไกรศีล ปัญจพร เลิศรัตน์ และประคอง เย็นจิตต์. 2548. การควบคุมโรคผลเน่าของเงาะที่เกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* โดยใช้สารต่อต้านเชื้อราจากเชื้อรา *Trichoderma harzianum. ใน วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.* 36: 171-178.

สมศิริ แสงโชติ อุดม ฟ้ารุ่งสาง และ นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง. 2540. การเข้าทำลายของผลเงาะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผลเน่า และการควบคุมโรคผลเน่าภายหลังการเก็บเกี่ยว. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่ 35 สาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ : 108-116.

อังสุมา ชัยสมบัติ และ สมศิริ แสงโชติ. 2526. โรคผลเน่าของเงาะที่เกิดจากเชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* pat, *ใน* รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่ 21 สาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Chu, F. S. 1983. Immuno Chemical methods for mycotoxin analysis. pp. 177-194. *In*.Troc, Int. Symp. Mycotoxins.

Hsu, I. C., Metcalf, R. A., Sun, T., Welsh, J. A. Wang, N. J. and Harris, C. C. 1991. Mutational hotspot in the *P53* gene in human hepatocellular carcinomas. Nature 350: 427-428

Mohamed, H. and A. Saad. 2009. The biocontrol of postharvest disease (*Botryodiplodia theobromae*) of guava (*Psidium guajava* L.) by the application of yeast strains. *Posthrvest Biol. Technol.* 53(3): 123-130

Pak, D. L. 1993. Controlling Aflatoxin in food and feed. Food Technology. October: 92-96

Sivakumar D., R. S. W. Wijeratnam, R. L. C. Wijeratnam, F. M. T. Marikar and M. Abeyesekere. 2000. Antagonistic Effect of *Trichoderma harzianum* on Postharvest Pathogens of Rambutan (*Nephelium lappaceum*). *Phytoparasitica*. 28: 240-247.

กิจกรรมที่ 2 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยสารสกัดจากพืช

นิธิกร. 2551. Essential Oil “สปาการันตี” นวัตกรรมใหม่สารไล่แมลงจาก Essential Oil ด้วยกรรมวิธีวิทยาศาสตร์ http://www.farmkaset.org/wb/postlist.aspx?forumid=9&topicid=552 17/06/2008

นิรนาม. 2552ก. อนาคตที่สดใสของการควบคุมโรค แอนแทรคโนสในพริก : สมุนไพรhttp://www.ku.ac.th/e-magazine/may50/agri/chilli.htm 29/08/2009

นิรนาม. 2552ข. พืชพรรณสมุนไพรไทย http://www.thaigoodview.com/library/contest2551/health04/ 28/samunprithai/sec03p06. 27/8/2552

วิไลรัตน์ ศรีนนท์ ธีรพล วันทิตย์ และเกษม สร้อยทอง. 2551. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วงของสารสกัดจากพืชสมุนไพรด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 2

สุรีย์พร บัวอาจ. 2550. ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนไรโบโซมอลดีเอ็นเอของเห็ดเรืองแสง และผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อมรา ชินภูติ ศุภรา อัคคะสาระกุล อรุณศรี วงษ์อุไร ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์ พรทิพย์ วิสารทานนท์ และไพศาล รัตนเสถียร. 2551. การควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินโดยใช้พืชสมุนไพร. ผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2551 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 1-15

อมรา ชินภูติ ศุภรา อัคคะสาระกุล และชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์. 2553. การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมและลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพดและถั่วลิสง. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2552. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 218-230.

Barkai-golan, R. 2001. Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables Development and Control. Elsevier Amsterdam-London-New York-Oxford-Paris-Shannon-Tokyo. 418 pp.

Boehlendorf, B., S. Neff., T. C. Schuez., L. P. Molleyres, T. Winkler, M. Dobler and Y. Huang. 2004. Isolation and characterization of compounds obtained from a fungal microorganism and preparation of some derivatives thereof. Brit. UK Patent Application.

Brackett, R. E. 1999. Incidence, contributing factors and control of bacterial pathogens in produce. *Postharvest Biological and Technology* 15, 305-311.

Burnett, S. L. and Beuchat, L. R. 2001. Food-borne pathogens: human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices and difficulties in decontamination. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 27, 107-110.

Hulland, E. D. 1980. Hygienic handling and the influence of raw material condition, pp. 143-153. *In* : Jowitt, R. (Editor), Hygienic Design and Operation of Food Plant. Westport: The AVI Publishing Company, Inc.

National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF). 1999. Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. Food Control 10, 117-143.

Natvig, E. E., Ingham, S. C., Ingham, B. H., Cooperband, L. R. and Roper, T. R. 2002. *Salmonella enterica* serovars *typhimurim* and *Escherichia coli* contamination of root and leaf vegetables grown in soils with incorporated bovine manure. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 2737-2744.

Punnawich, Y., M. Issarakraisila., W. Intana and K. Chantrapromma. 2010. Fungicidal Activity of Compounds Extracted from the Pericarp of *Areca catechu* against *Colletotrichum gloeosporides in vitro* and in Mango Fruit. Postharvest Biol. Technol. 55(2) : 129-132.

Singh, N., Singh R. K., Bhunia A. K. and Stroshine R. L. 2002. Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Eshcerichia coli* O157:H7. *Food Microbiology* 19, 183-193.

Tauxe, R. V. 1997. Emerging food borne diseases: an evolving public health challenge. Special issue: Emerging Infectious Diseases 3, 425-434.

Xu, L. 1999. Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. *Food Technology* 53, 58-63.

Yenchai, C., Prasanphen. K., Doodee. S. 2004. Bioactive flavonoids from *Kaempferia parvifor*. Fitoterapia 75(1): 89-92.

Zagory, D. 1999. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. *Postharvest Biology and Technology* 15, 313-321.

กิจกรรมที่ 3 การควบคุมโรคโดยใช้สารกลุ่ม GRAS

Alvindia, D. G. and Natsuaki, K. T. 2007. Control of crown rot-causing fungal pathogens of banana by inorganic salts and a surfactant. *Crop Protection* 26, 1667-1673.

Caccioni, D. R. L., Tonini, G. and Guizzardi, M. 1995. Antifungal activity of stone fruit aroma compounds against *Monilinia laxa* (Aderh. Et Ruhl.) Honey and *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.): *In vivo* trials. *J. Plant. Dis. Prot*. 102: 518-525

Gonyalery-Aguilar, Buta, J. G., and Wang, C. Y. 2003. Methyl jasmonate and modified atmosphere Packaging (MAP) reduce decay and maintain Postharvest quality of papaya Sunrise. *Postharvest.Boil. Technol*. 28 (3): 361-370

Mecteau, M. R., Arul, J. Tweddell, R. J. 2002. Effect of organic and inorganic salts on the growth and development of *Fusarium sambucinum*, a causal agent of potato dry rot. *Mycol. Res*. 106 (6), 688-696

Moline, H. E., Buta, J. G., Saftner, R. A., Maas, J. C. 1997.Comparison of three volatile natural products for the reduction of postharvest diseases in strawberries. *Adv. Strawberry Res*. 16, 43-48

Sholberg, P. L, Shephard, T., Randall, P. and Moyls L. 2004. Use of measured concentrations of acetic acid vapour to control postharvest decay in d' Anjon pears. *Postharvest Biol. Techno*.32: 89-98

Sholberg, P. L. 1998. Fumigation of fruit with short-chain organic acids to reduce the potential of postharvest decay. *Plant Dis*. 82:689-693

Tripathi, P and Dubey, N.K. 2004. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruits and vegetables. *Postharvest. Biol.Technol*. 32: 235-245

Wang, C. Y. and Buta, J. G. 2003. Maintaining quality of fresh-cut kiwifruit with volatile compounds. *Postharvest. Biol. Technol*. 28: 181-186

Wilson, C. L., Franklin, J. D. and Otto, B. E., 1987. Fruit volatiles inhibitory to *Monilinia fructicola* and *Botrytis cinera*. *Plant. Dis.*71:316-319

Zheng, X., Tain, S., Gidley, M. J., Yue, H., and Li, B. 2007. Effects of exogenous oxalic acid on ripening and decay incidence in mango fruit during storage at room temperature. *Postharvest Biol. Techno*. 45: 281-284

กิจกรรมที่ 4 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยวิธีทางกายภาพ

Aish, J. L., Rippon, E. H., Barlow, T. and Hatersley, S. L. 2004. Ochratoxin A. *In* Mycotoxins in Food: Detection and Control (N. Magan and M. Olsen, eds.), pp 307-308 Cambridge, England: Woodhead Publishing Ltd.

Djioua, T., F. Charles, F. Lopez-Lauri, H. Filgueiras, A. Coudret, M. F. Jr, M.-N. Ducamp-Collin and H. Sallanon. 2009. Improving the storage of minimally processed mangoes (*Mangifera indica* L.) by hot water treatments. *Posthrvest Biol. Technol*. 52(2): 221-226

European Commission. 2005. Commission Regulation EC No. 257/2005 of 26 January 2005 (EC) No. 466/2001 aamending setting maximums regards ochratoxin AA official J. Eur. Union., L25, 3-5

Lock, E. A. and Hard, G. C. 2004. Chemically induced renal tubule tumors in laboratory rat and mouse: review of the NCI/NTP database and categorization of renal carcinogens based on mechanistic information. Crit. Revv.Toxicol., 34. 211-299

Miraglia, M. and Brera, C. 2002. Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states. Reports on Tasks for Scientific Cooperation. Reports of Expert Participating in SCOOP task 3.2.7 .Roman. Italy: Directorate- General Health and Comsummer protection.

กิจกรรมที่ 5 การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยการประเมินโรคและการผสมผสานวิธีการ

ชวาลา บุรณศิริ. 2530. โรคพืชผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยวและการป้องกันกำจัด. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2532. การป้องกันกำจัดโรคมะม่วงระยะแตกใบอ่อนและแทงช่อดอก. *วารสารเคหะการเกษตร* 13: 54-57.

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2535. ปัญหาการติดผลมะม่วงเขตแปดริ้ว. *เคหะการเกษตร* 16: 141-145.

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2542. โรคมะม่วง. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตร “หมอพืชไม้ผล” ฉบับที่ 6. หจก. เอ พลัส ทรี มีเดีย, กรุงเทพฯ. 45 น. 44 หน้า.

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์. 2548. การควบคุมโรคเน่าราสีเขียวของส้มสายน้ำผึ้งที่เกิดจากรา *penicilium digitatum* ด้วยการใช้น้ำร้อนและสารควบคุมเชื้อรา imazalil หลังการเก็บเกี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 59 หน้า

ประวัติ ตันบุญเอก วัลลภา ธีรภาวะ ภคินี อัครเวสพงศ์ และดารา พวงสุวรรณ. 2521. โรคและวิธีการเก็บรักษาขิง. *ใน* รายงานประจำปี 2521. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ 394-402. น.

ปิ่มมาลา สุขมาก. 2520. การศึกษาโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิภาดา ทองทักษิณ เยาวลักษณ์ แลงทั่น ณัฐฏิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. การขยายหัวพันธุ์ปทุมมาปลอดเชื้อโรคหัวเน่าจากหัวย่อย. รายงานประจำปี 2550 สถาบันวิจัยพืชสวน. 11 หน้า.

สมศิริ จิ๋วสกุล. 2521. เซรุ่มวิทยาการถ่ายทอดทางเมล็ดของโรคแอนแทรคโนสของพริกและประสิทธิภาพของสารเคมีควบคุมโรคบนใบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมศิริ แสงโชติ. 2531. โรคภายหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วง. น. 34-43. *ใน* รวมเล่มเอกสารประกอบการอบรมเรื่องเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้เพื่อการส่งออก. ศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยี. สำนักงานปลัดกระทรวงวิทยาศาสตร์. เทคโนโลยีและพลังงาน.

สุชาติ วิจิตรานนท์ ขจรศักดิ์ ภวกุล และ ดารา พวงสุวรรณ. 2531. โรคของมะม่วง. น. 9-12 *ใน* มะม่วงเพื่อการส่งออก. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

อมรา ชินภูติ ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์ อรุณศรี วงษ์อุไร รัตตา สุทธยาคม วิชชุดา รัตนากาญจน์ และ จิรากร โกศัยเสวี. 2549. โครงการทดสอบประสิทธิภาพชุดตรวจสอบสารแอฟลาทอกซินสำเร็จรูปเพื่อขยายผลการใช้งานสู่เกษตรกรและผู้ประกอบการส่งออก. รายงานผลการวิจัยเรื่องเต็ม กองทุนสนับสนุนงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 109 หน้า

อรุณี พวงมี. 2533. การควบคุมโรคเน่าของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ระยะก่อนและหลังเก็บเกี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อังสุมา ชัยสมบัติ. 2530. โรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. และการควบคุม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อินทิรา แถมพยัคฆ์. 2541. ความหลากหลายทางเชื้อราในการสร้างสารพิษแอฟลาทอกซินบนอาหาจำพวกเมล็ดพืชแห้งเพื่อการส่งออก. สถาบันวิจัยมหาวิทยาลัยรังสิต. ปทุมธานี

Barkai-golan**,** R. 2001**.** Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables Development and Control. Elsevier Amsterdam-London-New York-Oxford-Paris-Shannon-Tokyo, 418pp

Conway, W. S., Leverentz, B., Janisiewicz, W. J., Saftner R. A. and Camp, M. J. 2005. Improving biocontrol using antagonist mixtures with heat and/or sodium bicarbonate to control postharvest decay of apple fruit. *Postharvest Biology and Technology* 36, 235-244.

Couey, H. M., Alvarez, A. M., Nelson and M. G. 1984. Conparison of hot water spay and immersion treatments for control of postharvest decay of papaya. *Plant Dis*. 68, 436-437.

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

Dodd, J. C. R. Bugante, I. Koomen, P. Jeffries and M. J. Jeger. 1991a. Pre-and post-harvest control of mango anthracnose in the Philippines. *Plant Pathol*. 40: 576-583.

Emery, K. M., Michailides, T. J. and Scherm, H. 2000. Incidence of quiescent infection of immature peach fruit by *Monilinia fructicola* and relationship to brown rot in Georgia. *Plant Dis*. 84:853-857.

Escopalao, W. M., and J. C. Silvestre. 1996. Evaluation of 15 medicinal plant extracts for fungicidal property against *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. causing anthracnose on mango fruits. Philippine Phytopatholo. 32 p. 130. Agris. Accession no. 1999-051475.

Estrada, A. B. and L. L. Ilag. 1990. Effect of temperature and humidity on germination and infection of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. on corabao mango. Bacolod City (Philippines). Agris. Accession no. 92-004326.

Estrada, A. B., J. C. Dodd and P. Jeffries. 2000. Effect of humidity and temperature on conidial germination and appressorium development of the Philippine isolates of the mango anthracnose pathogen, *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Pathol. 49: 608-618. CAB Abstracts. Accession no. 20003011312.

Fitzell, R. D. and C. M. Peak. 1984. The epidemiology of anthracnose disease of mango: inoculums sources spore production and dispersal. Annals of Applied Biology 104: 53-59. CAB Abstracts. Accession no. 841397228.

Flaishman, M. A., C. S. Hwang and R. E. Kdattukudy. 1995. Involvement of protein phosphorylation in the induction of appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides* by its host surface wax and ethylene. *Physio. Mol. Plant Pathol*. 47: 103-117.

Gamagae, S. U., Sivakumar, D. and Wijesundera, R. L.C. 2004, Evaluation of Post-harvest application of sodium bicarbonate- incorporated wax formulation and *Candida oleophila* for the control of anthracnose of papaya. *Crop Protection*. 23, 575-579.

Gonzalez-Aguilar, G. A., R. Cruz, M. Granados, R. Baez. 1997. Hot water dips and film packaging extend the shelf-life of bell peppers. Postharvest Horticulture Series - Department of Pomology, University of California. Pp: 66-72. source : www.phtnet.org (11 August 2008)

Ishikawa, Seiju. 2003. Method to diagnose latent infection by *Glomerella cingulata* in strawberry plants using ethanol. *J Gen Plant Pathol* (2003) 69:372–377.

Jeger, M. J., R. A. Plumpley, C. Prior. and C. Persad. 1987. SS2-Post-harvest aspects of crop protection. Manila (Philippines). Agris. Accession no. 90-086360.

Kim, Choong Hoe, Jong Mun Yang, Sung Seok Yang, C. H. Kim, J. M. Yang and S. S. Yang. 1998. Identification and pathogenicity of microorganisms associated with seed-rhizome rot of ginger in underground storage caves. *Korean Journal of Plant Pathology* 14: 484-490.

Korpraditskul, V., C. Rattanakreetakul and R. Korpraditskul. 1991. Control of anthracnose of mango fruits by plant crude [*Rhinacanthus nasutus*, *Premna herbasco*, *Bauhinia purpurea*, *Acorus colamus*]. pp. 307-317. Proceedings of the 29th kasetsart university: plant science. Kasetsart univ., Bangkok (Thailand) CAB Abstract. Accession no. 97-147639.

Kumar, H., Roy, A. N., 1990. Occurrence of fungal rot of turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes in Delhi market. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. Vol: 60 Issue: 3. 189-191.

Lana, M. M., V. W. D. Casali, F. L. Finger and F. P. Reis. 1993. Evaluation of postharvest storage of ginger rhizomes. *Horticultura Brasileira* 11: 139-141.

Lonsdale, J. H. 1993. Strategies for the control of post-harvest diseases of mango. Yearbook South African Mango Growers Association 13:109-116.

McDonald, F. D. 1992. Management of post-harvest diseases of tropical fruits and ornamentals in the Caribbean region. Walmsley, D. Caribbean Agricultural Research and Development Inst. p. 113-120. Agris. Accession no. 2000-057645.

Mehrotra, B. S. 1952. *Fusarium roseum* Link. And *Sclerotium rolfsii* Sacc. on ginger rhizome. Indian *Phytopathology* 5: 53-55.

Mishra B. and G. C. Rath. 1988. *Geotrichum* rot of stored ginger. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology* 18: 213.

Muirhead, I. F. 1976. Post-harvest control of mango anthracnose with benomyl and hot water. Aust. J. exp. Agric. Anim. Husb. 16: 600-603. CAB Abstracts. Accession no. 760347344.

Om-Prahash, B. K. Pandey and O. Prakash. 2000. Control of mango anthracnose by hot water and fungicide treatment. Indian Phytopathol. 53: 92-94. CAB Abstracts. Accession no. 20001006425.

Palou, L., Smilanick, J. L., Usall, J. and Vinas, I., 2001. Control of postharvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate. *Plant dis*. 85, 371-376.

Palou, L., Smilanick, J. L., Usall, J. and Vinas, I. 2002. Hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate for the control of postharvest green and blue molds of Clementine mandarins. *Postharvest Biology and Technology* 24, 93-96.

Prusky, D. and N.T. Keen. 1993. Involvement of preformed antifungal compounds in the resistance of subtropical fruits to fungal decay. *Plant. Dis*. 77: 114-119.

Quimio, A. J. and J. H. Quimio. 1974. Postharvest control of Philippine mango anthracnose by benomyl. *Philipping Agriculturist* 58: 147-155.

Reddy K. R. N., Reddy C. S. and Muralidharan K. 2009. Potential of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* infecting rice grains. Food Control 20(2): 173-178.

Sampaio, V. R., C. G. B. Demetrio and D. Barbin. 1979. Heat treatment of mango. I. Variation in temperature and time of immersion. Anais-da-Escola-Superior-de-Agricultura- Luiz-de-Queiroz 36:659-669. CAB Abstracts. Accession no. 801369738.

Sanders, G.M., L. Korsten and F.C. Wehner. 2000. Survey of fungicide sensitivity in *Colletotrichum gloeosporioides* from different avocado and mango production areas in

Sangchote, S. 1989. Relationship between the physiological state of mangoes and the incidence of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.). *ASEAN Food Journal* 4: 123-124.

Sarma, Y. R. and K. K. N. Nambier. 1974. Dry rot of ginger caused by *Macrophomina phaseolina*. *Current Science* 43: 487-488.

Schirra, M., G. D'hallewin, S. Ben-Yehoshoua and E. Fallik. 2000. Host-Pathogen Interaction Modulated by Heat Treatment. *Poatharvest Biology and Technology* 21: 71-85.

Sharma, N. D. and L. K. Joshi. 1976. Tree new storage diseases of ginger. *Science and Culture* 42: 176-178.

Sivakumas D., Hewarathgamagae N.K., Wijeratnam R.S.W. and Wijesundera R.L.C., 2002. Effect of ammonium carbonate and sodium bicarbonate on anthracnse of papaya. *Phytoparasitica* 30 (5), 486-492.

Smilanick, J. L., D.A. Margosan and D.J. Henson. 1995. Evalotion of Heated Solution of Sulfur Dioxide, Ethanol and Hydrogen Peroxide to Control Postharvest Green Mold of Lemons. *Plant Disease*. 79: 742-747.

Spalding, D. H. and W. F. Reeder. 1972. Postharvest disorders of mango as affected by fungicides and heat treatment. *Plant. Dis. Rep*. 56: 751-753.

Spalding, D. H. and W. F. Reeder. 1978. Controlling market diseases of mango with heated benomyl. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 91: 186-187. CAB Abstracts. Accession no. 790379314.

Swarts, D. H. and T. Bezuidenhout. 1992. Storage requirements of fresh ginger. *In ligtings bulletin No*. 235: 21-24.