Agricultural Sci. J. 53 : 3 (Suppl.) : 36-39 (2022) ว. วิทย. กษ. 53 : 3 (พิเศษ) : 36-39 (2565)

ผลของการใช้น้ำร้อนในการควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของส้มที่เกิดจากเชื้อรา *Penicillium digitatum*

Effect of Hot Water Treatment in Controlling Citrus Green Mould Rot Caused by *Penicillium digitatum*

วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย[1] บุญญวดี จิระวุฒิ[1] และ รัตตา สุทธยาคม[1]

Weeraporn Dejnumbunchachai[1], Boonyawadee Chirawut[1] and Ratta Suttayakom[1]

Abstract

Green mold caused by *Penicilium digitatum* is considered as a major postharvest disease of citrus fruit. Application of chemical fungicides is considered the widely used measure which is harmful to human health and environment. The objective of this study was to control postharvest rot of citrus using hot water treatment. The effectiveness of hot water treatment at 50, 52 and 55℃ for 3 and 5 minutes were tested and compared with control (no hot water treatment applied) and 0.025% prochloraz application. The results showed that dipping the fruit into water temperature of 55℃ for 3 and 5 minutes completely inhibited growth of *P. digitatum*. Further study was conducted by inoculating $1x10^6$ spore/mL of spore suspension of *P. digitatum* with 20 µL onto artificially wounds of fruit surface. After 24 hours, the inoculated samples were treated according to the abovementioned hot water treatments. The results indicated that dipping in water temperature of 55℃ for 3 and 5 minutes provided the best result in controlling disease incidence (50%), showing disease severity index of 12.5%.

Keyword: citrus, postharvest disease control, hot water treatment

บทคัดย่อ

โรคผลเน่าของส้มเกิดจากเชื้อรา *Penicillium digitatum* มีความสำคัญก่อให้เกิดการสูญเสียหลังเก็บเกี่ยว การควบคุมโรคส่วนใหญ่ยังคงใช้สารเคมีซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อม วัตถุประสงค์ของการทดลองเพื่อทดสอบอุณหภูมิของน้ำร้อนที่เหมาะสมในการควบคุมโรคผลเน่าของส้ม โดยทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 52 และ 55 ℃ นาน 3 และ 5 นาที เปรียบเทียบกับไม่จุ่มน้ำร้อน (กรรมวิธีควบคุม) และสารเคมีโพรคลอราซ 0.025% พบว่าการจุ่มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55℃ นาน 3 นาที และน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55℃ นาน 5 นาที ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* ของส้มได้ 100% และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพน้ำร้อนในการควบคุมโรคผลเน่าในส้มที่ปลูกเชื้อรา *P. digitatum* บนผลส้ม ด้วยการทำแผลแล้วหยดสปอร์แขวนลอยความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร จำนวน 20 ไมโครลิตร นาน 24 ชั่วโมง พบว่าผลส้มที่แช่ในน้ำร้อน 55℃ นาน 3 นาที และ 5 นาที ลดการเกิดโรคได้ดีที่สุด เท่ากับ 50% และมีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 12.15%

คำสำคัญ: การควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยว ส้ม น้ำร้อน

คำนำ

ส้มเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย เป็นผลไม้ที่คนนิยมบริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งเป็นพันธุ์ที่กำลังได้รับความนิยมจากผู้บริโภคในปัจจุบัน ปัญหาสำคัญที่พบคือโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Penicillium digitatum* สามารถแพร่ระบาดจากผลหนึ่งไปสู่อีกผลหนึ่งได้โดยการสัมผัสระหว่างผลที่ปกติกับผลที่เป็นโรค การควบคุมโรคส่วนใหญ่ยังคงใช้สารเคมี เช่น สารเคมีโพรคลอราซ และคาร์เบนดาซิม ซึ่งพบรายงานการตกค้างในผลผลิตส้ม (เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีศัตรูพืช, 2559) นอกจากจะเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมแล้ว มักเป็นข้อจำกัดของการส่งออกผลไม้ การควบคุมโรคของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวในปัจจุบัน มุ่งเน้นเรื่องความปลอดภัยของผู้บริโภคเป็นหลัก การใช้ความร้อนจึงเป็นหนึ่งทางเลือกที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัยไม่มีสารพิษตกค้าง สามารถปฏิบัติได้ง่าย และค่าใช้จ่ายไม่สูงมาก (สายชล, 2528) การจุ่มในน้ำร้อนทำให้ผลไม้ได้รับความร้อนในระดับเดียวกันได้ทั่วถึง เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคจากเชื้อรา

[1] กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร 10900

[1] Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900

เนื่องจากสปอร์ของเชื้อราและการเข้าทำลายแบบแฝงจะอยู่ที่ชั้นผิว ระดับน้ำร้อนที่มีประสิทธิภาพคือ 46-60 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลา 3 วินาทีถึง 10 นาที การจุ่มผลิตผลในน้ำร้อนใช้เวลาสั้นๆ ก็เพียงพอในการควบคุมโรค โดยความร้อนที่ใช้ต้องไม่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช (Ames, 1915; Barkai-Golan and Phillips, 1991) วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาอุณหภูมิของน้ำร้อนที่เหมาะสมในการควบคุมโรคผลเน่าของส้มจากเชื้อรา *P. digitatum* ซึ่งเป็นอีกทางเลือกในการทดแทนการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราที่เป็นอันตรายต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพน้ำร้อนต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum*

เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. digitatum* ความเข้มข้น 1 x 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วขนาดเล็ก ขวดละ 1 มิลลิลิตร จำนวน 8 ขวด จุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับไม่จุ่มน้ำร้อน (กรรมวิธีควบคุม)

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (ไม่จุ่มน้ำร้อน) กรรมวิธีที่ 2 น้ำร้อนอุณหภูมิ 50°C นาน 3 นาที
กรรมวิธีที่ 3 น้ำร้อนอุณหภูมิ 50°C นาน 5 นาที กรรมวิธีที่ 4 น้ำร้อนอุณหภูมิ 52°C นาน 3 นาที
กรรมวิธีที่ 5 น้ำร้อนอุณหภูมิ 52°C นาน 5 นาที กรรมวิธีที่ 6 น้ำร้อนอุณหภูมิ 55°C นาน 3 นาที
กรรมวิธีที่ 7 น้ำร้อนอุณหภูมิ 55°C นาน 5 นาที กรรมวิธีที่ 8 สารเคมีโพรคลอราซ ความเข้มข้น 0.025%

หลังจากนั้นนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. digitatum* จุ่มในน้ำร้อนอุณหภูมิต่างๆ และไม่จุ่มน้ำร้อน (กรรมวิธีควบคุม) มาหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) 5 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25±2°C เป็นเวลา 10 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design: CRD) เปรียบเทียบ 8 กรรมวิธี จำนวน 8 ซ้ำ

บันทึกข้อมูล การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (%) โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา (เซนติเมตร)

การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (%) = (A-B)/A × 100

A คือค่าเฉลี่ยของการงอกของสปอร์เชื้อราบนอาหาร PDA (กรรมวิธีที่ 1 ควบคุม)

B คือค่าเฉลี่ยของการงอกของสปอร์เชื้อราบนอาหาร PDA ผสมสารกรรมวิธีที่ 2-8

2. ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนในการควบคุมโรคผลเน่าบนผลส้ม

คัดเลือกส้มสายน้ำผึ้ง จากสวนในอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ นำมาปลูกเชื้อรา *P. digitatum* ลงบนผลส้ม โดยทำแผลด้วยเข็มที่ผ่านการฆ่าเชื้อเจาะลงบนผลส้ม ห่างจากขั้วผล 1 เซนติเมตร ทั้งสองข้างของผลส้ม ลึกประมาณ 0.2 มิลลิเมตร หยดสปอร์แขวนลอยความเข้มข้น 1x10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จำนวน 20 ไมโครลิตรต่อ 1 แผล เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25±2°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำผลส้มจุ่มในน้ำร้อน (กรรมวิธีเช่นเดียวกับข้อ 1) ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำผลส้มเรียงใส่ตะกร้าพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20°C เป็นเวลา 14 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 8 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำๆละ 12 ผล

บันทึกข้อมูล 1) เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%disease incidence) โดยนับจำนวนผลส้มที่แสดงอาการโรคต่อจำนวนผลส้มทั้งหมด นำค่าที่ได้มาคำนวณโดยใช้สูตรดังนี้

$$\% \text{ การเกิดโรค} = \frac{\text{ผลส้มที่เป็นโรค}}{\text{ผลส้มทั้งหมด}} \times 100$$

2) ความรุนแรงของโรค โดยประเมินอาการของโรคผลเน่าบนผลส้ม แล้วนำมาคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรค (disease index)

ประเมินการเกิดโรค โดยแบ่งระดับความรุนแรง เป็น 5 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0= ไม่เกิดโรคผลเน่าของส้ม ไม่แสดงอาการของโรค ระดับ 1= พบลักษณะอาการแผลเน่าบนผลส้ม 1-25%
ระดับ 2= พบลักษณะอาการแผลเน่าบนผลส้ม 26-50% ระดับ 3= พบลักษณะอาการแผลเน่าบนผลส้ม 51-75%
ระดับ 4= พบลักษณะอาการแผลเน่าบนผลส้ม 76-100%

จากนั้นคำนวณดัชนีการเกิดโรค ตามสูตรดังนี้

$$\% \text{ disease index} = \frac{(na \times 0) + (nb \times 1) + (nc \times 2) + (nd \times 3) + (ne \times 4) \times 100}{N \times 4}$$

na = จำนวนผลส้มที่มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 0 nb = จำนวนของผลส้มที่มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 1
nc = จำนวนของผลส้มที่มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 2 nd = จำนวนของผลส้มที่มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 3
ne = จำนวนผลส้มที่มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 4 N = จำนวนผลส้มทั้งหมด

ผลการทดลอง

1. ทดสอบประสิทธิภาพน้ำร้อนต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum*

ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 52 และ 55 °C นาน 3 และ 5 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* ได้แตกต่างกันสถิติ พบว่าน้ำร้อนอุณหภูมิ 55°C นาน 3 นาที และ 5 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* ของส้มได้ 100% ในขณะที่สารเคมีโพรคลอราซ ความเข้มข้น 0.025% ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* ของส้มได้เพียง 59.97% (Table 1)

2. ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนในการควบคุมโรคผลเน่าบนผลส้ม

ทดสอบการจุ่มผลในน้ำร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่ต่างกัน ในการควบคุมโรคผลเน่าในส้มที่มีการปลูกเชื้อรา *P. digitatum* บนผลส้ม นาน 24 ชม. พบว่าน้ำร้อนอุณหภูมิ 55°C นาน 3 นาที และ 5 นาที มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าได้ผลดีเท่ากัน การเกิดโรค 50.00% และมีดัชนีการเกิดโรคเท่ากับ 12.15% เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีโพรคลอราซ ความเข้มข้น 0.025% พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าได้ดีไม่แตกต่างกันทางสถิติ การเกิดโรค 54.17% ดัชนีการเกิดโรค 13.54% สามารถใช้ทดแทนกันได้ ในขณะที่กรรมวิธีที่แช่ผลส้มในน้ำเพียงอย่างเดียว (กรรมวิธีควบคุม) พบการเกิดโรค 100.00% และดัชนีการเกิดโรค 77.61% (Table 2, Figure 2)

Table 1 Inhibition growth of *P. digitatum* after treated with heat treatment on potato dextrose agar and incubated at 25±2°C for 10 days.

Treatment	Inhibited growth of *P. digitatum* (%)[(1)]
control (PDA)	0.00f
hot water 50°C for 3 min	12.36e
hot water 50°C for 5 min	16.53d
hot water 52°C for 3 min	13.70bc
hot water 52°C for 5 min	22.80c
hot water 55°C for 3 min	100.00a
hot water 55°C for 5 min	100.00a
0.025% prochloraz for 5 min	59.97b
CV (%)	7.58

(1) Mean followed by a common letters are not significantly different at the 95% level by DMRT

Table 2 Disease incidence and disease index of wound-inoculated citrus fruit with spore suspension of *P. digitatum* at $1x10^6$ spore/ml for 24 h then treated with heat treatment and stored at 20°C for 14 days.

Treatment	Disease incidence (%)	Disease index (%)
control (water)	100.00c	77.61d
hot water 50°C, for 3 min	100.00c	35.94c
hot water 50°C, for 5 min	97.92c	27.60b
hot water 52°C, for 3 min	95.83c	25.00b
hot water 52°C, for 5 min	62.50b	15.63a
hot water 55°C, for 3 min	50.00a	12.50a
hot water 55°C, for 5 min	50.00a	12.50a
0.025% prochloraz, for 5 min	54.17ab	13.54a
CV (%)	7.64	7.28

(1) Mean followed by a common letters are not significantly different at the 95% level by DMRT

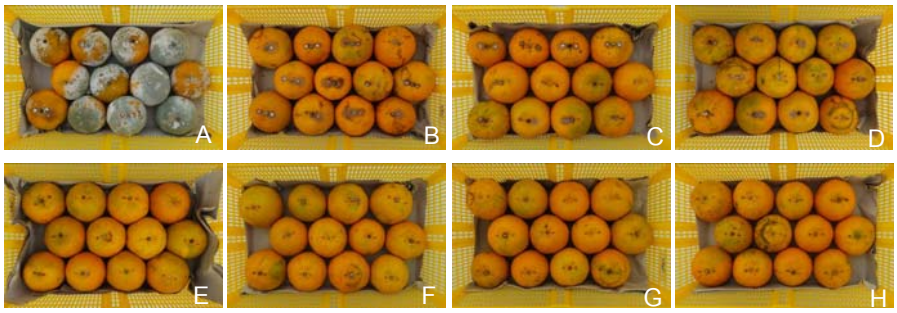

Figure.1 Control green mold rot disease on wound-inoculated citrus fruit with spore suspension of *P. digitatum* at 1x10^6 spore/ml for 24 h then treated with heat treatment and stored at 20°C for 14 days

A. control (PDA B. hot water 50 °C for 3 min C. hot water 50°C for 5 min
D. hot water 52 °C for 3 min E. hot water 52 °C for 5 min F. hot water 55 °C for 3 min
G. hot water 55 °C for 5 min H. 0.025% prochloraz for 5 min

วิจารณ์ผล

การใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 55°C นาน 3 นาที และ 5 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* ของส้มได้ 100% เนื่องจากอุณหภูมิความร้อนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง nuclei และผนังเซลล์ของเชื้อราทำลายในส่วน mitochondria และทำให้เยื่อหุ้ม vacuole แตกอีกทั้งยังส่งผลต่อองค์ประกอบที่เป็นโปรตีนในเซลล์ของเชื้อราเกิดการเสื่อมสภาพ ทำให้ความสามารถในการเพิ่มจำนวนของเชื้อราลดลง (Barkai-Golan and Phillips,1991) และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพของน้ำร้อนในการควบคุมโรคผลเน่าบนผลส้ม พบว่าการจุ่มผลส้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55°C นาน 3 นาทีและ 5 นาที เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. digitatum* เนื่องจากการใช้น้ำร้อนจะช่วยลดปริมาณของจุลินทรีย์ที่อาศัยบริเวณผิวของส้ม (Porat *et al.,* 2000) และยังกระตุ้นความต้านทานในผลส้ม เช่น การสร้างสารประกอบที่เรียกว่า lignin-like material ขึ้นมาได้แก่ phytoalexins scoparone และ scopoletin หรือ Pathogenesis-related protein บางชนิดขึ้นมาในระหว่างที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย เช่น เอนไซม์ chitinase (Schirra *et al*., 2000) โดยเอนไซม์ chitinase จะย่อยองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์เชื้อราสาเหตุโรคให้เป็น oligomer สายสั้นๆ ทำให้เซลล์เชื้อราตายในที่สุด (Bowles, 1990)

สรุป

การใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55°C นาน 3 นาที และ นาน 5 นาที มีประสิทธิภาพในควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของส้มที่เกิดจากเชื้อรา *P. digitatum* โดยลดการเกิดโรคได้ 50% และดัชนีการเกิดโรค 12.15% ไม่ทำให้ผลส้มเกิดความเสียหายเนื่องจากความร้อน (heat damage) ปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค

คำขอบคุณ

ขอบคุณคณะทำงานห้องปฏิบัติการ ชั้น 7 กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

เอกสารอ้างอิง

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

สายชล เกตุษา. 2528. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังเก็บเกี่ยวผักผลไม้. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 364 น.

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

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

Bowles, D.J. 1990. Defense-related proteins in higher plants. Annu. Rev. Biochem. 59: 873-907.

Porat, R., A. Daus, B. Weiss, L. Cohen, E. Fallik and S. Droby. 2000. Reduction of postharvest decay in organic citrus fruit by a short hot water brushing treatment. Postharvest Biol. Technol. 18: 151–157

Schirra, M., G.D'hallewin, S. Ben-Yehoshua and E. Fallik. 2000. Host pathogen interactions modulated by heat treatment. Postharvest Biol. Technol. 21:71-85.