

Postharvest Newsletter

ปีที่ 22 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2566



เรื่องเต็มงานวิจัย

ความต้านทานข้ามต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI และ DMI ของเชื้อรา *Colletotrichum siamense* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่ต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole

รติยา พงศ์พิสุทธิธ^{1,2} ชัยณรงค์ รัตนกริชากุล^{1,2} และสัณฐิติ บินคาเดอร์^{1,2}

บทคัดย่อ

โรคแอนแทรคโนสส่งผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตมะม่วง การควบคุมในปัจจุบันนิยมใช้สารเคมีซึ่งง่าย และมีประสิทธิภาพ แต่พบว่าเชื้อราเกิดความต้านทานต่อสารเคมีซึ่งใช้มาเป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้การควบคุมโรคเป็นไปได้ยากขึ้น การเลือกใช้สารเคมีกลุ่มอื่นๆ จึงน่าจะเป็นทางเลือกของเกษตรกรในปัจจุบัน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะตรวจสอบความต้านทานของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราของ *Colletotrichum siamense* ไอโซเลท RB006 ต่อสารเคมี พบว่าเชื้อรามีความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole โดยสามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีที่มีความเข้มข้นสูงถึง 1,000 mg/L จากตรวจสอบข้อมูลทางอนุชีวโมเลกุล พบว่าการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ codon E198A จากการทดสอบความต้านทานข้ามกลุ่ม พบว่าเชื้อรา *C. siamense* RB006 สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีในกลุ่ม QoI ที่ความเข้มข้นสูง 1,000 mg/L แต่ไม่สามารถเจริญได้บนอาหารที่ผสมสารเคมีในกลุ่ม DMI (ความเข้มข้นควบคุม 10–100 mg/L) งานวิจัยนี้เป็นเพียงจุดเริ่มต้นของการศึกษาเชื้อราที่แสดงความต้านทาน เพื่อทำความเข้าใจและเรียนรู้หนทางที่จะป้องกัน รวมทั้งลดความเสี่ยงในการกลายพันธุ์ของเชื้อรา ซึ่งส่งผลต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคในอนาคตต่อไป

คำสำคัญ: การดื้อยา โรคของมะม่วง สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา

¹ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

²ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพฯ 10400

สวัสดีครับ...สำหรับ Postharvest Newsletter ฉบับนี้ ในส่วนของเรื่องเต็มงานวิจัย เรานำเสนอผลงานเรื่อง ความต้านทานข้ามต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI และ DMI ของเชื้อรา *Colletotrichum siamense* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงที่ต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole ในส่วนของนานาสาระ นำเสนอบทความเรื่อง ผลของระยะการบานของดอกและน้ำตาลต่อการเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานินและลดความไวต่อเอทิลีนในกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลูหลังการเก็บเกี่ยว โดย ผศ. ดร. มณฑนา บัวหนอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี และผลสัมฤทธิ์งานวิจัยคุณๆ เรานำเสนอเรื่อง การศึกษาปัจจัยในการทำงานที่มีผลต่อการใช้พลังงานของเครื่องเกี่ยวนวดข้าว โดย รศ.ดร. สมโภชน์ สุตาจันทร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ขอเรียนเชิญทุกท่านเข้าร่วมประชุมและส่งผลงานในการประชุมวิชาการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวแห่งชาติ ครั้งที่ 20 ระหว่างวันที่ 10-11 สิงหาคม 2566 ณ โรงแรมพูลแมน ขอนแก่น ราชา ออคิด จังหวัดขอนแก่น รายละเอียดเพิ่มเติม <https://npht.phtnet.org>



เรื่องเต็มงานวิจัย

(ต่อจากหน้า 1)

คำนำ

การดื้อยาแบบข้ามกลุ่ม หรือ cross-resistance จัดเป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการป้องกันและควบคุมโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวค่อนข้างสูง จากข้อมูลของ Mahoney and Tattar ในปีค.ศ. 1980 พบว่าการใช้สารเคมีที่มีกลไกการออกฤทธิ์แบบ single-site ซึ่งใช้กันอย่างมากในการใช้ควบคุมโรคแอนแทรกโนส โดยสารเคมีดังกล่าวมักอยู่ในกลุ่ม benzimidazole เช่น benomyl, thiophanate-methyl และ carbendazim (Prakash and Pandey, 2000; Devi *et al.*, 2014) หลังจากใช้สารเคมีกลุ่มดังกล่าวมาอย่างยาวนาน พบว่าการควบคุมโรคกลับไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษาและจัดแบ่งกลุ่มสารเคมีออกเป็นหมวดหมู่ตามกลไกการออกฤทธิ์ เพื่อลดการใช้สารเคมีชนิดเดิมซ้ำกันเป็นระยะเวลานาน (Fungicide resistance action committee: FRAC, 2020)

ส่วนสารเคมีในกลุ่ม QoI (quinone-outside inhibitor) เช่น azoxystrobin, kresoxim-methyl และ pyraclostrobin และสารเคมีในกลุ่ม DMI (demethylation inhibitors) เช่น cyproconazole, difenoconazole และ prochloraz เป็นสารเคมีที่ถูกนำมาใช้ทดแทนสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole เพื่อการควบคุมโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* เนื่องจากมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างไปจากเดิม ด้วยเหตุนี้จึงมีเกษตรกรจำนวนไม่น้อยหันมาใช้สารเคมี 2 กลุ่ม ดังกล่าว แต่ด้วยพฤติกรรมการใช้สารเคมีชนิดเดิม ซ้ำๆ เป็นระยะเวลานาน ก็ส่งผลกระทบให้เชื้อราเกิดความต้านทานต่อสารชนิดนี้เช่นกัน จากรายงานของ Ma and



Michailides (2005) ได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมี และพบว่าสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole นั้นมีผลทำให้เชื้อราเกิดความต้านทานค่อนข้างสูง ทำให้การควบคุมโรคไม่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ สารเคมีกลุ่มนี้ยังส่งผลกระทบต่อเชื้อราแสดงความต้านทานต่อสารเคมีแบบข้ามกลุ่ม ซึ่งเป็นปัญหาในการจัดการโรคแอนแทรคโนสเป็นอย่างมาก งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเชื้อรา *Colletotrichum siamense* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสอีกชนิดหนึ่งของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองซึ่งต้านทานสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole ต่อการตอบสนองต่อสารเคมีในกลุ่ม Qol และ DMI เพื่อใช้เป็นแนวทาง หรือวิธีการในการแก้ปัญหาการใช้สารเคมีให้มีประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เชื้อราที่ใช้ในการศึกษา

เชื้อรา *Colletotrichum siamense* ไอโซเลท RB006 (ITS-accession number: MK215699.1) ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการราวิทยา ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นำมาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มได้แสง near UV สลับมืด 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Pongpisutta *et al.* (2013) โดยใช้ protease และสารละลาย phenol chloroform isoamyl alcohol (25:24:1) ในการตกตะกอนโปรตีน จากนั้นกำจัด RNA ด้วยการเติมเอนไซม์ RNase และหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลาย chloroform isoamyl alcohol (24:1) และตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย absolute alcohol ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วย 1.2% agarose gel electrophoresis ใน 1XTBE buffer เก็บดีเอ็นเอที่ได้นี้ใน -20°C เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2. การตรวจสอบความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole

นำเชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 5 วัน มาตรวจสอบความต้านทานต่อสารเคมีด้วยวิธี minimum inhibitory concentration (MIC) โดยการเจาะเชื้อราบริเวณขอบโคโลนีด้วย cork borer ขนาด 0.6 cm จากนั้นย้ายลง 24 microwell plate ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมกับสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ benomyl, carbendazim และ thiophanate methyl ความเข้มข้นแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 (control), 0.1, 1.0, 10.0, 100.0 และ 1,000 mg/L บ่มได้แสง near UV สลับมืด 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25°C ตรวจสอบ และบันทึกภาพและผลการเจริญของเส้นใยตามวิธีการของรัตติยา และชัยณรงค์ (2563) ทุกวัน จนครบ 7 วัน





จากนั้นตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเชื้อราในระดับอนุชีวโมเลกุลที่กรดอะมิโนลำดับ 198 โดยการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมบริเวณ β -tubulin gene ด้วยไพรเมอร์ TB2L (5' GTTTCAGATCACCCACTCC '3) and TB2R (5' TGAGCTCAG GAACACTGACG '3) (Peres *et al.*, 2004) ส่งวิเคราะห์และเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์กับเชื้อรามาตรฐาน *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*

3. ตรวจสอบการดื้อยาแบบข้ามกลุ่มของเชื้อรา

นำเชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 5 วัน มาตรวจสอบความดื้อยาแบบข้ามกลุ่มด้วยวิธี minimum inhibitory concentration (MIC) โดยการเจาะเชื้อราบริเวณขอบโคโลนีด้วย cork borer ขนาด 0.6 cm จากนั้นย้ายลง 24 microwell plate ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมกับสารเคมีในกลุ่ม QoI จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ azoxystrobin, kresoxim-methyl และ pyraclostrobin และสารเคมีกลุ่ม DMI จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ cyproconazole, difenoconazole และ prochloraz ความเข้มข้นแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 (control), 0.1, 1.0, 10.0, 100.0 และ 1,000 mg/L บ่มได้แสง near UV สลับมืด 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25°C ตรวจสอบ และบันทึกภาพและผลการเจริญของเส้นใยตามวิธีการของรัตติยา และชัยณรงค์ (2563) ทุกวัน จนครบ 7 วัน

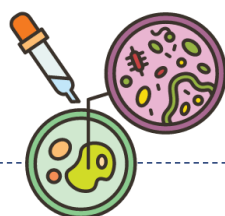
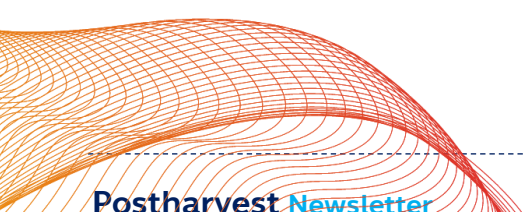
ผล

1. เชื้อราที่ใช้ในการศึกษา

เชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 5 วัน มีการสร้างเส้นใยสีขาวปนเทา เจริญฟูจากผิวหน้าอาหาร พบการสร้างกลุ่มสปอร์ (spore mass) สีส้ม ด้านหลังโคโลนีมีสีเทาสลับส้ม เจริญซ้อนกันเป็นวง ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบสปอร์รูปร่างทรงกระบอก ฐานตัด ใสไม่มีสี 1 เซลล์ ขนาดประมาณ 4.78 – 7.50 × 7.35 – 14.29 ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง setae พบ appressorium มีรูปร่าง clavate ถึง irregular สีน้ำตาลอ่อน ทำการสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Pongpisutta *et al.* (2013) ได้ดีเอ็นเอความเข้มข้นประมาณ 80 นาโนกรัม ไม่พบการปนเปื้อนของโปรตีนและ RNA

2. การตรวจสอบความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole

ตรวจสอบความต้านทานของเชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 ต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole จำนวน 3 ชนิด พบว่าเชื้อราสามารถเจริญและสร้างเส้นใยได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด (1,000 mg/L) ในวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อ เมื่อทำการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ β -tubulin gene เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์เชื้อรามาตรฐาน *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* ที่ใช้อย่างอิง





พบว่ามียาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 1,285 – 1,287 คู่เบส ที่แตกต่างกัน (GAG →GCG) ส่งผลให้มีการแปลรหัสเป็นกรดอะมิโนที่แตกต่างกันไปจากเดิม (E198A)

3. ตรวจสอบการดื้อยาแบบข้ามกลุ่มของเชื้อรา

จากการทดสอบความต้านทานข้ามต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI พบว่าหลังการปลูกเชื้อ 3 วัน สารเคมี pyraclostrobin มีศักยภาพในการควบคุมการเจริญเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้น 10 mg/L ไม่พบการเจริญของเส้นใย ในขณะที่สารเคมี azoxystrobin และ kresoxim-methyl นั้น พบว่าที่ความเข้มข้นสูงขึ้น (100 mg/L) ไม่พบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา แต่หลังการปลูกเชื้อ 7 วัน เชื้อรา *C. siamense* สามารถเจริญได้ในทุกความเข้มข้นของสารเคมีทั้ง 3 ชนิด (ความเข้มข้นสูงสุด 1,000 mg/L) สำหรับสารเคมีในกลุ่ม DMI นั้น พบว่าหลังการปลูกเชื้อ 3 วัน สารเคมีทั้ง 3 ชนิดสามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดี โดยไม่พบการเจริญของเส้นใยเชื้อราที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 mg/L (ความเข้มข้นต่ำสุด) และเมื่อระยะเวลาผ่านไป 7 วัน เชื้อราสามารถเจริญและสร้างเส้นใยได้ที่ความเข้มข้น 10 mg/L และ 100 mg/L ซึ่งเมื่อตรวจสอบจากอัตราแนะนำของสารเคมีที่ระบุในฉลาก พบว่าความเข้มข้นดังกล่าวยังเป็นความเข้มข้นที่ต่ำกว่าอัตราแนะนำ

Table 1 Efficiency of different fungicide classes to control benzimidazole-resistant *Colletotrichum siamense* isolate RB006

Fungicide classes	MIC assay (mg/L)*	
	3 days	7 days
<i>Benzimidazole</i>		
Benomyl	>1,000	>1,000
Carbendazim	>1,000	>1,000
Thiophanate methyl	>1,000	>1,000
<i>QoI</i>		
Azoxystrobin	100	>1,000
kresoxim-methyl	100	>1,000
pyraclostrobin	10	>1,000
<i>DMI</i>		
Cyproconazole	0.1	10
Difenoconazole	0.1	100
Prochloraz	0.1	10

*วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำ



Figure 1 Colony of *C. siamense* isolate RB006 on PDA culture contained with different fungicides.



วิจารณ์ผล

จากการตรวจสอบเชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 โดยอาศัยลักษณะทางฟิโนไทป์และข้อมูลทางอนุชีวโมเลกุล พบว่าเชื้อรานี้มีความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole โดยสามารถเจริญได้บนอาหารที่ผสมสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole ในความเข้มข้นที่สูง และมีการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่ง codon 198 สอดคล้องกับรายงานของ Nalumpang *et al.* (2010) และ Poti *et al.* (2020) ที่พบว่าเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* ที่ต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole จะมีการเปลี่ยนแปลงของ codon ที่ 198 (E198A) ส่งผลให้การแปรรหัสจาก glutamic acid เปลี่ยนเป็น alanine ซึ่งสัมพันธ์กับเชื้อราอ้างอิง (U14138) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่อ่อนแอ (Buhr and Dickman, 1993) สำหรับการแสดงความต้านทานข้ามต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI พบว่าสารเคมีทั้ง 3 ชนิด ไม่สามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 ที่ต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole ได้ สอดคล้องกับรายงานของ Tachiro *et al.* (2019) ที่ศึกษาการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของแพร่ในประเทศญี่ปุ่น และพบว่าการใช้สารเคมีในกลุ่ม benzimidazole ส่งผลให้เชื้อราเกิดความต้านทานต่อสารเคมีกลุ่มนี้ได้ง่าย ในขณะเดียวกันเชื้อราที่ต้านทานต่อสารในกลุ่มดังกล่าวยังมีแนวโน้มที่จะแสดงความต้านทานข้ามต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI ได้เช่นกัน สำหรับสารเคมีในกลุ่ม DMI นั้นพบว่าสามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดี สอดคล้องกับรายงานของ FRAC (2020) ที่กล่าวว่าสารเคมีในกลุ่ม DMI ส่งผลให้เชื้อราเกิดความต้านทานต่อสารเคมีในระดับต่ำ แม้จะมีรายงานเรื่องความต้านทานข้าม แต่ความต้านทานข้ามนั้นเกิดเพียงความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่มเดียวกันเท่านั้น ไม่ได้ส่งผลต่อการกระตุ้นให้เกิดความต้านทานข้ามต่อสารเคมีกลุ่มอื่นๆ แต่อย่างใด ดังนั้นการเลือกใช้สารเคมีเพื่อการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของมะม่วง ควรเลือกใช้สารเคมีที่หลากหลายกลุ่ม ทั้งนี้เพื่อลดการเกิดความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมี ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการใช้สารเคมีในอนาคตได้

สรุป

เชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 ที่แสดงความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole มีแนวโน้มที่จะต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI ได้เช่นกัน เนื่องจากเป็นสารเคมีในรูปแบบที่มีกลไกการออกฤทธิ์แบบ single-site สำหรับสารเคมีในกลุ่ม DMI นั้น ยังคงพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. siamense* ได้ แต่มีข้อควรระวังเรื่องการใช้สารกลุ่มเดียวกัน เนื่องจากเชื้อราชนิดนี้เกิดความต้านทานข้ามกับสารเคมีในกลุ่ม DMI ได้เช่นกัน

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กทม. และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการราวิทยา ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่ และอุปกรณ์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- รติยา พงศ์พิสุทธิ และชัยณรงค์ รัตนกริชากุล. 2563. โรคกิ่งแห้งของทุเรียน. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.
- Buhr, T. L. and M.B. Dickman. 1993. Isolation and characterization of a β -tubulin-encoding gene from *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*. Gene 124(1): 121-125. doi:[https://doi.org/10.1016/0378-1119\(93\)90771-T](https://doi.org/10.1016/0378-1119(93)90771-T)
- Devi, P., M. Paramasivam and V. Prakasam. 2014. Degradation pattern and risk assessment of carbendazim and mancozeb in mango fruits. Environmental Monitoring and Assessment 187: 1 – 6.
- Fungicide resistance action committee (FRAC). 2020. FRAC Code List©*2020: Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action (including FRAC Code numbering). [Online]. Available source: https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2020-final.pdf?sfvrsn=8301499a_2. (February 11, 2021).
- Ma, Z. and T. Michailides. 2005. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. Crop Protection 24: 853-863. doi:10.1016/j.cropro.2005.01.011
- Mahoney M.J. and R. Tattar. 1980. Identification, etiology, and control of *Euonymus fortunei* anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Disease 64: 854-856. doi:10.1094/PD-64-854.
- Nalumpang, S., Y. Miyamoto, C. Miyake, Y. Izumi, K. Akitmitsu and P. Kongtragoul. 2010. Point mutations in the beta-tubulin gene conferred carbendazim-resistant phenotypes of *Colletotrichum gloeosporioides* causing 'Nam Dok Mai' mango anthracnose. Journal of Agricultural Technology 6(2): 365-378.
- Peres, N. A. R., N.L. Souza, T.L. Peever and L.W. Timmer. 2004. Benomyl Sensitivity of Isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from Citrus. Plant Disease 88(2): 125-130. doi:10.1094/PDIS.2004.88.2.125
- Pongpisutta, R., W. Winyarat and C. Rattanakeetakul. 2013. RFLP identification of *Colletotrichum* species isolated from chilli in Thailand. Acta Horticulturae 973: 181-186. doi:10.17660/ActaHortic.2013.973.24
- Poti, T., M. Kanyarat, C. Ratchadawan, A. Hatthaya, A. Kazuya and S. Nalumpang. 2020. Detection and molecular characterization of carbendazim resistant *Colletotrichum truncatum* Isolates causing anthracnose of soybean in Thailand. Journal of phytopathology 168(5): 1 – 12.
- Prakash, O. and B. K. Pandey. 2000. Control of mango anthracnose by hot water and fungicides treatment. Indian Phytopathology 53: 92 – 94.
- Tashiro, N., I. Youichi, N. Mayumi, H. Watanabe and N. Mizuho. 2019. Emergence of benzimidazole- and strobilurin-quinone outside inhibitor-resistant strains of *Colletotrichum gloeosporioides* sensu lato, the causal fungus of Japanese pear anthracnose, and alternative fungicides to resistant strains. Plant Diseases - Current Threats and Management Trends, Snjezana Topolovec-Pintaric, IntechOpen DOI: 10.5772/intechopen.90018.

PHTIC
PERDO
การประชุมวิชาการ
วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวแห่งชาติ ครั้งที่ 20
20th National Postharvest Technology Conference
"นวัตกรรมหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อการยกระดับเกษตรกรไทยสู่สากล"
10 - 11 สิงหาคม 2566
ณ โรงแรมพูลแมน ขอนแก่น ราชา ออคิด จ.ขอนแก่น

การตรวจสอบเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินโดยไพรเมอร์ afl R

ชัยณรงค์ รัตนกริฑากุล^{1,2} สรรเสริญ รังสุวรรณ¹ รัตติยา พงศ์พิสุทธิธรา^{1,2} และ พิสุทธิ เชี่ยวมนิ¹

บทคัดย่อ

Aspergillus flavus เป็นเชื้อราที่มีความสำคัญต่อคุณภาพผลผลิตทางการเกษตรที่พบในระยะหลังการเก็บเกี่ยว โดยเชื้อราสามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินสะสมในธัญพืชและมีอันตรายต่อผู้บริโภค ในธรรมชาติเชื้อรา *A. flavus* บางสายพันธุ์ไม่สามารถสร้างสารพิษ ดังนั้นการตรวจสอบเชื้อราเพื่อยืนยันการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินจึงมีความจำเป็นสำหรับประเมินคุณภาพผลผลิตเกษตรและการปนเปื้อนก่อนการนำไปผลิตเป็นผลผลิตอาหารตามระบบอุตสาหกรรม จากการรวบรวมเชื้อรา *A. flavus* ที่แยกจากข้าวโพดอุตสาหกรรมในพื้นที่จังหวัดนครปฐม พบเชื้อรา *A. flavus* แบ่งออกเป็น กลุ่มที่ 1 เชื้อรา *A. flavus* มีการสร้างเม็ด sclerotium ปริมาณมาก สร้าง conidial head ปริมาณน้อย (AF1) และกลุ่มที่ 2 เชื้อรา *A. flavus* ที่มีการสร้าง conidial head ในปริมาณมาก ไม่พบการสร้างเม็ด sclerotium หรือพบในปริมาณที่น้อย (AF2) การยืนยันเชื้อรา *A. flavus* สามารถใช้อาหาร *Aspergillus flavus* and *parasiticus* agar (AFPA) โดยพบเฉพาะเชื้อรา *A. flavus* ทั้งสองกลุ่มมีสีส้มใต้โคโลนี ในการตรวจสอบการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินสามารถเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร Yeast extract sucrose agar (YES) และรมด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 25% บนฝาเพลท พบเชื้อราในกลุ่ม AF1 ที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินมีการเปลี่ยนแปลงสีใต้โคโลนีเป็นสีชมพู และเมื่อนำมายืนยันการตรวจสอบทางชีวโมเลกุลด้วยไพรเมอร์ afl R (aflatoxin gene) พบเชื้อรา *A. flavus* ให้แถบ DNA ขนาด 500 bp *A. niger* พบขนาด 700 bp และ *Fusarium* sp. พบขนาด 1200 bp ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การตรวจติดตามเชื้อรา *A. flavus* ในระบบการตรวจรับสินค้าเกษตรสามารถใช้ไพรเมอร์ afl R เข้าร่วมการตรวจ ในขณะที่การตรวจโดยอาหาร YES สามารถแยกโคโลนีของเชื้อรา *A. flavus* ที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน ทั้งนี้ต้องพิจารณาการสร้างสีใต้โคโลนีของเชื้อราที่รบกวนการตรวจสอบ

คำสำคัญ: อะฟลาทอกซิน การติดตามด้วยพีซีอาร์ อาหารปลอดภัย

¹ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

²ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กทม. 10400

ผลของ Indole-3-Acetic Acid จาก แบคทีเรีย (*Micrococcus yunnanensis*) ต่ออายุการปักแจกันของดอกกล้วยไม้ สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน

อัญชิสา อินอิ¹ สาวิตร ตระกูลนำเลื่อมใส^{2,3} และ อัมณชัญญ์ มงคลชัยพฤกษ์^{1,4}



บทคัดย่อ

กล้วยไม้ตัดดอกสกุลหวายเป็นที่นิยมสำหรับการส่งออก แต่เนื่องด้วยปัญหาสำคัญคือมีอายุการปักแจกันสั้น ซึ่งเกิดจากการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวที่ไม่เหมาะสม จึงมีการใช้เทคโนโลยีสารละลายสำหรับยืดอายุการปักแจกัน สาร Indole-3-Acetic-Acid (IAA) จัดเป็นสารเคมีชนิดหนึ่งที่ใช้ในสารละลายปักแจกัน ปัจจุบัน IAA สามารถผลิตได้จากแบคทีเรียและมีการใช้ประโยชน์จาก IAA ที่ผลิตได้จากแบคทีเรีย เนื่องจากสามารถผลิตได้ง่าย ทนต่อแสง สลายตัวช้า และปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบผลของ IAA จากแบคทีเรีย *Micrococcus yunnanensis* ต่อการเสื่อมสภาพและอายุการปักแจกันของดอกกล้วยไม้ตัดดอกสกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน (*Dendrobium* cv. Khao Sanan) โดยตัดแยกดอกตูมและดอกบาน แห้งลงในสารละลายปักแจกันที่มี IAA จากแบคทีเรีย ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 0.05 0.1 0.3 0.5 และ 1 ppm จากนั้นวางภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ความเข้มแสง $4 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80 เปอร์เซ็นต์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเสื่อมสภาพทุก ๆ สองวัน จากผลการศึกษาพบว่า IAA จากแบคทีเรีย ความเข้มข้น 0.5 ppm เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการยืดอายุการปักแจกันของดอกบาน โดยดอกบานมีอาการคว่ำและการเปลี่ยนแปลงสีลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และสามารถยืดอายุการปักแจกันของดอกบานได้นาน 24.3 ± 1.0 วัน ขณะที่ชุดควบคุมมีอายุการปักแจกันน้อยกว่า คือ 18.0 ± 1.0 วัน ($p \leq 0.01$) อย่างไรก็ตาม IAA จากแบคทีเรียไม่มีผลต่อการยืดอายุการปักแจกันของดอกตูม

คำสำคัญ: การเสื่อมสภาพ อายุการปักแจกัน ไอเอเอจากแบคทีเรีย

¹ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

²ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

³วิทยาลัยบูรณาการศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

⁴ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กทม. 10400

ผลของระยะการบานของดอกและน้ำตาลต่อการเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานินและลดความไวต่อเอทิลีนในกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลูหลังการเก็บเกี่ยว

ผศ. ดร. มณฑนา บัวทอง

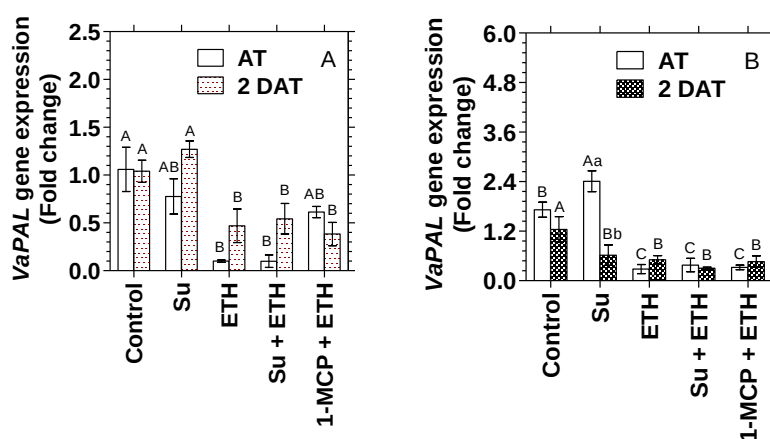
คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี



แวนด้าพันธุ์สันทรายบลู (*V. crimson Glory* x *V. coerulea*) มีการผลิตเอทิลีนในปริมาณน้อยมาก ประมาณ $0.3 \mu\text{L kg}^{-1}\text{FW h}^{-1}$ ในระหว่างวันที่ 3-11 ของการปักแจกัน แต่มีความไวต่อเอทิลีนสูง เนื่องจากการให้เอทิลีนจากภายนอกที่ความเข้มข้น 1-10 ppm นาน 24 ชั่วโมง ทำให้ดอกกล้วยไม้มีการตอบสนองต่อเอทิลีนอย่างชัดเจน คือ เกิดอาการซีดจางของสีกลีบดอกและเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีขาว (Color bleaching) ปริมาณแอนโทไซยานินในกลีบดอกลดลงเกิดอาการดอกฟุบ (Sleepiness) เนื่องมาจากสูญเสียน้ำ และมีอายุการปักแจกันสั้นลง 50% อาการเหล่านี้มีผลต่อคุณภาพของดอกและสามารถใช้เป็นตัวกำหนดการสิ้นสุดอายุการปักแจกันดอก (Khunmuang *et al.*, 2019a, b) มีรายงานว่า น้ำตาลมีผลกับการสังเคราะห์เอทิลีนและการส่งสัญญาณในดอกไม้ที่มีความไวต่อเอทิลีน (Pun and Ichimura, 2003; van Doorn, 2004; Hoebericht *et al.*, 2007; Yuan *et al.*, 2012) ในดอกคาร์เนชั่น น้ำตาลสามารถยับยั้งเอทิลีนโดยไปลดปริมาณ 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic-acid (ACC) และกิจกรรมของเอนไซม์ Acetyl-CoA synthetase (ACS) และ 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACO) จึงชะลอการเสื่อมสภาพของดอกได้ (Verlinden and Garcia, 2004) น้ำตาลยังเป็นตัวเพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แอนโทไซยานินและการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ (Reproductive organ) เช่น ดอกไม้ ดังนั้น การเพิ่มความเข้มข้น และปฏิกิริยา Phosphorylation ของน้ำตาลโดยเอนไซม์ Hexokinase จึงมีบทบาทสำคัญในการพัฒนาสีกลีบดอก (Weiss, 2000) การให้น้ำตาลจากภายนอกยังสามารถกระตุ้นระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในดอกไม้ได้ เช่น น้ำตาลชักนำให้มีการแสดงออกของยีน Chalcone synthase (CHS) ที่ได้จากกลีบดอกพิทูเนียในใบ *Arabidopsis* ตัดต่อพันธุกรรม (Tsukaya *et al.*, 1991)

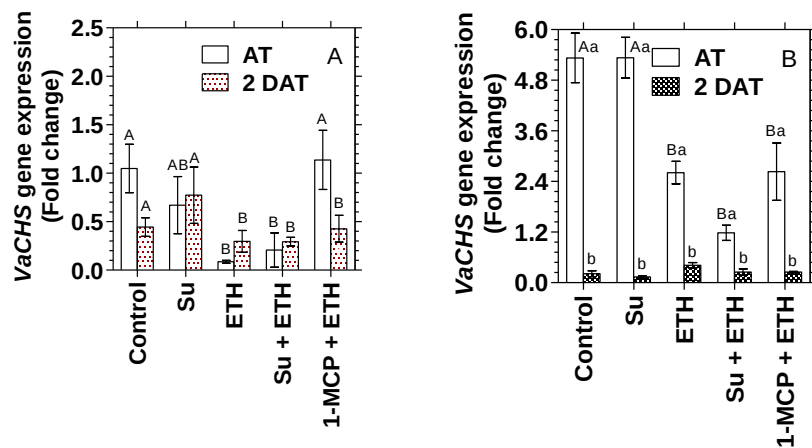


จากการศึกษา พบว่า การให้น้ำตาลแก่ดอกกล้วยไม้แล้วรมด้วยเอทิลีนไม่ได้ช่วยลดความรุนแรงของการตอบสนองต่อเอทิลีนและการเปลี่ยนสีของกลีบดอก แต่การให้น้ำตาลซูโครส แล้วรมด้วย 1-MCP ก่อนได้รับเอทิลีนจากภายนอกกระตุ้นให้ดอกกล้วยไม้มีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่เอทิลีนจากภายนอกส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินในดอกกล้วยไม้ลดลงประมาณ 1.5-2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่แสดงรูป) เมื่อวิเคราะห์การแสดงออกยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน พบว่า ระดับการแสดงออกยีน *VaPAL* ในดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลู ในระยะดอกบานสูงกว่าในระยะดอกแย้ม การปักแช่ดอกกล้วยไม้ในน้ำตาลซูโครสสามารถชักนำให้มีระดับการแสดงออกของยีน *VaPAL* ในระยะดอกแย้มสูงกว่าชุดควบคุม และมีการแสดงออกยีน *VaPAL* ในระยะดอกบานเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 หลังทริทเมนต์ (2 DAT) (รูปที่ 1) โดย PAL เป็นเอนไซม์ตัวแรกและเป็น Rate-limiting enzyme ในวิถีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน อีกทั้ง PAL ยังช่วยต้านทานต่อความเครียด และช่วยให้การทำงานต่าง ๆ ภายในโครงสร้างต้นพืชทำงานได้อย่างเป็นปกติ ระดับการแสดงออกของยีน *PAL* นั้นสัมพันธ์กับการสะสมแอนโทไซยานินส่วนต่าง ๆ *PAL* มีการแสดงออกมากขึ้นในพืชตระกูล *Malus* และ *Allium cepa* ในระยะเจริญ (Liang et al., 2014; Sun et al., 2012) ผลการศึกษานี้ยังสอดคล้องกับรายงานของ Vitrac et al. (2000) ที่พบว่า การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย *Vitis vinifera* ในซูโครสสามารถชักนำให้มีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น ในเรดิสสีขาวพันธุ์ ‘Incicle’ ยีนที่ตอบสนองต่อน้ำตาลซูโครสมีเพียงยีน *PAL* และ *CHS* ส่วนยีน *CHI*, *F3H*, *DFR* และ *ANS* ถูกยับยั้งหรือถูกกด จึงทำให้มีการสะสมแอนโทไซยานินน้อย (Hara et al., 2004) อย่างไรก็ตามเอทิลีนจากภายนอกกระตุ้นให้ระดับการแสดงออกของยีน *VaPAL* ลดลงอย่างรวดเร็วทั้งในระยะดอกแย้มและดอกบาน ถึงแม้ว่าระดับการแสดงออกยีน *VaPAL* จะเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 หลังทริทเมนต์ (2 DAT) การให้น้ำตาลแก่ดอกกล้วยไม้แล้วรมด้วยเอทิลีนไม่ได้ช่วยชะลอการลดลงของระดับการแสดงออกของยีน *VaPAL* ในขณะที่ 1-MCP ช่วยชะลอการลดลงของยีน *VaPAL* ในระยะดอกบานเท่านั้น



รูปที่ 1 การแสดงออกของยีน *VaPAL* ในกลีบดอกระยะดอกบาน (A) และระยะดอกบานเต็มที่ (B) ของดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลู โดยอักษรตัวใหญ่บนแท่งกราฟเปรียบเทียบวิธีการ/อักษรตัวเล็กเปรียบเทียบระยะเวลาหลังจากการได้รับเอทิลีนจากภายนอก (AT = After treatment, DAT = Day after treatment)

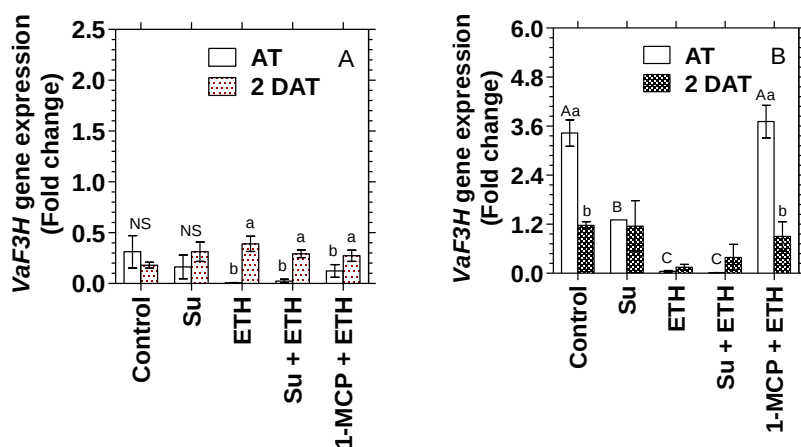
สำหรับยีน *VaCHS* มีการแสดงออกในดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลูระยะดอกบานสูงกว่าระยะดอกแย้มประมาณ 5-7 เท่า โดยน้ำตาลซูโครสและ 1-MCP มีรูปแบบการแสดงออกของยีน *VaCHS* ที่คล้ายคลึงกับชุดควบคุมในดอกกล้วยไม้ทั้ง 2 ระยะการบาน แต่ระดับการแสดงออกของยีน *VaCHS* ในระยะดอกบานลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 2 หลังทริทเมนต์ (2 DAT) ในชุดควบคุม ดอกกล้วยไม้ที่ได้รับน้ำตาลซูโครสเพียงอย่างเดียว และดอกกล้วยไม้ที่รม 1-MCP และได้รับเอทิลีนจากภายนอก (รูปที่ 2) โดยทั่วไป การสังเคราะห์แอนโทไซยานินที่ถูกชักนำโดยน้ำตาลซูโครสจะเกิดขึ้นผ่านยีน *CHS* และ *ANS* ใน Hypocotyl ของแรดซิสแดงพันธุ์ 'Comet' พบว่า อัตราส่วนการแสดงออกของยีน *CHS:ANS* สูงเป็น 3 เท่า ภายใน 6 วันหลังจากปลูก (Hara *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตาม เอทิลีนจากภายนอกชักนำให้ยีน *VaCHS* ในระยะดอกแย้มและระยะดอกบานลดลงทันทีหลังจากทริทเมนต์ (AT) และการให้น้ำตาลแก่ดอกกล้วยไม้แล้วรมด้วยเอทิลีนมีรูปแบบการแสดงออกของยีน *VaCHS* ลดลงเช่นเดียวกับการดอกกล้วยไม้ที่ได้รับเอทิลีนเพียงอย่างเดียว



รูปที่ 2 การแสดงออกของยีน *VaCHS* ในกลีบดอกระยะดอกบาน (A) และระยะดอกบานเต็มที่ (B) ของดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลู โดยอักษรตัวใหญ่บนแท่งกราฟเปรียบเทียบวิธีการ/อักษรตัวเล็กเปรียบเทียบระยะเวลาหลังจากการได้รับเอทิลีนจากภายนอก (AT = After treatment, DAT = Day after treatment)

F3H ถอดรหัสเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา Hydroxylation ของ Flavonone ที่ตำแหน่ง C3 ให้เปลี่ยนเป็น Dihydroflavonol โดย *F3H* นี้ยังเป็นเอนไซม์หลักที่จุดแตกแขนง (Branch point) ของวิถีการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์ สามารถทำงานได้อย่างอิสระ แต่บางครั้ง *F3H* ก็ทำงานร่วมกับเอนไซม์ *CHS* และ *CHI* ที่อยู่ต้นวิถีเพื่อสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ถัดลงมา (Downstream product) (Owens *et al.*, 2008) จากการศึกษา พบว่า ยีน *VaF3H* มีระดับการแสดงออกต่ำกว่ายีน *VaCHS* และมีการแสดงออกในระยะดอกบานสูงกว่าในระยะดอกแย้ม และการให้น้ำตาลแก่ดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลูไม่มีผลต่อระดับการแสดงออกของยีน *VaF3H* ในระยะดอกแย้ม แต่กลับมีการแสดงออกที่ลดลงประมาณ 3 เท่าในระยะดอกบานเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยชุดควบคุมและ 1-MCP มีระดับการแสดงออกของยีน *VaF3H* ในระยะดอกบานใกล้เคียงกัน เอทิลีนจากภายนอกชักนำให้ระดับ

การแสดงออกของยีน *VaF3H* ลดลงอย่างรวดเร็วประมาณ 30-60 เท่า ในดอกกล้วยไม้ทั้ง 2 ระยะ ถึงแม้ว่าระดับการแสดงออกของยีน *VaF3H* จะเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 หลังทรีทเมนต์ และยังพบว่า การให้น้ำตาลแก่ดอกกล้วยไม้แล้วรมด้วยเอทิลีนมีรูปแบบการแสดงออกของยีน *VaF3H* ลดลงเช่นเดียวกับการดอกกล้วยไม้ที่ได้รับเอทิลีนเพียงอย่างเดียว (รูปที่ 3) แสดงให้เห็นว่า น้ำตาลไม่ได้ช่วยชะลอการลดลงของยีน *VaF3H* ในดอกกล้วยไม้ที่ถูกชักนำโดยเอทิลีนจากภายนอก

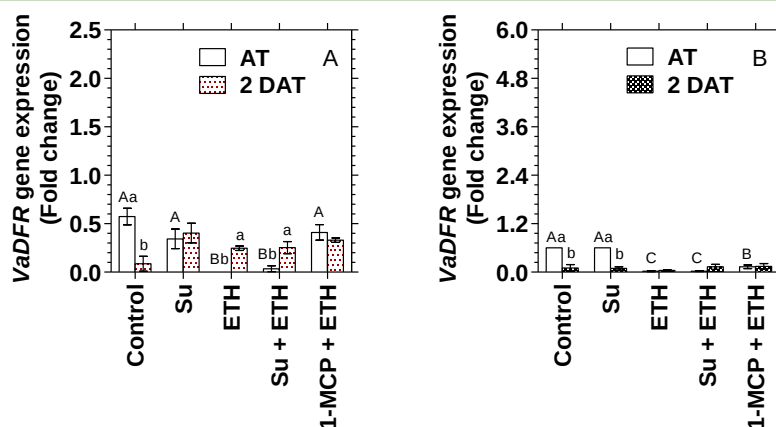


รูปที่ 3 การแสดงออกของยีน *VaF3H* ในกลีบดอกระยะดอกบาน (A) และระยะดอกบานเต็มที่ (B) ของดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สนทรายบลู โดยอักษรตัวใหญ่บนแท่งกราฟเปรียบเทียบวิธีการ/อักษรตัวเล็กเปรียบเทียบระยะเวลาหลังจากการได้รับเอทิลีนจากภายนอก (AT = After treatment, DAT = Day after treatment)

ยีน DFR เป็นเอนไซม์หลักในวิถีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในพืชและมีบทบาทในการพัฒนาสีของดอกไม้ DFR จัดอยู่ในกลุ่ม Reduced coenzyme II (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADPH)-dependent short-chain reductase ถอดรหัสโดย Single gene หรือ Mutiple genes (ยีนหลายคู่ที่ทำงานร่วมกัน) (Petit *et al.*, 2007) จากการศึกษา พบว่า ยีน *VaDFR* มีระดับการแสดงออกที่ต่ำกว่ายีน *VaPAL*, *VaCHS* และ *VaF3H* และมีการแสดงออกในระยะดอกแย้มสูงกว่าในระยะดอกบาน แต่เพิ่มขึ้นในวันที่ 2 หลังทรีทเมนต์ ในดอกกล้วยไม้ทั้ง 2 ระยะ การให้น้ำตาลแก่ดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สนทรายบลูไม่มีผลต่อระดับการแสดงออกของยีน *VaDFR* เมื่อเปรียบเทียบกับดอกกล้วยไม้ในชุดควบคุม อย่างไรก็ตาม 1-MCP สามารถชะลอระดับการแสดงออกของยีน *VaDFR* ที่ลดลงในระยะดอกแย้มเท่านั้น และยังพบว่า ดอกกล้วยไม้ที่ได้รับเอทิลีนจากภายนอกไม่พบการแสดงออกของยีน *VaDFR* ในระยะดอกแย้ม และมีเพียงเล็กน้อยในระยะดอกบาน ถึงแม้ว่าระดับการแสดงออกของยีน *VaDFR* จะเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 หลังทรีทเมนต์ ก็ตาม เช่นเดียวกับการให้น้ำตาลแก่ดอกกล้วยไม้แล้วรมด้วยเอทิลีน



ซึ่งมีรูปแบบการแสดงออกของยีน *VaDFR* คล้ายคลึงกับดอกกล้วยไม้ที่ได้รับเอทิลีนเพียงอย่างเดียว (รูปที่ 4) แสดงให้เห็นว่า น้ำตาลไม่ได้ช่วยชะลอการลดลงของยีน *VaDFR* ในดอกกล้วยไม้ที่ถูกชักนำโดยเอทิลีนจากภายนอก ใน *Arabidopsis* ที่ปลูกในสภาพที่มีแสง การลดลงของแอนโทไซยานินที่ถูกชักนำโดยเอทิลีนจะถูกควบคุมที่ระดับทรานสคริปชัน โดยปริมาณแอนโทไซยานินจะสัมพันธ์กับระดับการแสดงออกของยีนโครงสร้าง เช่น *DFR*, *LDOX* และ *UF3GT* ซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมยีนควบคุม เช่น *bHLH TFs* (*GL3* และ *TT8*), *R2R3-MYB*, *PAP1* และ *R3-MYB*, *MYBL2* (Dare *et al.*, 2008) ดังนั้น อาการฟอกขาวของสีกลีบดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลูหลังจากได้รับเอทิลีนจากภายนอก มีความสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานินที่ลดลง และระดับการแสดงออกของยีน *VaF3H* ลดลงอย่างรวดเร็วประมาณ 3.5 เท่า ในระยะดอกแย้ม และ 2.0 เท่า ในระยะดอกบาน อีกทั้ง ยีน *VaDFR* ที่ไม่พบการแสดงออกเลย หลังจากได้รับเอทิลีน แสดงให้เห็นว่า *VaF3H* และ *VaDFR* อาจจะเป็นยีนหลักในการควบคุมสีดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลู อย่างไรก็ตาม Khunmuang *et al.* (2019b) รายงานว่า เอทิลีนจากภายนอกที่ชักนำให้ปริมาณแอนโทไซยานินในกลีบดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลูลดลงอย่างรวดเร็ว อาจจะเป็นผลมาจากการสลายตัวของแอนโทไซยานินมากกว่าการยับยั้งการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน และการสลายตัวของแอนโทไซยานินส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีกลีบดอก (Bleaching) ซึ่งเกิดขึ้นก่อนอาการเสื่อมสภาพต่าง ๆ ในดอกไม้ ในการศึกษาี้ แสดงให้เห็นว่า เอทิลีนจากภายนอกที่ชักนำให้ปริมาณแอนโทไซยานินในกลีบดอกลดลงอย่างรวดเร็ว นั้นน่าจะเกี่ยวข้องกับทั้ง 2 กระบวนการ คือ การสลายตัวของแอนโทไซยานิน และการยับยั้งการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในระดับทรานสคริปชันด้วย การใช้ 1-MCP ก่อนได้รับเอทิลีนจากภายนอก สามารถช่วยชะลอการเปลี่ยนสีกลีบดอกในกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลู ได้ Khunmuang *et al.* (2019a, b) รายงานว่า 1-MCP สามารถยืดอายุการปักแจกันของกล้วยไม้ได้ประมาณ 1-2.5 วัน โดยยืดอายุการปักแจกันของกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์ 'Pure wax' ได้ร้อยละ 20 และพันธุ์ 'Pachara Delight' และ 'Sansai Blue' ได้ร้อยละ 10 เนื่องจาก 1-MCP เป็นสารยับยั้งการทำงานของเอทิลีน ทำหน้าที่แย่งจับกับตัวรับเอทิลีน (Ethylene receptor) แบบไม่ผันกลับ ทำให้เอทิลีนไม่สามารถเข้าจับกับตัวรับเอทิลีนได้ จึงไม่เกิดการโอนถ่ายสัญญาณและตอบสนองต่อเอทิลีน (Seglie *et al.*, 2011; Daneshi Nergi and Ah-madi, 2014)



รูปที่ 4 การแสดงออกของยีน Dihydroflavonol 4-reductase (*VaDFR*) ในกลีบดอกระยะดอกบาน (A) และระยะดอกบานเต็มที่ (B) ของดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบลู โดยอักษรตัวใหญ่บนแท่งกราฟ เปรียบเทียบวิธีการ/อักษรตัวเล็กเปรียบเทียบระยะเวลาหลังจากการได้รับเอทิลีนจากภายนอก (AT = After treatment, DAT = Day after treatment)

เอกสารอ้างอิง

- Daneshi Nergi, M.A. and Ahmadi, N. 2014. Effects of 1-MCP and ethylene on postharvest quality and expression of senescence-associated genes in cut rose cv. Sparkle. *Scientia Horticulturae* 166 : 78-83.
- Dare, A.P., R.J. Schaffer, K. Lin-Wang, A.C. Allan and R.P. Hellens. 2008. Identification of a cis-regulatory element by transient analysis of co-ordinately regulated genes. *Plant Methods* 4 : 17.
- Hara, M., K. Oki, K. Hoshino and T. Kuboi. 2004. Effects of sucrose on anthocyanin production in hypocotyl of two radish (*Raphanus sativus*) varieties. *Plant Biotechnology Journal* 21: 401-405.
- Hoeberichts, F.A., W.G. van Doorn, O. Vorst, R.D. Hall and M.F. van Wordragen. 2007. Sucrose prevents up-regulation of senescence-associated genes in carnation petals. *Journal of Experimental Botany* 58 : 2873-2885.
- Khunmuang, S., S. Kanlayanarat, C. Wongs-Aree, S. Meir, S. Philosoph-Hadas and M. Buanong. 2019a. Variability in the response to ethylene of three cultivars of cut *Vanda* orchid flowers. *Acta Horticulturae* 1262: 241-249.
- Khunmuang, S., S. Kanlayanarat, C. Wongs-Aree, S. Meir, S. Philosoph-Hadas, M. Oren-Shamir, R. Ovadia and M. Buanong. 2019b. Ethylene induces a rapid degradation of petal anthocyanins in cut *Vanda* 'Sansai Blue' orchid flowers. *Frontiers in Plant Science* 10: 1-13.

- Liang, Y., X.Y. Liu, H.W. Zhang and W. Tan. 2014. Cloning and expression analysis of an anthocyanin bio-synthesis-related gene (*AcPAL1*) in onion (*Allium cepa* L.). *Journal of Agriculture Biotechnology* 222: 47-54.
- Owens, D.K., K.C. Crosby, J. Runac, B.A. Howard and B.S. Winkel. 2008. Biochemical and genetic characterization of *Arabidopsis* flavanone 3 β -hydroxylase. *Plant Physiology and Biochemistry* 46 : 833-843.
- Pun, U.K. and K. Ichimura. 2003. Role of sugars in senescence and biosynthesis of ethylene in cut flowers. *The Japan Agricultural Research Quarterly* 37 : 219-224.
- Petit, P., T. Granier, B.L. d'Estaintot, C. Manigand, K. Bathany, J.M. Schmitter, V. Lauvergeat, S. Hamdi and B. Gallois. 2007. Crystal structure of grape dihydroflavonol 4-reductase a key enzyme in flavonoid biosynthesis. *Journal of Molecular Biology* 368: 1345-1357.
- Seglie, L., K. Martina, M. Devecchi, C. Roggero, F. Trotta. and V. Scariot. 2011. The effect of 1-MCP in cyclodextrin-based nanospronges to improve the vase life of *Dianthus caryophyllus* cut flowers. *Postharvest Biology and Technology* 59(2): 200-205.
- Sun, B.L., Q.U. Bai-Hong and L.I. Wei. 2012. Cloning and expression analysis of gene fragments of related fruit-coloring enzymes in Pingguoli. *Journal of Jilin Agricultural University* 34: 423-427.
- Tsakaya, H., T. Ohshima, S. Naito, M. Chino and Y. Komeda. 1991. Sugar-dependent expression of the *CHS-A* gene for chalcone synthase from petunia in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 97: 1414-1421.
- van Doorn, W.G. 2004. Is petal senescence due to sugar starvation? *Plant Physiology* 134: 35-42.
- Verlinden, S. and J.J.V. Garcia. 2004. Sucrose loading decreases ethylene responsiveness in carnation (*Dianthus caryophyllus* cv. White Sim) petals. *Postharvest Biology and Technology* 31 : 305-312.
- Vitrac, X., F. Larronde, S. Krisa, A. Decendit, G. Deffieux and J.M. Merillon. 2000. Sugar sensing and Ca⁺²-calmodulin requirement in *Vitis vinifera* cells producing anthocyanins. *Phytochemistry* 53: 659-665.
- Weiss, D. 2000. Regulation of flower pigmentation and growth: multiple signalling pathways control anthocyanin synthesis in expanding petals. *Physiologia Plantarum* 110 : 152-157.
- Yuan, Y., H.M. Qian, Y. Wang, Y.M. Shi and D.Q. Tang. 2012. Hormonal regulation of Freesia cut flowers and *FhACS1*. *Scientia Horticulturae* 143: 75-81.



การศึกษาปัจจัยในการทำงาน ที่มีผลต่อการใช้พลังงานของ เครื่องเกี่ยวนวดข้าว

รศ.ดร. สมโภชน์ สุดาจันทร์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

การทดสอบสมรรถนะการทำงานและกำลังที่เครื่องเกี่ยวนวดข้าวใช้สำหรับการเกี่ยวข้าวนาปรัง (พันธุ์ พิษณุโลก 2) สภาพต้นข้าวตั้ง ข้าวมีความชื้นตั้งแต่ 28.84-31.37%w.b. ความเร็วขับเคลื่อน 4-5 (เฉลี่ย 4.77) กิโลเมตรต่อชั่วโมง ความสามารถในการทำงานเฉลี่ยอยู่ในช่วง 8.06-8.61 ไร่ต่อชั่วโมง ความสูญเสียรวมเฉลี่ยร้อยละ 4.05-4.10 กำลังเฉลี่ยเครื่องเกี่ยวนวดข้าว 16.04-16.80 กิโลวัตต์ หรือพลังงานจำเพาะอยู่ในช่วง 1.95-2.00 กิโลวัตต์-ชั่วโมง/ไร่ หรือกิโลจูล/ไร่ ส่วนการเกี่ยวข้าวนาปี (พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105) สภาพต้นข้าวล้ม ข้าวความชื้นตั้งแต่ 23.-26.56%w.b.ความเร็วขับเคลื่อน 3-4 (เฉลี่ย 3.51) กิโลเมตรต่อชั่วโมง ทำให้ความสามารถในการทำงานเฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.13-4.68 ไร่ต่อชั่วโมง ความสูญเสียรวมเฉลี่ยร้อยละ 5.74-6.64 กำลังเฉลี่ยเครื่องเกี่ยวนวดข้าว 28.30-28.90 กิโลวัตต์ หรือพลังงานจำเพาะอยู่ในช่วง 6.18-6.98 กิโลวัตต์-ชั่วโมง/ไร่ หรือกิโลจูล/ไร่

ข้อมูลจากการทดสอบพบว่าเครื่องเกี่ยวนวดข้าวนาปรังใช้กำลังหรือพลังงานน้อยกว่าเกี่ยวข้าวนาปี ประมาณ อย่างน้อยเท่าตัว แสดงให้เห็นว่าหากใช้วัสดุที่มีน้ำหนักเบาในการสร้างตัวรถและต้นกำลังการขับเคลื่อนระบบ พลังงานที่ใช้ก็จะลดลง ช่วยลดน้ำหนักของเครื่องเกี่ยวนวดที่กดทับลงบนดิน โดยอาจประยุกต์ใช้ล้อยางแทนล้อดินตะขาบ ในอนาคตอาจออกแบบเครื่องเกี่ยวนวดให้มีการใช้งานเฉพาะข้าวนาปรังและข้าวนาปี



การทดสอบเครื่องเกี่ยวนวดในพื้นที่ข้าวนาปรัง



การทดสอบเครื่องเกี่ยวนวดในพื้นที่ข้าวนาปี



Postharvest Newsletter

ผู้อำนวยการศูนย์ฯ : ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร. ดนัย บุญยเกียรติ

คณะบรรณาธิการ : ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธยา รัตนพานนท์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เยาวลักษณ์ จันทร์บาง
รองศาสตราจารย์ ดร.อุษาวดี ชนสุต
ดร.ณัฐวิวัฒน์ เหมือนมานี่
ดร.ปาริชาติ เกียนจุมพล
นางจุฑานันท์ ไชยเรืองศรี

ผู้ช่วยบรรณาธิการ : นายบัณฑิต ชุมภูสัย
นางปุกนิภา จินดาสุน
นางสาวปิยภรณ์ จันจรมานิตย์
นางละอองดาว วาณิชสุขสมบัติ

ฝ่ายจัดพิมพ์ : นางสาวรัชกร ยาสังภาบุญ

สำนักงานบรรณาธิการ : ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
239 ถนนห้วยแก้ว ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ +66(0)5394-1448 โทรสาร +66(0)5394-1447
E-mail : phtic@phtnet.org



<https://www.phtnet.org>