

ผลของโอโซนในการควบคุมโรคผลเน่าของสาลี่และแอปเปิล
ที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน
**Effects of Ozone on Controlling Fruit Rot Diseases
of Imported Chinese Pear and Apple from China**

เทอดพันธ์ ธรรมรัตน์พงษ์ ^{1/}
Thurdpan Tummarattanapong ^{1/}

ABSTRACT

The effect of ozone to control *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. and *Penicillium* sp. which were isolated from fruit rot of imported chinese pear and apple from China during October 2015-January 2016. Completely Randomized Design (CRD) was employed in these studies. The mycelial growth of *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. and *Penicillium* sp. were not inhibit after exposure of ozone at 1 g/hr. for 0 (Control), 15, 30, 45 and 60 minutes. The same result was also shown when ozone gas at 1 g/hr. for 0, 15, 30, 45 and 60 min. was applied on chinese pear and apple. Whereas, application of ozonated water at 1 g/hr. for 30, 45 and 60 min., the spores germination of *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. and *Penicillium* sp after 24 h of incubation were 0.40-0.80, 0 and 0% respectively. Moreover, application of ozonated water at 1 g/hr. for 30, 45 and 60 min. also significantly inhibited fruit rot by 100% in chinese pear and apple after storage compared to the application of the ozonated water for 15 min. could inhibited fruit rot diseases only 0.52-3.31%

Key words: Ozone, Chinese pear, Apple, Fruit rot

^{1/} สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

^{1/} Agricultural Regulatory Office, Department of Agriculture, Bangkok 10900

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของโอโซนต่อการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. *Cladosporium* sp. and *Penicillium* sp. สาเหตุโรคผลเน่าซึ่งแยกได้จาก ตัวอย่างผลสาละและแอปเปิลที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ณ ด่านตรวจพืชเชียงใหม่ ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 - เดือนมกราคม 2559 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ โดยมีระยะเวลาในการรมโอโซน 0 (ชุดควบคุม), 15, 30, 45 และ 60 นาที เป็นกรรมวิธี ทำการทดสอบกับเส้นใยเชื้อรา ทั้ง 3 ชนิด บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextros Agar (PDA) ที่โอโซนความเข้มข้น 1 ก./ชม. พบว่าทุกช่วงเวลาการรมด้วยโอโซนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้ เช่นเดียวกับการรมโอโซนให้กับผลสาละและแอปเปิลที่ปลูกด้วยเชื้อรา พบว่าทุกช่วงเวลาที่ได้รับโอโซนไม่สามารถควบคุมโรคผลเน่าได้ ขณะที่การทดลองแช่สปอร์ของเชื้อรา *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. และ *Penicillium* sp. ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 1 ก./ชม. เป็นเวลา 30, 45 และ 60 นาที หลังบ่มเชื้อไว้ 24 ชม. พบการงอกของสปอร์เชื้อราทั้ง 3 ชนิด 0.4-0.8, 0 และ 0 % ตามลำดับ ขณะที่การแช่ผลสาละและผลแอปเปิลในน้ำโอโซนเป็นเวลา 30, 45 และ 60 นาที พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดโรคผลเน่าได้ถึง 100% มีความแตกต่างจากการแช่ผลไม้ในน้ำโอโซนนาน 15 นาที ที่สามารถยับยั้งการเกิดโรคผลเน่าได้เพียง 0.52-3.31% เท่านั้น

คำสำคัญ : โอโซน สาละ แอปเปิล โรคผลเน่า

คำนำ

สาละและแอปเปิลเป็นผลไม้ที่สามารถนำมารับประทานได้ทั้งผลสด และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น ขนมหวาน และเครื่องดื่มประเภทน้ำผลไม้ เนื่องจากสาละและแอปเปิลเป็นผลไม้ที่มีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ เบต้าแคโรทีน วิตามินซี และเส้นใยไฟเบอร์ชนิดละลายน้ำได้ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย (อุดมลักษณ์และคณะ, 2553) ทำให้มีผู้ต้องการบริโภคกันมาก ขณะที่ประเทศไทยสามารถปลูกสาละและแอปเปิลได้เฉพาะบนพื้นที่สูงทางภาคเหนือของประเทศ แต่ผลผลิตที่ได้ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการบริโภคภายในประเทศ จึงจำเป็นต้องมีการนำเข้าสาละและแอปเปิลจากสาธารณรัฐประชาชนจีน โดยมีการขนส่งสินค้าทางเรือผ่านทางด่านตรวจพืชเชียงใหม่ ในปี พ.ศ. 2558 มีการนำเข้าสาละปริมาณ 254,108 กก. คิดเป็นมูลค่า 3,424,109 บาท และแอปเปิล ปริมาณ 678,394 กก. คิดเป็นมูลค่า 7,122,624 บาท การนำเข้าทั้งสาละและแอปเปิลในปริมาณที่สูงเช่นนี้อาจมีโอกาสนำเชื้อศัตรูพืชร้ายแรงหรือศัตรูพืชกักกันเข้ามาภายในประเทศได้ โดยเฉพาะการนำเข้าสาละและแอปเปิลจากสาธารณรัฐประชาชนจีน มักพบโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อราหลายชนิด เช่น *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., และ *Penicillium* sp. (Gao et al. 2013) สร้างความเสียหายด้านคุณภาพ และไม่เป็นที่ต้องการของตลาด นอกจากนี้ในด้านความปลอดภัยอาหาร เชื้อราในกลุ่มดังกล่าวมีรายงานการสร้างสารพิษในเนื้อเยื่อผลไม้ ได้แก่ สาร Patulin, Ochratoxin A

และ *Alternaria toxin* ซึ่งมีความเป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์เมื่อบริโภคเข้าไป (Maria *et al.*, 2010)

การควบคุมโรคผลเน่าของสาหร่ายและแอปเปิลหลังการเก็บเกี่ยวทำได้หลายวิธี เช่น การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ การใช้อุณหภูมิต่ำ การดัดแปลงบรรยากาศ การใช้สารเคมี และการใช้โอโซน (Ozone) โอโซนเป็นก๊าซที่มีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดส์อย่างแรง มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาเคมี และมีการสลายตัวอย่างรวดเร็ว จึงไม่มีปัญหาเกี่ยวกับสารพิษตกค้าง สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของประเทศไทย (FDA) ได้รับรองว่าโอโซนเป็นสารที่ใช้ได้อย่างปลอดภัย (GRAS ; Generally Recognized as Safe) (สิริพร, 2543) กลไกในการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยโอโซน เกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะ คือ โมเลกุลของโอโซนเข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารเคมีที่อยู่ในเซลล์จุลินทรีย์ (Hunt and Marinas, 1999, Minasa *et al.*, 2010) และอนุมูลตัวกลางอิสระ (free radical-mediated) เป็นตัวเข้าทำลาย บางครั้งพบว่าโอโซนจะเข้าทำลายระบบหายใจ (Respiratory system) ของเซลล์จุลินทรีย์ กานดาและคณะ (2549) พบว่าก๊าซโอโซน เป็นก๊าซที่ไม่คงตัวหรือไม่เสถียร โอโซนสามารถสลายตัวกลายเป็นออกซิเจนได้ง่าย สามารถละลายในน้ำได้ดีกว่าอากาศ โดยการละลายจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลง ถึงแม้โอโซนมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีบริเวณพื้นผิวของผลไม้ (Letizia, 2013) แต่มีข้อจำกัดในการแทรกซึมหรือทำลายเชื้อโรคที่ฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อของผลไม้ (จริงแท้, 2002) ดังนั้นเพื่อให้

เป็นไปตามเจตนารมณ์ของพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2551 ในการสกัดกั้นและป้องกันการเคลื่อนย้ายของศัตรูพืชมิให้เข้ามาระบาดภายในประเทศ ผู้วิจัยจึงศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของการใช้โอโซนทั้งในรูปการรม และแช่ในสารละลายในน้ำ (Aqueous ozone water ozonation) สำหรับการควบคุมโรคผลเน่าของสาหร่ายและแอปเปิล ที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของสาหร่ายและแอปเปิลที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน

สุ่มเก็บตัวอย่างผลสาหร่ายและแอปเปิลทุกรุ่น (Lot.) ที่ขนส่งมาทางเรือ ซึ่งเป็นสาหร่ายและแอปเปิลจากแหล่งปลูกที่มณฑลยูนนาน สาธารณรัฐประชาชนจีน ระหว่างเดือนตุลาคม ปี พ.ศ. 2558 - มกราคม ปี พ.ศ. 2559 ทำการสุ่มตัวอย่างจำนวน 100 ผล ต่อรุ่นที่นำเข้า แล้วคัดแยกผลสาหร่ายและแอปเปิลที่แสดงอาการของโรคผลเน่ามาแยกเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Tissue transplanting โดยวางชิ้นส่วนของผลสาหร่ายและแอปเปิลที่แสดงอาการของโรคลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) จำนวน 4 ชิ้น/จานเลี้ยงเชื้อ ภายหลังเชื้อราเจริญแล้ว แยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยใช้เข็มเย็บตัดปลายเส้นใยมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5-7 วัน จำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของสาหร่ายและแอปเปิลที่เจริญบนอาหาร PDA โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2. ศึกษาประสิทธิภาพของการรมโอโซนเพื่อ การควบคุมโรคผลเน่าของสาลี่และแอปเปิล

2.1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการ
รมโอโซนเพื่อยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา
สาเหตุ

นำเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าที่แยกได้จาก
ข้อ 1 มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ
 27 ± 2 °C เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นใช้ Cork
borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. เจาะ
อาหารบริเวณที่มีปลายของเส้นใยเจริญ วางชิ้น
วุ้นลงตรงกลางจานอาหาร PDA โดยหงายด้าน
ที่มีเชื้อราเจริญขึ้นด้านบน จากนั้นปล่อยก๊าซ
โอโซน ที่ระดับความเข้มข้น 1 ก./ชม. เพื่อรม
เชื้อรา เป็นเวลา 0 (ชุดควบคุม), 15, 30, 45,
และ 60 นาที ตามลำดับ วางแผนการทดลอง
แบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized
Design: CRD) ทำการทดสอบจำนวน 4 ซ้ำ/
กรรมวิธี (ระยะเวลาในการรม) หลังจากรมด้วย
ก๊าซโอโซนแล้ว บ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C
ทำการบันทึกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของ
เส้นใยทั้ง 2 ด้าน โดยวัดทำมุมตั้งฉากกัน เมื่อ
เส้นใยของเชื้อราในชุดควบคุมเจริญเต็มจาน
ทดลอง เปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง
โคโลนีกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการรมด้วยโอโซน
คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา
(% Growth inhibition) ตามสูตร ดังนี้

$$\%GI = \frac{(C-T)}{C} \times 100$$

%GI = เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ
ของเชื้อรา

C = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีใน
กรรมวิธีควบคุม

T = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีใน
กรรมวิธีทดสอบ

2.2 ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้
โอโซนรมเพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าบน
ผลสาลี่และแอปเปิล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์
(Completely Randomized Design: CRD)
จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี คือระยะเวลาในการรม
ด้วยโอโซน 0 (ชุดควบคุม) 15 30 45 และ 60
นาที คัดเลือกผลสาลี่และแอปเปิลที่มีขนาด
สม่ำเสมอไม่มีโรคผลเน่า จำนวน 5 ผล (หน่วย
ทดลอง) ล้างด้วยน้ำสะอาด และฟุ้งให้แห้ง ใช้ใบ
มิดที่ทนไฟฟ้าเชื้อแล้ว ทำแผลบนผลสาลี่และ
แอปเปิลโดยกรีดเป็นรูปกากบาท ยาว 5x5 ซม.
ใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม.
เจาะอาหารบริเวณที่มีปลายเจริญของเส้นใย
เชื้อราโรคผลเน่า นำไปวางตรงบริเวณแผลที่
เตรียมไว้ โดยหงายด้านที่มีเชื้อราเจริญขึ้นด้าน
บน นำผลสาลี่และแอปเปิลไปวางในกล่องพลาสติก
แล้วปล่อยก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1 ก./ชม.
ตามกรรมวิธี นำผลสาลี่และแอปเปิลที่ผ่านโอโซน
แล้วมาบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 10 ± 2 °C ทำการ
ทดลองแยกกันสำหรับเชื้อราสาเหตุแต่ละชนิด
บันทึกผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ
แผลบริเวณที่ปลูกเชื้อโรคผลเน่าทั้ง 2 ด้าน โดย
วัดทำมุมตั้งฉากกัน คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
การเจริญของเชื้อรา (Disease Inhibition: DI)

เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ดังสูตรคำนวณ ดังนี้

$$\%DI = \frac{WC - WT}{WC} \times 100$$

%DI = เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนผล

WC = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแผลของชุดควบคุม

WT = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแผลของกรรมวิธี

3. ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้น้ำโอโซนเพื่อการควบคุมโรคผลเน่าของสาลี่และแอปเปิลที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน

3.1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้น้ำโอโซนเพื่อยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคผลเน่า

นำเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าที่แยกได้จากข้อ 1 เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน เติมน้ำกลั่นลงบนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อราเจริญอยู่ นำแท่งแก้วมาดูดเอาสปอร์ของเชื้อราให้หลุด ใช้ผ้าขาวบางกรองเส้นใยเชื้อราออก ปรับความเข้มข้นของสารแขวนลอยสปอร์ (Spore suspension) ให้อยู่ที่ระดับ 1×10^6 สปอร์/มล. เตรียมสารแขวนลอยสปอร์จำนวน 20 มล. ลงในขวดทดลอง แล้วจุ่มสายยางเพื่อปล่อยก๊าซโอโซน ที่ระดับความเข้มข้น 1 ก./ชม. ลงในสารแขวนลอยสปอร์ เพื่อให้กลายเป็นน้ำโอโซน (Ozonated water) เป็นเวลา 15 30 45 และ 60 นาที ตามลำดับ โดยมีสารแขวน

ลอยสปอร์ที่ไม่ผ่านน้ำโอโซน (0 นาที) เป็นชุดควบคุม บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชม. ตรวจนับจำนวนสปอร์ที่งอกของแต่ละกรรมวิธีทดสอบด้วย Hemacytometer เปรียบเทียบกับชุดควบคุม คำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ (% spore germination) จากสูตรดังนี้

$$\%SG = \frac{A}{B} \times 100$$

%SG = เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์

A = จำนวนสปอร์ที่งอก

B = จำนวนสปอร์เริ่มต้น

(1×10^6 สปอร์/มล.)

3.2 ประสิทธิภาพการใช้น้ำโอโซนในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของสาลี่และแอปเปิล

คัดเลือกผลสาลี่และแอปเปิลที่มีขนาดสม่ำเสมอและไม่มีโรค จำนวน 5 ผล (หน่วยทดลอง) ล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง ใช้ใบมีดที่ฉีกไฟฆ่าเชื้อแล้ว ทำแผลบนผลสาลี่และแอปเปิลโดยกรีดเป็นรูปกากบาท ยาว 5 x 5 ซม. ใส่ผลสาลี่หรือแอปเปิล ลงในน้ำปริมาตร 2 ล. ที่ปรับสารแขวนลอยสปอร์ ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์/มล. แล้วปล่อยก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1 ก./ชม. ลงในสารแขวนลอยสปอร์ เป็นเวลา 0 (ชุดควบคุม) 30 45 และ 60 นาที ตามลำดับ บ่มผลสาลี่และแอปเปิลที่ผ่านการแช่ในน้ำโอโซนแล้วที่อุณหภูมิ 10 ± 2 °C ทำการทดลองแยกกันสำหรับเชื้อราสาเหตุแต่ละ

ชนิด บันทึกลงด้วยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลโรคผลเน่าบริเวณที่ทั้ง 2 ด้านโดยวัดทำมุมตั้งฉากกัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ทำการทดสอบจำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี คำนวนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนผลของกรรมวิธีที่ผ่านโอโซนเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คำนวนดังสูตร เช่นเดียวกับข้อ 2.2

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การปนเปื้อนของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของสาละและแอปเปิลที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน

ผลการสุ่มเก็บตัวอย่างผลสาละและแอปเปิลจากบริษัทผู้นำเข้าสินค้าจำนวน 2 บริษัท ที่นำเข้าโดยเรือขนส่งสินค้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนได้ตัวอย่างสาละและแอปเปิลจำนวน 10 และ 21 ตัวอย่าง ตามลำดับ ทุกตัวอย่างที่

สุ่มตรวจพบอาการโรคผลเน่า และสามารถแยกเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของสาละและแอปเปิลได้ 3 ชนิด คือ *Alternaria* sp. *Cladosporium* sp. และ *Penicillium* sp. (Figure 1) สอดคล้องกับรายงานของ Gao et al. (2013) ที่พบเชื้อรา *Penicillium* spp. *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *A. arborescens*, *Cladosporium cladosporioides*, and *C. tenuissimum* ที่เป็นสาเหตุของโรคผลเน่าในแอปเปิลฟูจิที่ปลูกในมณฑลซานซี สาธารณรัฐประชาชนจีน

2. ประสิทธิภาพของการรมโอโซนเพื่อควบคุมโรคผลเน่าของสาละและแอปเปิลที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน

2.1 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการรมโอโซนเพื่อยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของสาละ และแอปเปิล

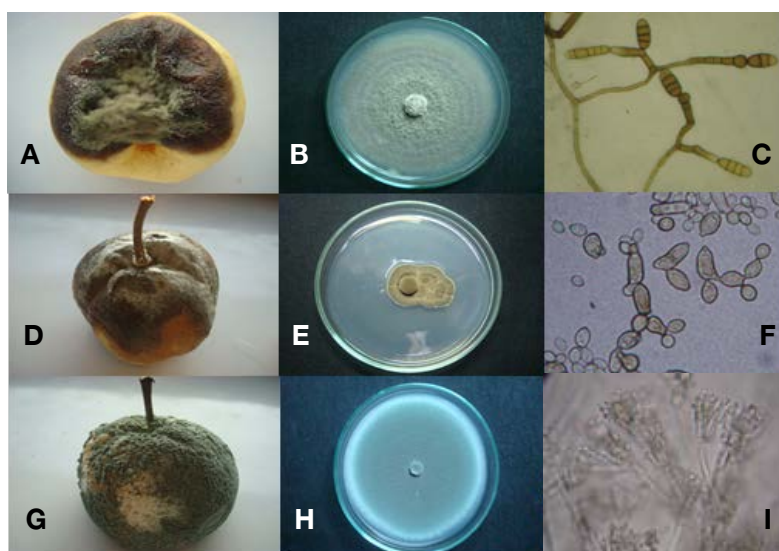


Figure 1 Colony and sporangia structures of *Alternaria* sp. (A-C), *Cladosporium* sp. (D-F), and *Penicillium* sp. (G-I) causing fruit rot in imported Chinese Pear

การรมด้วยโอโซนความเข้มข้น 1 ก./ชม. เพื่อยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค ผลเน่าของสาลีและแอปเปิล พบว่าที่ทุกระยะ เวลาของการรม (15 30 45 และ 60 นาที) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., และ *Penicillium* sp. ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม ทั้งเชื้อราที่แยกจากผลสาลีและแอปเปิล (Table 1) เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราของการรมแต่ละกรรมวิธีก็ไม่มีความแตกต่างกัน สอดคล้องกับผลการทดลองของ Hibben and Stotzky (1969) ที่พบว่าการรมโอโซนที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 50-100 มก./กก บนผิวหน้าอาหาร PDA ไม่สามารถยับยั้งความงอกของสปอร์เชื้อรา *Alternaria* sp., *Aspergillus terreus*, *A. niger*, *Penicillium egyptiacum* และ *Botrytis allii* ได้ และโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ช่วยกระตุ้นให้สปอร์ของเชื้อราสามารถงอกได้ดีขึ้น

2.2 ประสิทธิภาพของการใช้โอโซนรม เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าบนผลสาลีและแอปเปิล

การใช้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1 ก./ชม. รมผลสาลีและแอปเปิลที่ปลูกด้วยเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าแล้ว เป็นเวลา 15 30 45 และ 60 นาที พบอาการโรคผลเน่าบนผลสาลีและแอปเปิลที่เกิดจากเชื้อรา 3 ชนิด คือ *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., และ *Penicillium* sp. ขนาดของแผลไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม กล่าวคือ ไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรค

ผลเน่าบนผลสาลีและแอปเปิลได้ (Table 2 and Figure 2) ทั้งนี้เนื่องมาจากโอโซนมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้ดีบริเวณพื้นผิวของผลไม้ แต่ไม่สามารถแทรกซึมหรือทำลายเชื้อโรคที่ฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อของผลไม้ได้ (จริงแท้, 2541 และ Letizia, 2013)

3. ประสิทธิภาพของการใช้น้ำโอโซนเพื่อควบคุมโรคผลเน่าของสาลีและแอปเปิลที่นำเข้ามาจากสาธารณรัฐประชาชนจีน

3.1 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้น้ำโอโซนเพื่อยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา

ผลการทดลองพบว่า ภายหลังจากแช่สปอร์เชื้อราทั้ง 3 ชนิดในน้ำโอโซนเป็นเวลา 45 และ 60 นาที ไม่พบการงอกของสปอร์เชื้อราทั้ง 3 ชนิด และที่เวลา 30 นาที สปอร์ของเชื้อราสามารถงอกได้เพียง 0.40-0.80% เท่านั้น (Table 3) ซึ่งมีความแตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่ได้แช่สปอร์เชื้อราในน้ำโอโซน และแช่สปอร์เชื้อราในน้ำโอโซน 15 นาที สปอร์ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด สามารถงอกได้สูงถึง 99.60-88.60% และ 98.20-87.20% ลักษณะของสปอร์ที่แช่ในน้ำโอโซนจะพบขนาดของเส้นใยบวมพองและแบ่งเป็นข้อสั้น ๆ (Figure 3) ส่งผลให้สปอร์ของเชื้อราไม่สามารถเจริญเพื่อเข้าทำลายพืชได้ตามปกติ สอดคล้องกับ กานดาและคณะ (2549) ที่รายงานว่าโอโซนเป็นตัวเข้าทำลายโปรตีนในชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้โปรตีนจับตัวเป็นก้อนเกิดฟองก๊าซภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ ส่งผลให้เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นและเกิดการแตกของเซลล์ได้

Table 1 Growth inhibition(%) of in vitro mycelial growth of *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., and *Penicillium* sp. after exposure to 1 g/hr. ozone for 0 15, 30, 45 and 60 min and incubated at 27 °C for 8 days

Fruit	Time of exposure (min)	<i>Alternaria</i> sp.		<i>Cladosporium</i> sp.		<i>Penicillium</i> sp.	
		Colony diameters	Colony inhibition	Colony diameters	Colony inhibition	Colony diameters	Colony inhibition
		(cm)	%	(cm)	%	(cm)	%
Chinese Pear	0	9.00 a ^{1/}	-	8.20 a	-	9.00 a	-
	15	9.00 a	0.00 a	8.20 a	0.00 a	9.00 a	0.00 a
	30	8.90 a	2.00 a	8.20 a	0.00 a	9.00 a	0.00 a
	45	8.80 a	3.00 a	8.10 a	2.00 a	9.00 a	0.00 a
	60	8.80 a	3.00 a	8.10 a	2.00 a	9.00 a	0.00 a
Apple	0	9.00 a	-	8.20 a	-	9.00 a	-
	15	9.00 a	0.00 a	8.20 a	0.00 a	9.00 a	0.00 a
	30	9.00 a	0.00 a	8.20 a	0.00 a	9.00 a	0.00 a
	45	8.90 a	2.00 a	8.10 a	2.00 a	9.00 a	0.00 a
	60	8.90 a	2.00 a	8.10 a	2.00 a	9.00 a	0.00 a

^{1/} Mean in the column, followed by a common letter are not significant difference at 5% level by DMRT

Table 2 Disease inhibition (%.) of *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., and *Penicillium* sp. on artificially inoculated imported chinese pear and apple after exposure to 1 g/hr. ozone for 0 15, 30, 45 and 60 min and stored at 10 °C for 14 days

Fruit	Time of exposure (min)	<i>Alternaria</i> sp.		<i>Cladosporium</i> sp.		<i>Penicillium</i> sp.	
		Diameters of lesion	Disease inhibition	Diameters of lesion	Disease inhibition	Diameters of lesion	Disease inhibition
		(cm)	%	(cm)	%	(cm)	%
Chinese Pear	0	6.32 a ^{1/}	-	4.20 a	-	5.66 a	-
	15	6.30 a	0.31 a	4.17 a	0.71 a	5.64 a	0.35 a
	30	6.28 a	0.63 a	4.14 a	1.42 a	5.63 a	0.53 a
	45	6.26 a	0.95 a	4.13 a	1.66 a	5.58 a	1.41 a
	60	6.23 a	1.42 a	4.11 a	2.14 a	5.54 a	2.12 a
Apple	0	5.86 a	-	3.62 a	-	6.42 a	-
	15	5.77 a	1.53 a	3.58 a	1.10 a	6.39 a	0.46 a
	30	5.72 a	2.39 a	3.56 a	1.65 a	6.37 a	0.77 a
	45	5.64 a	3.75 a	3.48 a	3.86 a	6.36 a	0.93 a
	60	5.62 a	4.09 a	3.43 a	5.24 a	6.34 a	1.24 a

^{1/} Mean in the column, followed by a common letter are not significant difference at 5% level by DMRT

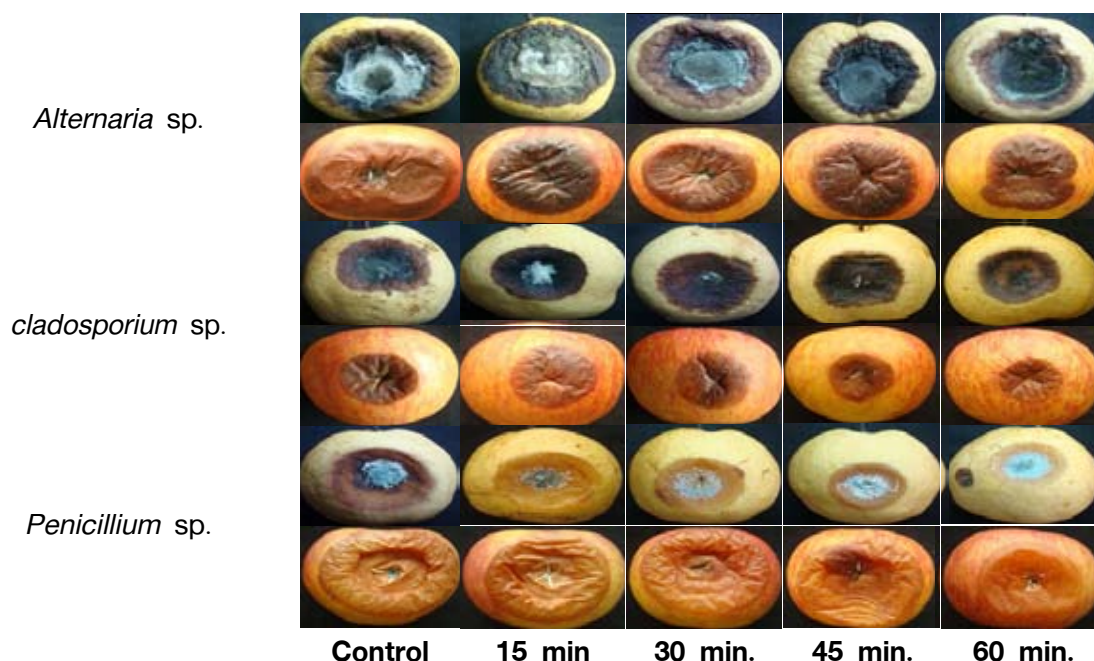


Figure 2 Symptoms of fruit rots on infected imported chinese pear by *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., and *Penicillium* sp. after exposure to 1 g/hr. ozone for 0 15, 30, 45 and 60 min. and stored at 10 °C for 14 days

3.2 ประสิทธิภาพของการใช้น้ำโอโซน ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของสาละ และแอปเปิล

ผลการแช่สาละและแอปเปิลลงในน้ำ โอโซนที่ผสมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., และ *Penicillium* sp. พบว่า ผลสาละและแอปเปิลที่ แช่น้ำโอโซนเป็นเวลา 30 45 และ 60 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ 100% คือ ไม่พบอาการโรคผลเน่าบนผลสาละและแอปเปิล และมีความแตกต่างจากการแช่ผลสาละและ

แอปเปิลลงในน้ำโอโซน เป็นเวลา 15 นาที ที่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้เพียง 1.46 – 2.73% เท่านั้น (Table 4) ดังนั้นการแช่ผลผลสาละและ แอปเปิลในน้ำโอโซนเป็นเวลาตั้งแต่ 30 นาที ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเกิดโรคผลเน่าที่เกิดจาก เชื้อราทั้ง 3 ชนิดข้างต้นได้ ทั้งนี้เมื่อเพิ่มระยะเวลาการให้น้ำโอโซนกับน้ำมากขึ้นจะช่วยเพิ่ม ประสิทธิภาพ ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และสปอร์ของเชื้อราได้มากขึ้น (กานดาและ คณะ, 2549)

Table 3 Spore germination (%) of *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., and *Penicillium* sp. after treated by ozonated water for 0 15, 30, 45 and 60 min. and incubated at 27 °C for 24 hr.

Fruit	Time of exposure to ozone in water (minute)	<i>Alternaria</i> sp. Spore germination (%)	<i>Cladosporium</i> sp Spore germination (%)	<i>Penicillium</i> sp. Spore germination (%)
Chinese pear	0	98.80 b ^{1/}	88.60 b	98.20 b
	15	96.60 b	87.20 b	97.80 b
	30	0.60 a	0.80 a	0.80 a
	45	0.00 a	0.00 a	0.00 a
	60	0.00 a	0.00 a	0.00 a
Apple	0	99.60 b	90.40 b	98.40 b
	15	98.20 b	89.40 b	96.60 b
	30	0.40 a	0.60 a	0.80 a
	45	0.00 a	0.00 a	0.00 a
	60	0.00 a	0.00 a	0.00 a

^{1/} Mean in the column, followed by a common letter are not significant difference at 5% level by DMRT

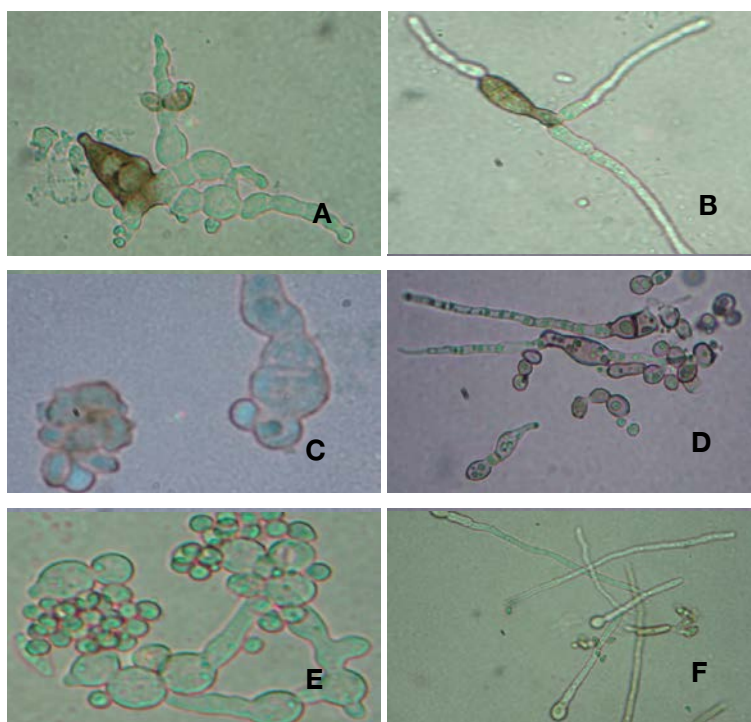


Figure 3 Articulate and swollen hyphae (A) and normal hyphae (B) of *Alternaria* sp., swollen hyphae (C) and normal hyphae (D) of *Cladosporium* sp., swollen hyphae (E) and normal hyphae (F) of *Penicillium* sp.

Table 4 Fruit rot disease inhibition (%) on artificially inoculated imported chinese pear and apple *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., and *Penicillium* sp. after exposed to ozonated water for 0 (Control), 15, 30, 45 and 60 min. and stored at 10 °C for 14 days

Fruit	Time of exposure to ozone in water (minute)	<i>Alternaria</i> sp.		<i>Cladosporium</i> sp.		<i>Penicillium</i> sp.	
		Diameter of lesion (cm)	Disease inhibition %	Diameter of lesion (cm)	Disease inhibition %	Diameter of lesion (cm)	Disease inhibition %
Chinese Pear	0	6.82 b ^{1/}	-	4.16 b	-	7.64 b	-
	15	6.72 b	1.46 b	4.03 b	3.16 b	7.60 b	0.52 b
	30	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a
	45	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a
	60	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a
Apple	0	5.26 b	-	4.22 b	-	8.42 b	-
	15	5.17 b	1.71 b	4.08 b	3.31 b	8.19 b	2.73 b
	30	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a
	45	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a
	60	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a	0.00 a	100.00 a

^{1/} Mean in the column, followed by a common letter are not significant difference at 5% level by DMRT

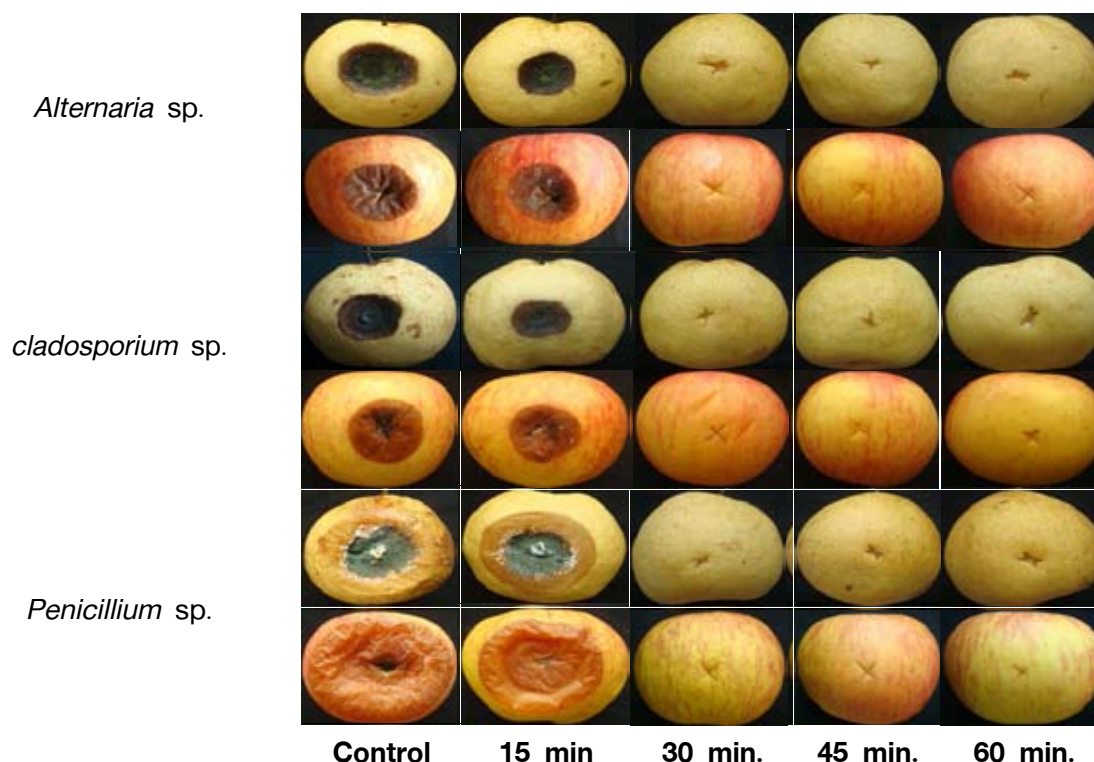


Figure 4 Effectiveness of ozonated water at 0 (Control), 15, 30, 45 and 60 min on fruit rots of imported chinese pear and apple by *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., and *Penicillium* sp. after stored at 10 °C for 14 days

สรุปผลการทดลอง

เชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของสาละและแอปเปิ้ลที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนมี 3 ชนิด คือ *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., และ *Penicillium* sp. การรมเส้นใยของเชื้อราด้วยโอโซนที่ความเข้มข้น 1 ก./ชม. เป็นเวลา 0 15 30 45 และ 60 นาที ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ เช่นเดียวกับการรมโอโซนให้กับผลสาละและแอปเปิ้ลที่ปลูกด้วยเชื้อราทั้ง 3 ชนิด แต่การแช่ผลสาละและแอปเปิ้ลลงในน้ำโอโซนเป็นเวลา 30 45 และ 60 นาที พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดโรคผลเน่าได้ 100% คือ ไม่พบอาการโรคผลเน่าบนผลสาละและแอปเปิ้ลเลย ทั้งนี้เนื่องจากน้ำโอโซนทำให้สปอร์ที่งอกมีลักษณะของเส้นใยแบ่งเป็นข้อสั้น ๆ เกิดการบวมพองและเซลล์แตก ส่งผลให้สปอร์ของเชื้อราไม่สามารถเจริญเพื่อเข้าทำลายพืชได้ตามปกติ ดังนั้น การใช้น้ำโอโซนจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการควบคุมโรคผลเน่าของสาละและแอปเปิ้ล ที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนได้

เอกสารอ้างอิง

กานดา หวังชัย จ่านงค์ อุทัยบุตร และกนกวรรณ ศรีบุญวัฒน์. 2549. ประสิทธิภาพของใช้โอโซนในการควบคุม โรคหลังการเก็บเกี่ยวระหว่างการเก็บรักษาผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง. หน้า 54-61. ใน : รายงานโครงการวิจัย 2549. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จรัสแท้ ศิริพานิช. 2541. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 396 หน้า.

สิริพร สอนเสาวภาคย์. 2543. โอโซนกับความปลอดภัยในอาหาร. ว. อาหาร. 55: 20-22.

อุดมลักษณ์ สุขัตตะ ประภัสสร รักถาวร เมธิกา ลิขุญญานนท์ และพจมาน พิศเพียงจันทร์. 2553. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อลิวของสารสกัดจากเปลือกผลไม้. หน้า 364-373. ใน : เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 3-5 ก.พ. 2553 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Gao, L.L., Q. Zhang, X.Y. Sun, L. Jiang, R. Zhang, G.Y. Sun, Y.L. Zha and A.R. Biggs. 2013. Etiology of moldy core, core browning, and core rot of Fuji apple in China. *Plant Dis.* 97: 510-516.

Hunt, N.K. and J.B. Marinas, 1999. Inactivation of *Escherichia coli* with ozone: chemical and inactivation kinetics. *Water Res.* 33: 2633-2641.

Letizia, C., B. Rinaldo, M. Roberto, S. Elisabetta, M. Danilo, C. Massimo and M. Riccardo. 2013. Use of ozone in sanitation and storage of fresh fruits and vegetables. *J. Food Agri. & Environ.* 11: 585-589.

Minasa, S.I., S. Oannis, K.S. George, M.A. George and V. Miltiadis. 2010. Effect of ozone application during cold storage of kiwi fruit on the development of stem-end rot caused by *Botrytis cinerea*. *Post. Biol. Technol* 58 : 203-210.