ผลของการใช้น้ำร้อนต่อการทำลายของเชื้อราเขียวในผลส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง
Effect of Hot Water Treatment on Green Mold Infection in Tangerine Fruit cv. Sai Num Phung

ศิริโสภา อินขะ [1/] ดนัย บุณยเกียรติ [2/] สมบัติ ศรีชูวงศ์ [3/]

Sirisopha Inkha [1/] Danai Boonyakiat [2/] Sombat Srichuwong [3/]

ABATRACT

The objectives of this study were to examine the optimum temperatures and exposure periods of hot water treatment required to control green mold rot on artificially-inoculated tangerine fruit. Preliminary experimentation *in vitro*, fungus was dipped in hot water at 45±2, 50±2 and 55±2 °C for 0.5, 1, 2 and 3 minutes. The results showed that hot water dip at 55±2 °C for 1, 2 and 3 minutes reduced *P. digitatum* spore germination 85-98% as compared with control when incubated fungus at 25±2 °C in darkness for 48 hours at the Laboratory of the Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University in November 2006. Dipping tangerine fruit in hot water at 45±2 50±2 and 55±2 °C for 0.5, 1, 2 and 3 minutes before and after inoculation compared with the control fruit that were inoculated by fungus and without hot water dipped, and uninoculated fruit. Dipping tangerine fruit in hot water at 50±2 °C for 3 minutes and 55±2 °C for 2 and 3 minutes after inoculation reduced green mold rot development 57-88% disease and disease severity (lesion diameter) from 9.31 to 0.87 cm and reduced sporulation index of *P. digitatum* from 4.32 to 0.18 as compared with control fruit that were inoculated by fungus and without hot water dipped when stored at 24±2 °C and 90±5% relative humidity for 5 days.

Key words: tangerine fruit, citrus fruit, green mold rot, hot water treatment

[1/] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

[1/] Postharvest Technology Innovation Centre, Chiang Mai University, Mueang district, Chiang Mai province 50200

[2/] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

[2/] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Mueang district, Chiang Mai province 50200

[3/] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

[3/] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Mueang district, Chiang Mai province 50200

บทคัดย่อ

การศึกษาเพื่อทดสอบอุณหภูมิของน้ำร้อน และระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการควบคุมโรคผลเน่าอันเนื่องมาจากการปลูกเชื้อราเขียวในผลส้ม โดยทดลองเบื้องต้นในสภาพหลอดทดลอง เริ่มด้วยการแช่เชื้อราเขียวในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50±2 และ 55±2 °ซ นาน 0.5 1 2 และ 3 นาที พบว่าการแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 1 2 และ 3 นาที ทำให้การงอกของสปอร์ของเชื้อราเขียวลดลง 85-98 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ ในที่มืด เป็นเวลา 48 ชม. ที่ห้องปฏิบัติการพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2549 ส่วนการแช่ผลส้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45±2 50±2 และ 55±2 °ซ เป็นเวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที ทั้งก่อนและหลังการปลูกเชื้อราเขียวเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ผ่านการปลูกเชื้อโดยไม่ผ่านการแช่น้ำร้อน และไม่ปลูกเชื้อ พบว่าการแช่ผลส้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50±2 °ซ เป็นเวลา 3 นาที และที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 2 และ 3 นาทีหลังการปลูกเชื้อ มีผลทำให้โรคผลเน่าที่เกิดจากราเขียวลดลง 57-88 % ความรุนแรงของโรคซึ่งวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลลดลงจาก 9.31 ชม. เป็น 0.87 ชม. และดัชนีการเกิดสปอร์ของเชื้อราเขียวลดลงจาก 4.32 เป็น 0.18 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ผ่านการปลูกเชื้อโดยไม่ผ่านการแช่น้ำร้อน รักษาผลส้มที่อุณหภูมิ 24±2 °ซ และความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% เป็นเวลา 5 วัน

คำหลัก: ส้มเขียวหวาน โรคผลเน่าที่เกิดจากราเขียว การใช้น้ำร้อนฆ่าเชื้อ

คำนำ

ส้มเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากมีวิตามินซีซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชั่น ดังนั้นการบริโภคส้มทั้งในรูปผลสดและน้ำผลไม้จึงช่วยส่งเสริมให้ร่างกายมีสุขภาพดี นอกจากนี้ยังสามารถนำผลส้มมาแปรรูปในเชิงอุตสาหกรรม เช่น แยมส้มและนมเปรี้ยว (Murata, 1997) ในภาคเหนือส้มจัดได้ว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งโดยเฉพาะส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง ซึ่งเป็นส้มที่มีรสชาติดีและได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเป็นอย่างมาก (เปรมปรี, 2544) แต่ส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งเป็นส้มที่มีเปลือกบาง จึงทำให้ง่ายต่อการเกิดบาดแผลในระหว่างการเก็บเกี่ยวและการปฏิบัติภายหลังการเก็บเกี่ยว ก่อให้เกิดการเข้าทำลายของเชื้อราเขียว (*Penicillium digitatum* Sacc.) ที่เข้าทำลายผลส้มที่มีแผลเท่านั้น เป็นผลให้เกิดโรคผลเน่าที่เกิดจากราเขียว (green mold rot) ซึ่งเป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวส้มที่สำคัญ และสามารถพบได้ทุกหนทุกแห่งที่มีการปลูกส้ม (Timmer *et al.*, 2003) เชื้อราเขียวแพร่กระจายมาจากผลที่เป็นโรคที่ตกหล่นอยู่ในสวน โรงคัดบรรจุ ห้องเก็บรักษา พาหนะที่ใช้ขนส่งและในตลาด โดยสปอร์ของเชื้อราเขียวจะสะสมอยู่ในดิน อากาศและในน้ำที่ใช้ล้างผลส้ม แล้วอาศัยกระแสลมและปัจจัยทางกายภาพต่างๆ เป็นตัวทำให้เกิดการแพร่กระจาย นอกจากนี้โรคผลเน่าที่เกิดจากราเขียวยังสามารถแพร่

ระบาดจากผลหนึ่งไปสู่อีกผลหนึ่งได้ โดยการสัมผัสกันระหว่างผลปกติกับผลที่เป็นโรคเชื้อราเขียวสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 22-27 °ซ และเจริญช้ามากที่สุดที่อุณหภูมิ 4.5-10 °ซ (Timmer *et al.*, 2000; Barkai-Golan, 2001) ลักษณะของเชื้อราเขียวจะมีเส้นใย (mycelium) ไม่ฟูคล้ายกำมะหยี่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 1.5-5 ไมโครเมตร มีผนังกั้นและอาจพบแบบเส้นใยเดี่ยว และ/หรือแตกแขนงก็ได้ ในการสร้างสปอร์เส้นใยจะสร้างก้านชูสปอร์ (conidiophore) ยาวประมาณ 70-150 ไมโครเมตร มีขนาดเล็กผนังบางและเรียบ เมื่อโตเต็มที่จะแตกกิ่งก้าน 2-3 กิ่ง phialides มีลักษณะเป็นรูปขวด สปอร์มีลักษณะค่อนข้างรีจนถึงทรงกระบอก มีขนาด 6-8 ไมโครเมตร มีผนังเรียบและต่อกันเป็นโซ่ มีสีเขียวอมเหลืองถึงสีเขียวมะกอก (Pitt and Hocking, 1988) การควบคุมโรคผลเน่าที่เกิดจากราเขียวหลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้สารเคมีฆ่าเชื้อรานับว่าเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคเป็นอย่างมาก เพราะอาจเกิดสารพิษตกค้างและเกิดการดื้อยาของเชื้อสาเหตุ มีรายงานว่าเชื้อราเขียวสามารถต้านทานสารเคมี imazalil, thiabendazole และ sodium ortho-phenylphenate เพิ่มขึ้น (Brown, 2005) ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องหาวิธีควบคุมโรคอย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด ในการทดลองนี้จึงได้นำวิธีการควบคุมโรคผลเน่าที่เกิดจากราเขียว โดยวิธีการใช้ความร้อนซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย ไม่มีสารพิษตกค้าง สามารถปฏิบัติได้ง่าย และค่าใช้จ่ายไม่สูงมากมาใช้ (Barkai-Golan and Phillips, 1991) การใช้ความร้อนโดยวิธีจุ่มในน้ำร้อน สามารถลดการสูญเสียน้ำของผลผลิตได้ดีกว่าการใช้ไอร้อน เมื่อทำในสภาพความชื้นของบรรยากาศปกติ การจุ่มลงในน้ำร้อนทำให้ผลไม้ได้รับความร้อนในระดับเดียวกันได้ทั่วถึง (Lurie, 2005) ในผลส้มพบว่าการใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50-53 °ซ เป็นเวลา 2-3 นาที ให้ผลเช่นเดียวกับการบ่มผลส้มไว้ที่อุณหภูมิ 36 °ซ เป็นเวลา 72 ชม. ที่สามารถควบคุมการเน่าเสียที่เกิดกับผลส้มได้ (Rodov *et al.*, 1995) และเมื่อจุ่มผลส้มพันธุ์ Fortune ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 52 หรือ 54 °ซ เป็นเวลา 3 นาที ช่วยลดการเน่าเสียที่เกิดกับผลส้มได้ (Schirra and D' hallewin, 1997) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากความร้อนมีผลกับเชื้อราโดยตรง เช่น ทำให้ส่วนผนังเซลล์ของเชื้อราเปลี่ยนแปลงและทำลายส่วนไมโตคอนเดรียและชั้นนอกของเยื่อหุ้มไมโตคอนเดรีย นอกจากนี้ความร้อนยังมีผลกระตุ้นให้พืชสร้างโปรตีนบางชนิดขึ้นมา เพื่อป้องกันตนเองในระหว่างที่ถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย (Barkai-Golan and Phillips, 1991) การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบอุณหภูมิของน้ำร้อน และระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการควบคุมโรคผลเน่า อันเนื่องมาจากการปลูกเชื้อราเขียวในผลส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ผลของการใช้ความร้อนต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราเขียว

แช่น้ำกลั่นปริมาตร 1.2 มล. ที่อยู่ในหลอดทดลองในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45±2 50±2

และ 55±2 °ซ เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงเติมสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ของเชื้อรา *P. digitatum* ความเข้มข้น $2x10^5$ สปอร์/มล. ปริมาตร 0.8 มล. ลงไปในหลอดทดลองที่อุณหภูมิต่างๆ แล้วแช่เป็นเวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที ตามลำดับ ทำให้เย็นโดยนำมาแช่ในน้ำเย็น เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่แช่น้ำกลั่นที่อยู่ในหลอดทดลองในน้ำที่อุณหภูมิ 20±2 °ซ ก่อนการเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. digitatum* เป็นเวลา 1 นาที ดูดสารแขวนลอยสปอร์ที่ได้ปริมาตร 50 ไมโครลิตรมาเติมลงในหลอดทดลองที่มี potato dextrose broth 10 % ปริมาตร 450 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ดูดสารละลายที่ได้ลงบนสไลด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 30 ไมโครลิตร บ่มเชื้อในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษกรองที่ชื้นบุด้านล่างของจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ ในที่มืด ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราเขียว (Timmer *et al.*, 2000) เป็นเวลา 48 ชม. ณ ห้องปฏิบัติการพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2549 ตรวจสอบการงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD บันทึกผลการทดลองมีทั้งหมด 9 วิธีการ วิธีการละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำคือสไลด์ 1 สไลด์ โดยแต่ละซ้ำมีจำนวนของสปอร์ประมาณ 180-200 สปอร์

2. ผลของการใช้น้ำร้อนต่อการเข้าทำลายของเชื้อราเขียวในผลส้ม

นำผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งมาจากแปลงปลูกของเกษตรกรใน อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ ที่เก็บเกี่ยวในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2549 ที่ระยะความแก่ทางการค้าซึ่งผลส้มจะมีอายุ 9 เดือนภายหลังดอกบาน มาคัดเลือกผลส้มที่มีขนาดสม่ำเสมอ ปราศจากรอยตำหนิและโรค ล้างให้สะอาดแล้วผึ่งให้แห้ง เตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. digitatum* ให้ได้ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มล. ใช้เข็มจุ่มสารแขวนลอยสปอร์แล้วแทงบนผลส้มให้ลึก 1-2 มม. จำนวน 1 จุดต่อหนึ่งด้าน ผลละ 2 จุด โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 วิธีการ คือ 1) ปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 ชั่วโมงก่อนแช่ผลส้มในน้ำร้อน 2) ปลูกเชื้อหลังจากแช่ผลส้มในน้ำร้อน 3) ปลูกเชื้อโดยไม่ผ่านการแช่ผลส้มในน้ำร้อน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อ แช่ผลส้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45±2 50±2 และ 55±2 °ซ เป็นเวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที ผึ่งให้แห้งก่อนนำผลส้มไปเรียงบนถาดหลุมพลาสติก บรรจุในกล่องกระดาษขนาด 29 x 41.80 x 9 ซม. ที่เจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 ซม. จำนวน 4 รูกล่องละ 10 ผล แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 24±2 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% ที่ห้องปฏิบัติการพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เป็นเวลา 5 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มีทั้งหมด 26 กรรมวิธี จำนวนละ 30 ซ้ำ (60 แผล) แต่ละซ้ำคือผลส้ม 1 ผล เป็นหนึ่งหน่วยการทดลอง และทดลองซ้ำอีกครั้งตามขั้นตอนดังกล่าวข้างต้น โดยใช้ผลส้มที่เก็บเกี่ยวมาจากแปลงปลูกของเกษตรกรใน

อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2549 ในระยะความแก่ทางการค้าซึ่งผลส้มมีอายุ 9.5 เดือนภายหลังดอกบาน บันทึกผลการทดลองทุกวัน โดยบันทึกผลดังนี้

2.1 การเกิดโรค พิจารณาจากเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวบนผลส้มที่ปรากฏโรคผลเน่าที่เกิดจากราเขียว ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าและให้คะแนนการเกิดโรคตามวิธีการของ Palou และคณะ (2001) ดังนี้

0 = ไม่เกิดจุดฉ่ำน้ำที่เปลือกผลส้ม

1 = เกิดจุดฉ่ำน้ำที่เปลือกผลส้ม 1-20 %

2 = เกิดจุดฉ่ำน้ำที่เปลือก และเชื้อราจะสร้างเส้นใยสีขาวอยู่ที่ส่วนของเปลือก 21-40 %

3 = เกิดจุดฉ่ำน้ำที่เปลือก และเชื้อราจะสร้างเส้นใยสีขาวอยู่ที่ส่วนของเปลือก 41-60 %

4 = เชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวอยู่ที่ส่วนของเปลือก และสร้างกลุ่มของสปอร์สีเขียวมะกอกขึ้นตรงกลางแผล 61-80 %

5 = เชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวอยู่ที่ส่วนของเปลือก และสร้างกลุ่มของสปอร์สีเขียวมะกอกขึ้นตรงกลางแผล 81-100 % นำคะแนนที่ได้มาคำนวณการเกิดโรคตามสูตร

$$\text{การเกิดโรค} = \frac{\text{ผลรวมคะแนนการเกิดโรค}}{\text{จำนวนผลส้ม}} \times \frac{100}{\text{คะแนนสูงสุดของการเกิดโรค}}$$

2.2 ความรุนแรงของโรค พิจารณาจากการปรากฏของโรคผลส้ม โดยวัดตามความกว้างและยาวของแผลบนผลส้มมีหน่วยเป็นซม.

2.3 ดัชนีการเกิดสปอร์ของเชื้อราเขียว พิจารณาจากผลส้มที่ปรากฏโรคผลเน่าที่เกิดจากราเขียว พื้นที่ผิวบนผลส้มที่ถูกปกคลุมด้วยสปอร์สีเขียวของเชื้อ ตามวิธีการของ Palou และคณะ (2001) ดังนี้

0 = ไม่มีสปอร์สีเขียวของเชื้อราปกคลุมบนผลส้ม

1 = มีสปอร์สีเขียวของเชื้อราปกคลุมบนผลส้ม 1-20 %

2 = มีสปอร์สีเขียวของเชื้อราปกคลุมบนผลส้ม 21-40 %

3 = มีสปอร์สีเขียวของเชื้อราปกคลุมบนผลส้ม 41-60 %

4 = มีสปอร์สีเขียวของเชื้อราปกคลุมบนผลส้ม 61-80 %

5 = มีสปอร์สีเขียวของเชื้อราปกคลุมบนผลส้ม > 80 %

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของการใช้ความร้อนต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราเขียว

ผลการแช่เชื้อราเขียวในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50±2 และ 55±2 °ช นาน 0.5 1 2 และ 3 นาที พบว่าการแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ช เป็นเวลา 3 นาที ไม่เกิดการงอกของสปอร์ของเชื้อ และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการแช่เชื้อราเขียวในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ช เป็นเวลา 2 นาที ที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อราเขียว

1 % รองลงมาได้แก่ การแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ นาน 1 นาที อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 3 และ 2 นาที และที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 0.5 นาที คือมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อราเขียว 7.00 18.53 53.33 และ 81.00 % ตามลำดับ ในขณะที่การแช่เชื้อราเขียวในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 0.5 และ 1 นาที ไม่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราเขียวได้ เมื่อบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชม. และเมื่อบ่มเชื้อต่อไปอีกเป็นระยะเวลา 48 ชม. พบว่าการแช่เชื้อราเขียวในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 3 นาที สามารถชะลอการงอกของสปอร์ของเชื้อราเขียวได้ดีที่สุด คือมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อราเขียวเพียง 1.67 % รองลงมาได้แก่ การแช่เชื้อราเขียวในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 2 และ 1 นาที คือมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อราเขียว 8.67 และ 15.00 % ตามลำดับ ในขณะที่การแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที และที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 0.5 นาที ไม่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราเขียวได้ (Figures 1, 2 and Table 1) ผลการทดลองแสดงว่าการแช่เชื้อราที่อุณหภูมิสูงและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น มีผลต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อ

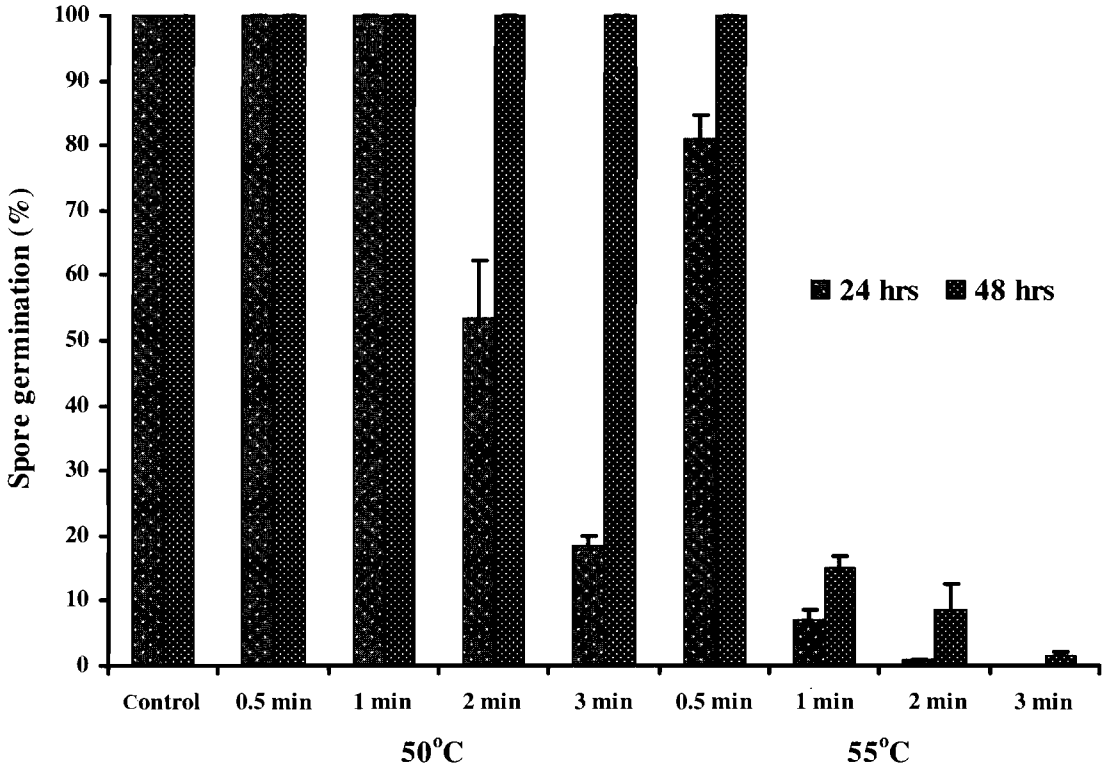

Figure 1. Effect of various heat exposures on *Penicillium digitatum* spore germination *in vitro*. *P. digitatum* spore suspensions were dipped in hot water for various periods, and the percentage of germination was measured after 24 and 48 hours at 25±2 °C values are means of three replications per treatment, each containing 180-200 spores.

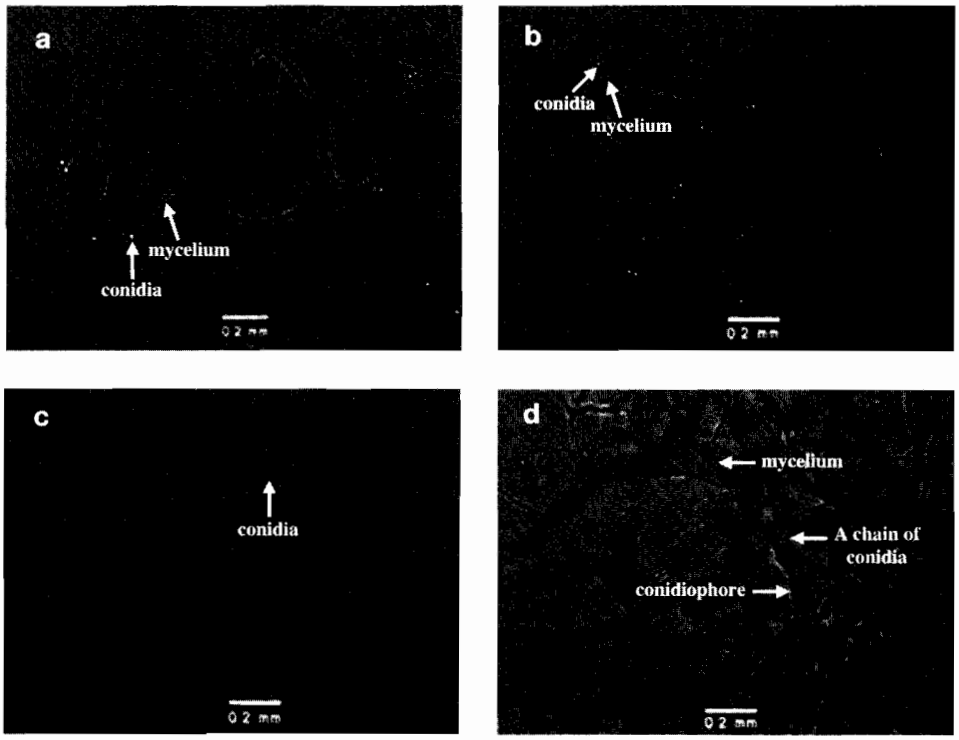

Figure 2. Effect of hot water treatment at 55±2 °C for various minutes on spore germination of *Penicillium digitatum* after being stored after 48 hours at 25±2 °C by a light microscope (x20), a = dipped for 1 minute, b = dipped for 2 minutes, c = dipped for 3 minutes and d = control

Table 1. Effect of hot water treatments on spore germination of *Penicillium digitatum* when stored at 25±2 °C for 24 and 48 hours

Hot water treatments	Spore germination (%) after being stored (hours)	
	24	48
Control	100.00 f	100.00 d
50 °C 0.5 min	100.00 f	100.00 d
50 °C 1 min	100.00 f	100.00 d
50 °C 2 min	53.33 d	100.00 d
50 °C 3 min	18.53 c	100.00 d
55 °C 0.5 min	81.00 e	100.00 d
55 °C 1 min	7.00 b	15.00 c
55 °C 2 min	1.00 a	8.67 b
55 °C 3 min	0.00 a	1.67 a
CV (%)	**6.45**	**2.12**

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

ราเขียว และเมื่อแช่เชื้อราเขียวในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ นาน 3 นาที สามารถชะลอการงอกของสปอร์ของเชื้อราเขียวได้ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากที่อุณหภูมิและระยะเวลาดังกล่าวมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ของ nuclei และผนังเซลล์ของเชื้อรา ทำลายส่วนไมโตคอนเดรีย และชั้นนอกของเยื่อหุ้มไมโตคอนเดรีย ทำให้เยื่อหุ้มแวคิวโอลแตก และองค์ประกอบที่เป็นโปรตีนในเซลล์ของเชื้อราเกิดการเสื่อมสภาพ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ความสามารถในการเพิ่มจำนวนของเชื้อราลดลง (Barkai-Golan and Phillips, 1991) และจากรายงานของ Fallik และคณะ (1993) พบว่าความร้อนมีผลต่อการงอกของสปอร์มากกว่าการเจริญของเส้นใย

2. ผลของการใช้น้ำร้อนต่อการเข้าทำลายของเชื้อราเขียวในผลส้ม

เมื่อปลูกเชื้อราเขียวบนผลส้มก่อนและหลังการแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45±2 50±2 และ 55±2 °ซ นาน 0.5 1 2 และ 3 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อโดยไม่ผ่านการแช่น้ำร้อนและไม่ปลูกเชื้อ พบว่าการเกิดโรคความรุนแรงของโรค และดัชนีการเกิดสปอร์ของเชื้อราเขียวของผลส้มทั้ง 2 รุ่น คือผลส้มที่มีอายุ 9 และ 9.5 เดือนภายหลังดอกบานไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การปลูกเชื้อราเขียวบนผลส้มก่อนการแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 2 และ 3 นาที มีผลต่อการเกิดโรคน้อยที่สุดคือ 11.33 และ 14.33 % ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ การปลูกเชื้อราเขียวบนผลส้มก่อนการแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 3 นาที ที่มีการเกิดโรค 40 % ความรุนแรงของโรคซึ่งวัดโดยขนาดและดัชนีการเกิดสปอร์ของเชื้อราเขียวบนผลส้มที่ปลูกเชื้อราเขียวก่อนการแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 2 และ 3 นาที มีความรุนแรงของโรคน้อยที่สุดคือ 0.87 1.10 และ 1.59 ซม. ตามลำดับ และมีดัชนีการเกิดสปอร์ของเชื้อราเขียวน้อยที่สุดคือ 0.18 0.36 และ 0.32 ตามลำดับ (Table 2) ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อโดยไม่ผ่านการแช่น้ำร้อน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ 24±2 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% เป็นเวลา 5 วัน สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Schirra และ D'hallewin (1997) ซึ่งแช่ผลส้มพันธุ์ Fortune ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50-54 °ซ เป็นเวลา 3 นาที และ Rodov และคณะ (1996) ซึ่งแช่ผลส้มเกรฟฟรุตพันธุ์ Oroblanco ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 52 °ซ นาน 2 นาที พบว่าผลส้มมีการเน่าเสียลดลง และสามารถรักษาคุณภาพของผลส้มได้เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากความร้อนมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ และผนังเซลล์ของผลส้ม หรืออาจมีผลต่อผิวของผลส้ม ได้แก่ cuticle และ epicuticular wax ทำให้มีการทำงานและการเรียงตัวที่ดีขึ้น ลดการแตกที่ผิวของผลส้มซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค นอกจากนั้นอาจส่งผลให้ผลส้มมีการสร้างสารประกอบที่เรียกว่า lignin-like material ขึ้นมา เช่น phytoalexins scoparone และ scopoletin และสร้างโปรตีน

Table 2. Effect of hot water treatments on green mold rot disease incidence, severity and sporulation index on artificially-inoculated tangerine fruit when stored at 24±2 °C and 90±5% relative humidity for 5 days.

Treatment	Disease incidence (%)	Disease severity (cm)	Sporulation index
Inoculation before hot water treatments			
45 °C 0.5 min	87.33 e	7.23 fg	4.14 g
45 °C 1 min	93.17 e	8.13 ghi	4.21 g
45 °C 2 min	82.67 de	6.66 ef	3.36 f
45 °C 3 min	71.33 cd	5.47 de	2.00 d
50 °C 0.5 min	83.33 de	7.26 fg	2.61 e
50 °C 1 min	88.67 e	7.62 fgh	2.78 e
50 °C 2 min	59.83 c	2.94 c	0.93 b
50 °C 3 min	40.00 b	1.59 b	0.32 a
55 °C 0.5 min	70.83 cd	6.57 ef	2.11 d
55 °C 1 min	63.17 c	4.80 d	1.39 c
55 °C 2 min	11.33 a	0.87 ab	0.18 a
55 °C 3 min	14.33 a	1.10 ab	0.36 a
Inoculation after hot water treatments			
45 °C 0.5 min	92.17 e	8.53 ghi	3.93 g
45 °C 1 min	90.00 e	8.47 ghi	3.93 g
45 °C 2 min	87.67 e	8.23 ghi	3.86 g
45 °C 3 min	90.67 e	8.65 ghi	4.07 g
50 °C 0.5 min	93.50 e	8.82 hi	4.18 g
50 °C 1 min	96.83 e	9.06 hij	4.28 g
50 °C 2 min	92.00 e	10.37 j	4.14 g
50 °C 3 min	90.67 e	8.63 ghi	3.82 g
55 °C 0.5 min	85.67 de	8.61 ghi	3.93 g
55 °C 1 min	90.67 e	8.71 ghi	4.07 g
55 °C 2 min	93.67 e	9.31 ij	4.11 g
55 °C 3 min	89.33 e	8.68 ghi	4.14 g
Inoculation without hot water treatments	93.67 e	9.31 ij	4.32 g
Uninoculation	0.00 a	0.00 a	0.00 a
CV (%)	**16.70**	**50.20**	**26.29**

Means in the same time of innoculation within column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

บางชนิดขึ้นมาเพื่อป้องกันตนเองในระหว่างที่ถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายเช่น chitinase และ heat shock proteins อีกทั้งความร้อนมีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อราในระยะแรกเริ่ม โดยความร้อนสามารถทำลายส่วนปลายเส้นใยของเชื้อรา จึงทำให้ปริมาณของเชื้อราที่สามารถเข้าทำลายผลส้มได้ลดลง (Schirra *et al.*, 2000) แสดงว่าช่วงอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้แช่ผลส้มสายน้ำผึ้งที่สามารถลดการเกิดโรคผลเน่าที่มีสาเหตุจากราเขียวได้ ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งสำหรับการนำไปใช้ในระบบการจัดการของโรงคัดบรรจุส้ม และอุตสาหกรรมส้ม เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย และเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยทำความสะอาดส่งผลให้ผลส้มมีลักษณะปรากฏที่ดีขึ้น อีกทั้งยังช่วยลดปริมาณสารพิษตกค้างอันเนื่องมาจากใช้สารเคมีฆ่าเชื้อราอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามควรมีการพัฒนาวิธีการจากระดับห้องปฏิบัติการไปสู่การนำไปใช้ประโยชน์ในระดับโรงคัดบรรจุส้มและอุตสาหกรรมส้ม เพื่อให้เหมาะสมกับผลิตผลที่มีกำลังผลิตในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น

สรุปผลการทดลอง

1. การแช่เชื้อราเขียวในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 3 นาที ชะลอการงอกของสปอร์เชื้อราเขียวได้ดีที่สุดเมื่อบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 252 °ซ ในที่มืดเป็นเวลา 48 ชม.

2. การปลูกเชื้อราเขียวบนผลส้มเป็นเวลา 3 ชม. ก่อนการแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 3 นาที และที่อุณหภูมิ 55±2 °ซ เป็นเวลา 2 และ 3 นาที ทำให้การเกิดโรค ความรุนแรงของโรคซึ่งวัดจากเส้นผ่าศูนย์กลางของแผล และดัชนีการเกิดสปอร์ของเชื้อราเขียวบนผลส้มลดลง เมื่อเก็บรักษาผลส้มที่อุณหภูมิ 24±2 °ซ และความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% เป็นเวลานาน 5 วัน

เอกสารอ้างอิง

เปรมปรี ณ สงขลา. 2544. *คู่มือการทำสวนส้มอย่างมืออาชีพ.* บริษัท ฐานการพิมพ์ จำกัด กรุงเทพฯ 380 หน้า.

Barkai-Golan, R. 2001. *Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables: Development and Control.* British Library Cataloguing in Publication Data, Amsterdam. 418 p.

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

Brown, G. E. 2005. *Green Mold.* Available: http://edis.ifas.ufl.edu/BODY__CH106.html, 7/9/2005.

Fallik, E., J. Klein, S. Grinberg, E. Lomaniec, S. Lurie and E. Lalazar. 1993. Effect of postharvest heat treatment of tomatoes on fruit ripening and decay caused by *Botrytis cinerea. Plant Dis.* 77: 985-988.

Lurie, S. 2005. Heat treatments to reduce

chilling injury and superficial scald. Pages. 43-60. *In: Environmentally Friendly Technologies for Agricultural Produce Quality.* S. Ben-Yehoshua (ed.), CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida.

Murata, T. 1997. Citrus. Pages. 21-46. *In: Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Subtropical Fruits.* S. K. Mitra (ed.), CAB International, Florida.

Palou, L., J. L. Smilanick, C. H. Crisosto and M. Mansour. 2001. Effect of gaseous ozone exposure on the development of green and blue molds on cold stored citrus fruit. *Plant Dis.* 85: 632-638.

Pitt, J. I. and A. D. Hocking. 1998. *Fungi and Food Spoilage.* 2nd edition, Blackie Academic and Professional, an Imprint of Chapman & Hall, London. 593 p.

Rodov, V., S. Ben-Yehoshua, R. Albagli and D. Q. Fang. 1995. Reducing chilling injury and decay of stored citrus fruit by hot water dips. *Postharvest Biol. Technol.* 5: 119-127.

Rodov, V., J. Peretz, T. Agar, G. D'hallewin and S. Ben-Yehoshua. 1996. Heat applications as complete or partial substitute of postharvest fungicide treatments of grapefruit and Oroblanco fruits. Pages. 1187-1191 *In: Proc. VIII Int. Citrus Congress Vol. 2.* 12-17 May, 1996. Sun City Resort, South Africa.

Schirra, M. and G. D'hallewin. 1997. Storage performance of fortune mandarins following hot water dips. *Postharvest Biol.* Technol. 10: 229-238.

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.

Timmer, L. W., S. M. Garnsey and L. H. Graham. 2000. *Compendium of Citrus Diseases.* APS Press, Minnesota. 92 p.

Timmer, L. W., S. M. Garnsey and P. Broadbent. 2003. Disease of citrus. Pages. 163-180. *In: Diseases of Tropical Fruit Crops.* R. C. Ploetz (ed.), CAB International Publishing, UK.