ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญา

โรคพืช | โรคพืช

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง การกระตุ้นความต้านทานในผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้สารเคมีที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ปลอดภัยที่มีต่อโรคแอนแทรคโนส

Induced Resistance of Mango after Harvest with Generally Recognized as Safe (GRAS) Chemicals Against Anthracnose Disease

นามผู้วิจัย นางสาววีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

(รองศาสตราจารย์สมศิริ แสงโชติ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ศาสตราจารย์สายชล เกตุษา, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เนตรนภิส เขียวขำ, Dr.rer.nat)

หัวหน้าภาควิชา .....

(อาจารย์อนงค์นุช สาสนรักกิจ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย 2556: การกระตุ้นความต้านทานในผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้สารเคมีที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ปลอดภัยที่มีต่อโรคแอนแทรคโนส ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สมศิริ แสงโชติ, Ph.D. 93 หน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกลุ่มที่ปลอดภัย (GRAS) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของสาร 3 ชนิด คือ สารโพรพิลพาราเบน กรดซาลิไซลิก และกรดออกซาลิก ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 100 250 500 750 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าสารโพรพิลพาราเบน ความเข้มข้น 250 500 750 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ 100.0 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับสารเคมีอิมาซาลิล โดยกรดซาลิไซลิกและกรดออกซาลิกสามารถยับยั้งการจริญและการงอกของสปอร์ได้เล็กน้อย เมื่อนำสารในกลุ่มนี้มาควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง โดยการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ความเข้ม ข้น 10^6 โคนีเดีย/มิลลิลิตร ก่อนและหลัง 24 ชั่วโมง การได้รับสารแล้วบ่มเชื้อไว้ที่ 25ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการใช้กรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร ก่อนปลูกเชื้อ มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีไม่แตกต่างกับสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร มีความรุนแรงของโรค 6.1 และ 6.0 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อจุ่มสารในกลุ่มนี้หลังการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* พบว่าสารโพรพิลพาราเบน 250 มิลลิกรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด มีความรุนแรงของโรค 4.9 เปอร์เซ็นต์ และกรดออกซาลิก ความเข้นข้น 100 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร มีความรุนแรงของโรค 14.6 และ 11.8 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของกรดออกซาลิกกับผลมะม่วงเพื่อกระตุ้นความต้านทานในระยะเวลาต่างกันที่เวลา 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส พบว่ามะม่วงที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง สามารถลดความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุด มีความรุนแรงของโรค 4.1 เปอร์เซ็นต์ และกรดออกซาลิกสามารถชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสได้สูงสุด คือมีค่าเท่ากับ 23.9 units/mg protein นอกจากนี้ยังพบว่ากรดออกซาลิกสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงสีเปลือก การรักษาความแน่นเนื้อของมะม่วง แต่พบว่าไม่มีผลต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และกรดแอสคอร์บิก

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Weeraporn Dejnumbunchachai 2013: Induced Resistance of Mango after Harvest with Generally Recognized as Safe (GRAS) Chemicals Against Anthracnose Disease. Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Associate Professor Somsiri Sangchote, Ph.D. 93 pages.

The effectiveness of generally recognized as safe (GRAS) including propyl paraben, salicylic acid and oxalic acid at five concentrations of 100 250 500 750 and 1,000 mg/l was tested to control mango anthracnose. *In vitro* experiment, propy paraben at concentrations of 250, 500,750 and 1,000 mg/L inhibited mycelial growth and spore germination at 100% similar to imazalil (positive control) whereas salicylic acid and oxalic acid showed low inhibition. *In vivo*, experiments were divided into pre and post inoculation with *C. gloeosporioides* 10^6 conidia/ml at 25ºC for 24 hr in the moist condition after treatment. The pre-inoculation experiment, 100 mg/L oxalic acid showed the most efficiency to control disease which was no significant difference with at 250 mg/L imazalil and disease severity was 6.1 and 6.0 % respectively. For the post-inoculation experiment, propyl paraben at 250 mg/L showed the lowest disease severity at 4.9% and oxalic acid at 100 and 250 mg/L was 14.6 and 11.8 %. Mango fruit were dipped in 100 mg/l oxalic acid at 6, 12, and 18 and 24 hr, before inoculation with *C .gloeosporioides*, ß-1, 3 -glucanase assay was conducted. The result revealed that mango fruit dipped in 100 mg/L oxalic acid at 24 hr before inoculation treatment had the lowest disease severity at 4.1% and induced the highest ß-1,3 –glucanase activity at 23.92 units/mg protein. Furthermore, oxalic acid delayed color changes and firmness losses, but had no effect on titratable acidity, total soluble solids content and ascorbic acid.

_____ _____ __ / __ / __

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รศ. ดร.สมศิริ แสงโชติ ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนได้ให้คำปรึกษาแนะนำ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ขอขอบพระคุณ ศ.ดร.สายชล เกตุษา กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก และ ผศ.ดร. เนตรนภิส เขียวขำ กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง และ ดร.บุญญวดี จิระวุฒิ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ ตรวจสอบแก้ไขและช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ดร.รัมม์พัน โกศลานันท์ และคุณรัตตา สุทธยาคม ตลอดจนพี่ๆเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือ แนะแนวทางสำหรับการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณแม่ ที่ได้อบรมและให้กำลังใจผู้วิจัยมาตลอดในทุกเรื่อง

วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย

กันยายน 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	26
ผลและวิจารณ์	36
สรุปและข้อเสนอแนะ	66
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	68
ภาคผนวก	81
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมีและวิธีการวิเคราะห์เอนไซม์	82
ภาคผนวก ข ตารางแสดงผลความแปรปรวนทางสถิติ	88
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	93

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล	40
2	ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 9 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล	44
3	ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ก่อนจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล	47
4	ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล	51
5	ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการกระตุ้นความต้านทาน ที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล	54
6	ผลของระยะเวลาที่ต่างกันของสารกลุ่มที่ปลอดภัยบนผิวของมะม่วงน้ำดอกไม้ต่อการชักนำการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทาน (pathogenesis-related proteins) ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล	56
7	ความรุนแรงของโรค (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ผ่านการกระตุ้นความต้านทานด้วยกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตามด้วยการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 วัน	59
8	ผลของกรดออกซาลิกต่อการเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อของเนื้อและเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน	64

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

9 ผลของกรดออกซาลิกต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (L-value) ค่าสีเขียว – แดง (a-value) และค่าสีน้ำเงิน – เหลือง (b-value) ส่วนเปลือกของมะม่วงน้ำดอกไม้ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน 64

10 ผลของกรดออกซาลิกต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และกรดแอสคอร์บิก (วิตามินซี) ของมะม่วงน้ำดอกไม้ภายหลังการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน 65

ตารางผนวกที่

ข1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล 89

ข2 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 9 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล 89

ข3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ก่อนจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล 90

ข4 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล 90

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่ **หน้า**

ข5 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัย ในการกระตุ้นความต้านทาน ที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนส ของมะม่วง ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล 91

ข6 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ผลของระยะเวลาที่ต่างกันของสารกลุ่ม ที่ปลอดภัยบนผิวของมะม่วงน้ำดอกไม้ ต่อการชักนำการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้อง กับความต้านทาน (pathogenesis-related proteins) ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล 91

ข7 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ความรุนแรงของโรค (%) บนผลมะม่วง น้ำดอกไม้ที่ผ่านการกระตุ้นความต้านทานด้วยกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตามด้วยการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 วัน 92

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วิถีการสังเคราะห์กรดซาลิไซลิกในพืช	12
2	สูตรโครงสร้างของเอสเทอร์ของพารา-ไฮดรอกซีเบนโซอิกแอซิด	16
3	กลไกของระบบการป้องกันตนเองของพืชแบบซิสเทมมิค อะไควร์ รีซิสแตนท์ เมื่อพืชถูกรุกรานโดยเชื้อก่อโรค	25
4	โรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*	37
5	ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล	39
6	ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 9 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล	43
7	ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ก่อนจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล	46
8	ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล	50
9	ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการกระตุ้นความต้านทาน ที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล	53
10	ความรุนแรงของโรค (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ผ่านการกระตุ้นความต้านทานด้วยกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตามด้วยการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 วัน	58

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
ก1	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น Ovalbumin กับการดูดกลืนแสงที่ 595 nm	84
ก2	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm	87

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การกระตุ้นความต้านทานในผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้สารเคมีที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ปลอดภัยที่มีต่อโรคแอนแทรคโนส

Induced Resistance of Mango after Harvest with Generally Recognized as Safe (GRAS) Chemicals Against Anthracnose Disease

คำนำ

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) เป็นพืชสกุล Mangifera อยู่ในวงศ์ Anacardiaceae เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญและมีมูลค่าการส่งออกสูง จากข้อมูลการส่งออกในปี 2554 มีการส่งออกมะม่วง 63,827 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2006.794 ล้านบาท และในปี 2555 ส่งออกมะม่วง 74,061 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,406.519 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) ซึ่งมีแนวโน้มการส่งออกและการขยายตลาดเพิ่มมากขึ้น และแม้ว่าตลาดจะมีความต้องการมะม่วงไทยเพิ่มสูงขึ้น แต่การส่งออกกลับถูกจำกัดด้วยอุปสรรคที่สำคัญคือ ปัญหาการเน่าเสียของผลมะม่วงอันเนื่องมาจากโรคหลังการเก็บเกี่ยวในระหว่างการขนส่งและเก็บรักษา คือ โรคแอนแทรคโนส ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เชื้อราชนิดนี้เข้าทำลายแบบแฝง (latent infection) ตั้งแต่มะม่วงเจริญอยู่บนต้น โดยเชื้อราจะพักตัวอยู่ในผลมะม่วงและแสดงอาการของโรคเมื่อมะม่วงเริ่มสุก การควบคุมโรคภายหลังการเก็บเกี่ยวนั้นเพื่อกำจัดหรือลดระดับการติดเชื้อแฝงอยู่ภายในผล (Prusky and Keen, 1993) โดยสารเคมีที่ใช้อยู่ในปัจจุบันเป็นสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภทดูดซึมในกลุ่มเบนซิมิดาโซล (benzimidazole) ได้แก่ เบโนมิล (benomyl) คาร์เบนดาซิม (carbendazim) ไทอะเบนดาโซล (thiabendazole) และไทโอฟาเนท-เมทิล (thiophanate-methyl) เป็นต้น สารเคมีในกลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการแทรกซึมเข้าไปทำลายเชื้อสาเหตุโรคที่แฝงตัวอยู่ในเนื้อเยื่อผิวของผลิตผล ทำให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในผลมะม่วง กระทบต่อผลผลิตที่จะส่งออก เนื่องจากถูกต่อต้านและถูกกีดกันทางการค้าด้วยเหตุผลในเรื่องความปลอดภัยของผู้บริโภค

จากปัญหาและความเสียหายดังกล่าว จึงได้มีการพัฒนาวิธีการควบคุมโรคโดยใช้สารเคมีในกลุ่มปลอดภัยต่อผู้บริโภค (generally recognized as safe, GRAS) ซึ่งเป็นสารเคมีที่ผ่านการรับรองโดยองค์การอาหารและยา (Food and Drug Administration, FAD) ว่าสามารถเติมลงไปในอาหารได้อย่างปลอดภัย (Anonymous, 2012) ทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่มีอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม ซึ่งสารกลุ่มที่ปลอดภัยที่นำมาใช้ในงานวิจัยครั้งนี้มี 3 ชนิด คือ สาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โพรพิลพาราเบน (propyl paraben) เป็นวัตถุกันเสีย (preservative) ที่ใช้ในอาหาร ยา เครื่องสำอางค์ เป็นสารต้านเชื้อรา ยีสต์ แบคทีเรีย อัตราที่แนะนำไม่เกิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ กรดซาลิไซลิก (salicylic acid) เป็นสารประกอบฟีนอล มีผลต่อกระบวนการเจริญของพืช เช่น การปิดเปิดของปากใบ การงอกของเมล็ด เป็นต้น นอกจากนี้กรดซาลิไซลิก ยังเกี่ยวข้องกับกลไกของการชักนำความต้านทานในพืช และกรดออกซาลิก (oxalic acid) เป็นกรดอินทรีย์ที่มีอยู่ทั่วไปในพืช เชื้อราและสัตว์ นำมาใช้เป็นวัตถุกันเสียสำหรับอาหารและเป็นสารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในผักหลังการเก็บเกี่ยว (Castafier *et al*., 1997) ในการศึกษานี้เพื่อหาแนวทางในการควบคุมโรคทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่มีอันตรายสูง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัย (generally recognized as safe, GRAS) ต่อการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส

2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัย (GRAS) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของผลมะม่วงน้ำดอกไม้

3. เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการชักนำการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทาน (pathogenesis-related proteins) ของผลมะม่วงน้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

มะม่วง (Mango) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mangifera indica* Linn. เป็นไม้ผลเขตร้อน จัดอยู่ในวงศ์ Anacardiaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินเดียและพม่า มีแหล่งศูนย์กลางการกระจายพันธุ์อยู่บริเวณประเทศในคาบสมุทรอินโดจีน สามารถปลูกได้ตั้งแต่ในดินเหนียวจนถึงดินทราย แต่ที่เหมาะสมที่สุดคือดินร่วน และมีสภาพเป็นกรดอ่อนจนถึงเป็นกลางคือมีระดับ pH ระหว่าง 5.5-7.5 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของมะม่วงอยู่ในช่วง 21.1-26.7 องศาเซลเซียส ในประเทศไทยมะม่วงมีการออกดอกในช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ เนื่องจากเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิเหมาะสมในการกระตุ้นการออกดอก คือมีอุณหภูมิระหว่าง 15-20 องศาเซลเซียส และหลังดอกบานเต็มที่ประมาณ 100 วัน เป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวผลมะม่วง การขยายพันธุ์มะม่วงสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การเพาะเมล็ด การติดตา การเสียบยอด การต่อกิ่ง การตอน วิธีที่นิยมมากที่สุดในปัจจุบันคือการทาบกิ่ง เนื่องจากต้นที่ได้มีลักษณะตรงตามพันธุ์เดิมและมีระบบรากแก้วที่แข็งแรงเช่นเดียวกับการเพาะเมล็ด (เฉลิมชัย, 2539)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะม่วง

ต้น ขนาดของลำต้นขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และอายุ มีความสูงตั้งแต่ 10-40 เมตร ลำต้นตรง เปลือกแก่จะมีสีน้ำตาล ผิวขรุขระและมีเกล็ดมาก เปลือกอ่อนจะมีสีเขียว เปลือกมีน้ำมันยาง (resin) ผสมกับยางไม้ (gum) รวมทั้งกรดแทนนิก (tannic acid) ด้วย เนื้อไม้เมื่อมีอายุน้อยจะมีสีเขียว เมื่อมีอายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแกมแดง มีกิ่งก้านขนาดใหญ่และแข็งแรง ลักษณะทรงพุ่มเป็นรูปครึ่งวงกลมหรือรูปไข่

ใบ เป็นใบเดี่ยวเรียงแบบสลับ มีเส้นใบเล็กและห่างกัน ผิวใบมัน ขอบใบเรียบหรือเป็นลอนเล็กน้อย โคนใบแคบและค่อยๆ กว้างออกคล้ายรูปลิ่มแหลม มีเส้นใบ (vein) 12-13 คู่ ใบจะอยู่เป็นกระจุกตอนปลายกิ่งและเรียงตัวแบบสลับกัน (alternate) ใบอ่อนมีสีแตกต่างกัน เช่น สีเขียวอ่อน สีม่วง ลักษณะรูปร่างของใบแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ เช่น ลักษณะปลายใบเรียวแหลม พบใน มะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้และอกร่อง ลักษณะปลายใบสอบเรียว พบในมะม่วงแก้วและหนังกลางวัน และลักษณะฐานใบแหลม พบในมะม่วงแก้ว น้ำดอกไม้ หนังกลางวันและอกร่อง เป็นต้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ช่อดอก (inflorescence) ส่วนใหญ่เกิดบริเวณปลายกิ่งตรงที่ช่อใบแก่เต็มที่ และผ่านการพักตัว (quiescent state) แล้ว ช่อดอกเป็นแบบช่อแยกแขนง (panicle) คือ มีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมพีระมิด (pyramid) ตาบริเวณปลายกิ่งพัฒนาเป็นก้านช่อดอกหลัก และมีช่อย่อยแตกแขนง แต่ละก้านช่อดอกย่อยมีการแตกแขนงอีก ก้านช่อดอกมีขนปกคลุม และมักมีสีแดงเรื่อๆ ขนาดช่อดอกแตกต่างกันตามพันธุ์ และสภาพแวดล้อม (Sukhvibul *et al*., 1996) ช่อดอกอาจมีใบอ่อนแซม (leafy inflorescence) หรือไม่มีใบอ่อนแซม (leafless inflorescence) ขึ้นกับว่าในช่วงของการออกดอกนั้นมีอุณหภูมิต่ำเพียงพอสำหรับการชักนำให้เกิดตาดอกที่สมบรูณ์หรือไม่ (Davenport and Nunez-Elisea, 1997)

ดอกมะม่วงมีทั้งดอกเพศผู้ (staminate flower) และดอกสมบรูณ์เพศที่ทำหน้าที่เป็นดอกเพศเมีย (hermaphrodite functioning as female flower) อยู่บนต้นเดียวกัน (monoecious plant) มีดอกสองเพศอยู่บนช่อเดียวกัน (polygamous) ดอกเรียงตัวบนช่อดอกแบบช่อกระจุก (cyme) ดอกย่อยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-8 มิลลิเมตร ก้านดอกยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร มีกลีบเลี้ยง (sepal) ที่โค้งนูน สีเขียวอมเหลือง และมีขนปกคลุมจำนวน 5-6 กลีบ กลีบดอก (petal) สีชมพู จำนวน 5-6 กลีบ เช่นกัน กลีบดอกยาวประมาณ 2 เท่าของกลีบเลี้ยง จานฐานดอก (disc) รูปถ้วย บนจานฐานดอกมีน้ำต้อย (nectar)

ผลมีเมล็ดเดียว ขนาดรูปร่างของผลมีได้ต่างๆกันแล้วแต่ชนิดของมะม่วง ผลดิบมีสีเขียว เมื่อสุกเนื้อจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือเหลืองส้ม รูปร่างของผลมีตั้งแต่กลมจนไปถึงรูปไข่ค่อนข้างยาว สีเปลือกด้านนอกของผลประกอบด้วยส่วนผสมของสีต่างๆ เช่น สีเขียว เหลือง และแดง ผลจะแก่ภายใน 3-4 เดือน หลังจากดอกบาน ผลแบ่งออกเป็น 3 ชั้น คือ ผนังชั้นนอก (เปลือก) จะหนาและมีต่อมน้ำยางพบกระจายทั่วไปในเปลือก ผนังผลชั้นกลางเป็นส่วนของเนื้อผล สีขาวอมเขียวเมื่อดิบ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมส้มเมื่อแก่จัด และมีสีส้มเข้มขึ้นเมื่อสุก ผนังผลชั้นใน (กะลา) เป็นส่วนหุ้มเมล็ด มีลักษณะแข็ง ผิวเป็นเส้นใย มีเมล็ดภายใน 1 เมล็ด ซึ่งเมล็ดจะอยู่ถัดจากผนังผลชั้นในมีขนาดแตกต่างกันไปตามพันธุ์ บางพันธุ์เมล็ดลีบ ประกอบด้วยเปลือกเมล็ดชั้นนอกกับเปลือกเมล็ดชั้นใน ซึ่งเป็นเยื่อหุ้มเมล็ดมีสีน้ำตาล ภายในเมล็ดประกอบด้วยเอนโดสเปิร์มและต้นอ่อน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มะม่วงน้ำดอกไม้

มะม่วงน้ำดอกไม้เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ ลำต้นเป็นพุ่ม ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับใบอ่อนสีแดงเรื่อๆ เมื่อแก่ใบสีเขียวเข้ม ดอกสีขาวนวล มีดอกสมบูรณ์เพศเฉลี่ย 274.75 ± 87.50 ดอกต่อช่อ และมีดอกเพศผู้เฉลี่ย 1,044.56 ±298.62 ดอกต่อช่อ (สมนึก, 2528) มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นพันธุ์ที่ไวต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง ฉะนั้นอัตราส่วนของเพศดอกจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ (ศิริชัย, 2523) ถ้าอุณหภูมิต่ำและมีเวลานานพอจะทำให้มะม่วงออกดอกและติดผลได้ดี ถ้าช่วงออกดอกและติดผล อุณหภูมิต่ำมากกว่า 8-20 องศาเซลเซียส จะทำให้มีดอกตัวผู้มากกว่าดอกสมบูรณ์เพศมาก ทำให้มะม่วงติดผลน้อยหรือไม่ติดผลเลย (สนั่น, 2527) ระยะเวลาเก็บเกี่ยวตั้งแต่ออกดอกจนกระทั่งผลแก่ใช้เวลาประมาณ 115 วัน ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่ปลูกในภาคต่างๆ มีช่วงเก็บเกี่ยวดังนี้ ภาคกลางและภาคตะวันตกเริ่มแก่เก็บเกี่ยวกลางเดือนมีนาคม ภาคตะวันออกเริ่มแก่เก็บเกี่ยวกลางเดือนเมษายน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเริ่มแก่เก็บเกี่ยวปลายเดือนเมษายน ซึ่งเป็นการออกดอกติดผลของมะม่วงในฤดู แต่มะม่วงน้ำดอกไม้ทะวายจะมีการออกดอก 3 ครั้งในรอบปี คือ ต้นฤดูฝน (ระหว่างเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน) และเก็บเกี่ยวผลได้ในเดือนสิงหาคม – กันยายน เป็นช่วงที่ติดผลน้อยที่สุด ปลายฤดูฝน (กันยายน- ตุลาคม) ซึ่งจะเก็บเกี่ยวได้ในเดือนธันวาคม – มกราคม ช่วงนี้มีเปอร์เซ็นต์การติดผลสูง ฤดูหนาว (ธันวาคม – มกราคม) เก็บเกี่ยวผลในช่วงเดือนมีนาคม – เมษายน ซึ่งเป็นช่วงที่ติดผลดีที่สุด (สนั่น, 2527) ผลมีขนาดปานกลางถึงใหญ่ ลักษณะของผลอ้วน หัวใหญ่ปลายแหลม ผลค่อนข้างยาว เปลือกบาง เปราะมีต่อมกระจายห่างๆทั่วผล คุณภาพของผลดิบ สีเปลือกสีเขียวนวล เนื้อแน่น หนา สีขาว รสเปรี้ยวจัด เมื่อแก่จัดรสมัน เมื่อสุก ผิวของเปลือกสีเหลืองนวลถึงเหลืองทอง เนื้อสีเหลืองมักมีกลิ่นหอม ลักษณะของเนื้อละเอียด มีเสี้ยนค่อนข้างน้อย รสหวานเย็น ความหวานประมาณ 19 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดแบนยาว เมื่อเพาะต้นอ่อนขึ้นได้หลายต้นจากเมล็ดเดียว (วิจิตร, 2529)

การเจริญของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นแบบ simple sigmoid curve แบ่งออกเป็น 3 ระยะได้แก่ ระยะที่ 1 เริ่มตั้งแต่ติดผลในช่วง 10 วัน เป็นระยะที่มีอัตราการเจริญเติบโตช้า ระยะที่ 2 เป็นระยะที่มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใช้ระยะเวลา 56 วัน และระยะที่ 3 ใช้ระยะเวลาประมาณ 42 วัน เป็นระยะที่มีการเจริญเติบโตช้า การเจริญทางยาวมากกว่าด้านกว้างและหนา และเข้าสู่ระยะบริบูรณ์ ผลมะม่วงที่มีอายุตั้งแต่ 91 วันเป็นต้นไปผลมีขนาดคงที่ขนาดผลเฉลี่ย 13.81 ซม. กว้าง 6.98 ซม. หนา 6.49 ซม. สำหรับระยะบริบูรณ์ของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้จะใช้เวลาประมาณ 108 วันหลังดอกบาน (เกศศินี, 2525; Kosiyachinda *et al*., 1984) ระหว่างการเจริญของผลมะม่วงมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของผล การเปลี่ยนแปลงนี้มีความแตกต่างกันตามพันธุ์และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แหล่งที่ปลูก แต่มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงในผลมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ คล้ายคลึงกัน การเปลี่ยนแปลงที่สำคัญที่สุดตลอดระยะการเจริญของผลคือ มีการสะสมของแป้งในส่วนของเนื้อผล (Kosiyachinda *et al*., 1984) ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้พบว่าในระยะ 9 สัปดาห์แรกหลังจากติดผล ซึ่งเป็นระยะที่ผลเจริญอย่างรวดเร็วและมีการสะสมแป้งต่ำ หลังจากนั้นผลมีการเจริญอย่างช้า ๆ ซึ่งตรงกับช่วงที่ส่วนของ endocarp แข็งแล้วจะมีการสะสมของแป้งในส่วนเนื้อผลเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งเก็บเกี่ยว (ดวงตรา, 2526) ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่มีความบริบูรณ์แล้ว อายุ 91-105 วัน หลังช่อดอกบาน 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณแป้งตั้งแต่ 18-20 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป (ชมัยพร, 2537)

มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เมื่อผลอายุมากขึ้น มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids:TSS) เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ (ดวงตรา, 2526) ผลดิบอายุ 91-105 วัน หลังช่อดอกบาน 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 15 เปอร์เซ็นต์ (ชมัยพร, 2537) เมื่อสุกผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ที่มีอายุ 93-111 วัน มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ อยู่ในช่วง 20-21 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วนี้เนื่องจากมีการเพิ่มขึ้นของน้ำตาล โดยมีปริมาณน้ำตาลประเภท non-reducing สูงกว่าน้ำตาลประเภท reducing (ดวงตรา, 2526)

โรคแอนแทรคโนสของมะม่วง

เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) จัดเป็นโรคที่แพร่ระบาดอย่างกว้างขวาง เชื้อราสามารถเข้าทำลายได้ทุกระยะการเจริญเติบโต และทำความเสียหายในทุกที่ที่มีการปลูกมะม่วง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งปลูกที่มีความชื้นสูงจะระบาดรุนแรง เชื้อชนิดนี้แพร่ระบาดได้ดีในสภาพอากาศร้อนชื้น และมีฝนตกชุกหรือมีหมอกลงจัด นอกจากมีต้นพืชเป็นแหล่งอาศัยแล้ว เชื้อรายังดำรงชีพอยู่บนเศษซากพืช เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะแพร่ระบาดสู่มะม่วง โดยเชื้อราสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า สปอร์ มีลักษณะเป็นเมือกเยิ้มสีส้มบนส่วนของพืชที่ตายแล้ว สปอร์อาจไหลไปตามน้ำ ติดปะปนไปกับน้ำที่ใช้รดต้นไม้ หรือปลิวไปตามลม เมื่อตกลงบนพืชแล้วจะงอก และแทงเข้าไปยังส่วนอื่นๆ ของพืช หรืออาจฝังตัวอยู่ จนส่วนพืชอ่อนตัวหรือเริ่มสุกจึงเข้าทำลาย (บรรณ, 2542)

ระยะต้นกล้า เป็นระยะที่เชื้อโรคเข้าทำลายมาก เพราะเป็นระยะที่อ่อนแอ และมีโอกาสได้รับเชื้อจากน้ำที่รด อาการนี้เกิดบนใบ ในระยะแรกๆ มีลักษณะเป็นจุดช้ำขนาดเล็กสีน้ำตาลแพร่กระจายไปบนใบและขอบใบ ต่อจากนั้นแผลขยายใหญ่ขึ้น เนื้อเยื่อส่วนนั้นจะแห้งตายและเป็นรูพรุน ถ้าเป็นมากใบจะบิดเบี้ยว เมื่อแผลลามติดกันทำให้เกิดรอยแผลไหม้ขนาดใหญ่หรือทั่วทั้งใบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในที่สุดทำให้ใบแห้งตายร่วงหล่น หากสภาพภูมิอากาศมีความชื้นมาก แผลลุกลามไปสู่ก้านใบหรือกิ่งอ่อน ทำให้เน่าดำจากยอด ใบร่วงและต้นกล้าตาย ที่ลำต้นของกล้าเชื้อราที่เข้าทำลายจะทำให้เป็นจุดสีดำหรือเป็นรอยแอ่งบุ๋ม ถ้าสภาพอากาศมีความชื้นสัมพัทธ์สูงจะพบเป็นเมือกสีส้มของสปอร์ขึ้นทั่วบริเวณรอยแผลบุ๋มนี้ ถ้าเป็นมากต้นกล้าจะหักพับที่รอยแผล ต้นที่เป็นโรคนี้จะอ่อนแอนำไปใช้เป็นต้นตอไม่ได้ (บรรณ, 2542)

ระยะต้นโต พบว่ามีจุดเล็กๆสีเทาบนใบแก่ เนื้อเยื่อตรงกลางแผลจะแห้งและแตกหลุดร่วง ทำให้ใบเกิดเป็นรูพรุน แผ่นใบที่เหลือมีสีเหลือง ถ้าอาการรุนแรงมากเนื้อเยื่อใบจะฉีกขาดกว้างขึ้น โดยเฉพาะส่วนยอดอ่อนที่ปลายกิ่งไม่มีการแตกใบอ่อน ยอดแห้งตายเป็นสีดำ ตรงกลางรอยแผลยุบตัวลงเล็กน้อย ถ้าสภาพอากาศชื้นอาจมีเมือกสีส้มของเชื้อราอยู่บนแผล ถ้าเป็นมากรอยแผลจะลามไปรอบกิ่ง ทำให้กิ่งและยอดเหี่ยวแห้งตาย (บรรณ, 2542)

ระยะออกดอกและผล เชื้อเข้าทำลายตั้งแต่เริ่มแทงช่อดอก ดอกมะม่วงที่ถูกทำลายจะเน่าเป็นสีดำร่วงหล่นไม่ติดผล ก้านช่อดอกที่ถูกทำลายเป็นจุดเน่าดำ การลำเลียงอาหารและน้ำไปสู่ดอกเป็นไปได้ไม่สะดวก ดอกอาจร่วงหล่นได้ทั้งช่อ ถ้าเป็นผลในระยะนี้จะได้รับเชื้อโรคเหมือนกัน โดยผลที่เกิดเป็นโรคมีจุดสีดำ รูปร่างกลมรีบนผิวของผล ขนาดหัวเข็มหมุดแล้วขยายจนถึงขนาด 2-3 เซนติเมตร แผลที่เป็นอาจพบรอยแตกมีเม็ดสีดำขนาดเล็กเรียงเป็นวงในแผล

อาการบนผลแก่หรือผลสุก ระยะเริ่มแรกแผลจะเป็นจุดฉ่ำน้ำเล็กๆ ต่อมาก็ขยายเป็นจุดสีดำอย่างรวดเร็ว รอยแผลกลม เกิดเป็นรอยบุ๋มตื้นและผิวผลแตกเป็นรอยแผลขยายเชื่อมติดกันเป็นรอยแผลโตขึ้น จนกระทั่งแผลเน่าและยุบลงหรือแผ่ลึกลงเข้าไปในเนื้อผล ทั้งที่ผลยังติดอยู่บนต้น หรือหลังเก็บมาแล้ว อาการเหล่านี้ปรากฏให้เห็นชัดเมื่อเก็บรักษาผลมะม่วงไว้เป็นเวลานานเพราะเนื้อภายในผลเริ่มอ่อนตัวทำให้เป็นโรคได้ง่าย โดยเฉพาะผลมะม่วงที่มีรอยแผลอยู่แล้วจะได้รับเชื้อง่ายและเน่าเร็ว (บรรณ, 2542)

สัณฐานวิทยาของรา *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อรา *C. gloeosporioides* (Penz.) Sacc. เป็นระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (imperfect stage) ของ *Glomerella cingulata* Spauld & Schrenk มีสปอร์รูปทรงกระบอก ปลายมน เซลล์เดียว ขนาด 9-24 x 3-4.5 ไมโครเมตร สร้างแอพเพรสซอเรีย (appressoria) ขนาด 6-20 x 4-12ไมโครเมตร รูปทรงกระบอก (clavate) หรือแตกต่างไปบ้างเล็ก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

น้อย สปอร์เกิดบนโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) ในฟรุตติ้งบอดี (fruiting body) แบบอะเซอวูลัส (acervulus) เส้นใยมีผนังกั้น ขนาดเฉลี่ยของอะเซอวูลัส 39.5 x 41.2 ไมโครเมตร ลักษณะโคโลนีของเชื้อราบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) มีลักษณะกลมขอบเรียบเส้นใยสีขาวเทาฟูเล็กน้อย สร้างกลุ่มสปอร์สีส้มถึงส้มอมชมพู มีลักษณะเป็นวงแหวน แต่ละไอโซเลตอาจแตกต่างกันได้บ้างเล็กน้อย ในเรื่องความหนาแน่นและสีของกลุ่มสปอร์ (อังสุมา, 2530)

การเข้าทำลายพืชของเชื้อรา *C. gloeosporioides*

เชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถทำให้เกิดอาการของโรคได้เกือบทุกส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน เช่น ใบ กิ่งอ่อน ดอก และผล เชื้อราสามารถเข้าทำลายได้ทุกระยะการเจริญเติบโต โดยอาการบนใบจะปรากฏชัดเห็นเป็นจุดแผลสีน้ำตาลขอบแผลไม่เรียบ เมื่ออาการของโรคพัฒนาเต็มที่เนื้อเยื่อบริเวณกลางแผลจะขาดหลุดเห็นเป็นรูกลางแผล (สุชาติ และ ขจรศักดิ์, 2521; Tricita and Quimio, 1974) หลังจากเชื้อเข้าทำลายได้แล้ว ถ้าผลยังไม่แก่เต็มที่เชื้อจะพักตัวอยู่แบบแฝง โดยเชื้อสาเหตุสร้างอินเฟคชั่น ไฮฟี (infection hyphae) ออกมาจากแอพเพรสซอเรีย ซึ่งจะเจริญลงไประหว่างเซลล์ลึกลงไปประมาณ 2-3 ชั้นของเซลล์ผิว แล้วพักตัวอยู่จนกระทั่งผลเริ่มสุกแสดงอาการของโรคเชื้อเจริญสร้างอะเซอวูลัสและสปอร์ (spore) เป็นแหล่งแพร่ระบาดโรคต่อไป (Verhoeff, 1974) รูปแบบการเข้าทำลายที่มีลักษณะเฉพาะทำให้เกิดอาการโรคแอนแทรคโนสบนพืชอาศัย (Perfect *et al.*, 1999) เมื่อสปอร์ราซึ่งแพร่กระจายโดยลม หรือกระเด็นตามหยดน้ำมาสัมผัสกับผิวของพืชอาศัยมีการยึดเกาะพื้นผิวบริเวณนั้น (spore adhesion) หลังจากนั้น 12-48 ชั่วโมง เมื่ออยู่ในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 95-100 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส สปอร์มีการแบ่งเซลล์เกิดเป็นผนังกั้น (septum) ก่อนที่จะงอกท่อ (germ tube) สั้นๆ ขนาด 10-20 ไมครอน และมีการสร้างแอพเพรสซอเรียม (appressorium) รูปร่างค่อนข้างกลม หรือทรงกระบอง ไม่มีสี อยู่ที่ปลายซึ่งเป็นลักษณะของรา *Colletotrichum* spp. และเป็นโครงสร้างสำคัญในการเข้าทำลายพืช เมื่อแอพเพรสซอเรียม มีอายุมากขึ้น 12-24 ชั่วโมง ผนังหนาและเปลี่ยนจากไม่มีสีกลายเป็นสีน้ำตาลเข้ม จากการสะสมเมลานินแล้วงอกอินเฟคชั่น เปค (infection peg) จากแอพเพรสซอเรียม ด้านที่สัมผัสกับผิวพืชแทงทะลุผ่านชั้นคิวติเคิล (cuticle) และเอพิเดอร์มิส (epidermis) เข้าสู่พืชได้ด้วยการใช้แรงดัน (mechanical force) ร่วมกับการสร้างเอนไซม์คิวตินเนส ออกมาย่อยสารคิวตินที่เคลือบผิวพืชโดยไม่จำเป็นต้องอาศัยบาดแผลหรือช่องเปิดธรรมชาติ (Kuo, 1999) เมื่อราเข้าครอบครองเซลล์พืชได้แล้ว จึงเริ่มกระบวนการเข้าทำลายพืชแบบเฮมิไบโอโทป (hemibiotroph) ซึ่งแบ่งเป็น 2 ระยะ ได้แก่ ในระยะแรกรามีการพัฒนาเส้นใยที่เรียกว่าอินทราเซลลูลาร์ ไฮฟา (intracellular hypha) อยู่ภายในเซลล์พืชนั้นโดยยังไม่ทำอันตรายกับเซลล์พืช ต่อมาเมื่อมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจึงมีการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พัฒนาอินทราเซลลูลาร์ ไฮฟาเข้าทำลายเซลล์พืชข้างเคียงทำให้เกิดอาการเซลล์ตายลุกลามเป็นแผลในรูปแบบเฉพาะของอาการโรคแอนแทรคโนส (Jeffries *et al.*, 1990; Bailey *et al.*, 1992; Son-Quang, 2002)

ลักษณะการเข้าทำลายแบบแฝงของเชื้อรา *Colletotrichum* นี้เกี่ยวข้องกับสภาพทางสรีรวิทยาของพืช โดยอาการของโรคปรากฏขึ้นเมื่อถึงระยะของการสุกแก่ และในระหว่างการเพิ่มปริมาณของเชื้อราภายในเนื้อเยื่อของผล เชื้อสามารถเจริญโดยใช้อาหารจากเซลล์พืช ได้ 2 รูปแบบ คือแบบไบโอทรอฟฟี (biotrophy) เชื้อราได้รับอาหารจากเซลล์ของพืชที่มีชีวิตอยู่ และแบบเนคโคทรอฟฟี (necrotrophy) เชื้อราได้รับอาหารจากเซลล์พืชที่ตายแล้ว ซึ่งเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรานั้นเอง (Perfect *et al*., 1999) สมมุติฐานการเจริญของเชื้อราแบบไบโอทรอฟฟิค (biotrophic) ในการเข้าทำลายแบบแฝง (Prusky, 1996) มี 3 ปัจจัยหลัก ได้แก่ 1. การขาดแคลนแหล่งอาหารภายในพืชอาศัยเพื่อการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค 2. การแสดงออกของสารพรีฟอร์ม (preform) หรือกระตุ้นความต้านทานภายในผลดิบ ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านเชื้อรา 3.สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา

การแพร่ระบาด

เชื้อรา *C. gloeoporioides* สามารถแพร่ระบาดโดยลมและฝน โดยเฉพาะในสภาพอากาศที่ชื้น รวมทั้งในแปลงที่แน่นทึบมีความชื้นสูงและอยู่ในระยะแตกยอดอ่อน แทงช่อดอก และติดผลอ่อน ซึ่งจะทำให้เป็นโรคได้ง่ายโดยสปอร์ของเชื้อราจากใบที่เป็นโรคจะไหลไปตามหยดน้ำลงสู่ขั้วผลแล้วกระจายไปทั่วผลทำให้ขั้วและก้นผลเน่า ในบางครั้งอาจพักตัวบนผลและทำให้ผลเน่าในระยะหลังเก็บเกี่ยว (นิพนธ์, 2542) สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับการงอกและเข้าทำลายพืชอาศัยของสปอร์ราคือสภาพที่มีความชื้นสูงและมีอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 4 ชั่วโมง ดังนั้นจึงพบว่าในช่วงฤดูฝนมักมีการระบาดของโรคแอนแทรคโนสอย่างรุนแรง เนื่องจากสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับการเจริญของรา ประกอบกับเป็นช่วงที่พืชมีการพัฒนาเนื้อเยื่อเจริญซึ่งเป็นระยะที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของรา (Waller, 1992)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

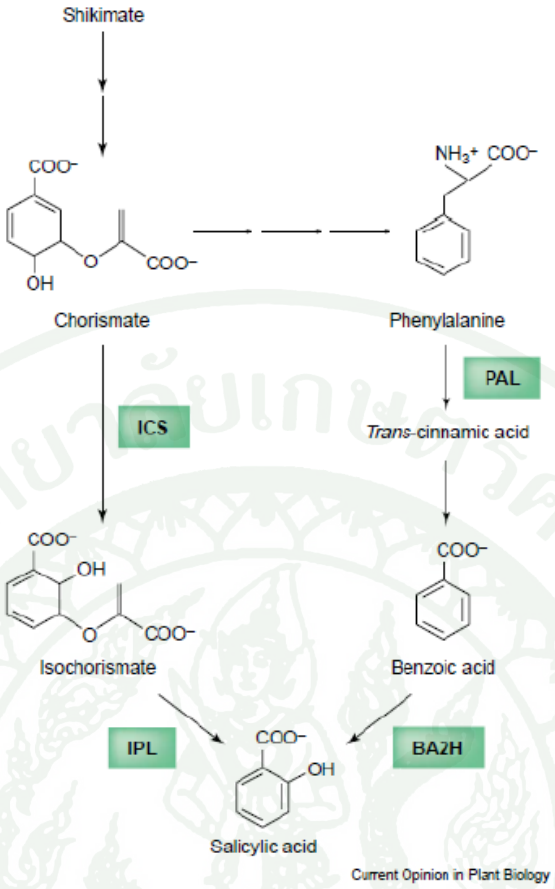
การควบคุมโรค

การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวในผลไม้มีหลายวิธี เช่น การใช้สารเคมี การใช้สารจุลินทรีย์ การใช้วิธีทางฟิสิกส์ และการเขตกรรม การใช้สารเคมีเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันมาก เนื่องจากให้ผลดีในการควบคุมโรค สำหรับสารเคมีที่นิยมใช้กับผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้มีหลายชนิด เช่น ไทอะเบนดาโซล (thiabendazole) คาร์เบนดาซิม (carbendazim) ไอโปรไดโอน (iprodione) แมนโคเซ็บ (mancozeb) อะซ็อกซี่สโตรบิน (azoxystrobin) อิมาซาลิล (imazalil) และโพรคลอราซ (prochloraz) เป็นต้น แม้ว่าการใช้สารเคมีจะให้ผลดีในการควบคุมโรค แต่ก็มีผลเสีย เนื่องจากมีการรายงานว่าพบปริมาณสารพิษตกค้างในเนื้อเยื่อพืช ซึ่งขณะนี้ตลาดของผู้บริโภคในยุโรปและประเทศที่พัฒนาแล้ว มีการกำหนดแนวทางค่อนข้างเข้มงวดกับการนำเข้าสินค้าอาหาร เช่น ในประเทศยุโรปกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRLs) ที่มีการใช้ในการผลิตมะม่วง พบว่า ไทอะเบนดาโซล คาร์เบนดาซิม อะซ็อกซี่สโตรบิน อิมาซาลิล และโพรคลอราซ มีค่า MRLs เท่ากับ 5.0 0.5 0.7 0.05 และ 5.0 ตามลำดับ โดยมุ่งเน้นให้ได้ผลผลิตปราศจากสารเคมีหรือสารพิษที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค จึงได้มีการพัฒนาวิธีการควบคุมโรคโดยใช้สารเคมีในกลุ่มปลอดภัยต่อผู้บริโภค (generally recognized as safe, GRAS) ได้แก่ กรดซาลิไซลิก กรดออกซาลิก และสารโพรพิลพาราเบน (propyl paraben) ซึ่งเป็นสารเคมีที่ผ่านการรับรองโดยองค์การอาหารและยา (Food and Drug Administration, FAD) ว่าสามารถเติมลงไปในอาหารได้อย่างปลอดภัย (Anonymous, 2012) โดยสารในกลุ่มนี้จะชักนำให้พืชมีกลไกในป้องกันตัวเองต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค

กรดซาลิไซลิก (salicylic acid, SA)

กรดซาลิไซลิกเป็นสารประกอบพวกอะโรมาติก (aromatic) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) โดยพืชสังเคราะห์กรดซาลิไซลิกมาจากฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) โดยเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส (phenylalanine ammonia lyase, PAL) หรือใช้สารตั้งต้นคือ โครีสเมต (chorismate) โดยเอนไซม์ ไอโซโครีสเมต ซินเทส (isochorismate synthase, ICS) และ ไอโซโครีสเมต ไพรูเวต ไลเอส (isochorismate pyruvate lyase, IPL) (ภาพที่ 1)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 1 วิถีการสังเคราะห์กรดซาลิไซลิกในพืช

ที่มา: Shah (2003)

กรดซาลิไซลิก เป็นสารที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การสังเคราะห์แสง การหายใจ การขนส่งและการนำไอออนต่างๆไปใช้ในพืช รวมทั้งยังมีบทบาทเป็นโมเลกุลส่งสัญญาณภายในเซลล์เพื่อให้พืชเกิดกระบวนการป้องกันตัวเองในพืช โดยกรดซาลิไซลิก จะไปชักนำความต้านทานโรคในพืช โดยจะไปยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส (catalase) ที่ทำหน้าที่สลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ทำให้พืชมีการสะสมไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่จะไปกระตุ้นระบบต่างๆ ได้แก่ กระบวนการหายใจ การสังเคราะห์แสง และการตายอย่างรวดเร็วของเซลล์ (hypersensitive cell death) นอกจากนี้ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ยังทำหน้าที่เป็นโมเลกุลส่งสัญญาณตัวที่ 2 (secondary messenger) ที่จะไปกระตุ้นการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานของพืช (pathogenesis-related proteins , PR-proteins) ต่อไป (Durner *et al*., 1997)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรดซาลิไซลิกต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช

กรดซาลิไซลิกเป็นสารที่มีบทบาทในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช จึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช ดังนี้

1. ผลต่อการออกดอกของพืช มีรายงานว่า กรดซาลิไซลิกสามารถกระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิด เช่น การออกดอกของยาสูบ ซึ่งการใช้กรดซาลิไซลิกร่วมกับสารไคเนทิน ส่งเสริมการสร้างตาดอก แต่ยังไม่ชัดเจนนัก เพราะมีสารหลายชนิดที่กระตุ้นการสร้างตาดอกในกลุ่มของยาสูบได้ (Raskin, 1992)

2. ผลต่อกระบวนการสังเคราะห์เอทิลีนในพืช โดยกรดซาลิไซลิกมีผลยับยั้งกระบวนการผลิตเอทิลีนโดยชะลอการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ ACC oxidase ได้ โดยเอนไซม์ ACC oxidase เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญของกระบวนการผลิตเอทิลีน ทำหน้าที่เปลี่ยน ACC ให้เป็นเอทิลีน เมื่อเอนไซม์ ACC oxidase ถูกรบกวน กระบวนการผลิตเอทิลีนจึงไม่สามารถเปลี่ยน ACC ให้เป็นเอทิลีนได้ (Li *et al.,* 1992; Fan *et al.,* 1996) จากการศึกษาของ Srivastava and Dwivedi (2000) พบว่ากรดซาลิไซลิกสามารถชะลอการสุกของกล้วยได้ โดยมีผลต่ออัตราการหายใจของกล้วย ซึ่งสอดคล้องกับ ศิริชัย (2548) พบว่า กรดซาลิไซลิกสามารถลดอัตราการหายใจและอัตราการผลิตเอทิลีนของมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ นอกจากนี้กรดซาลิไซลิกยังมีผลต่อการ transcription และกิจกรรมของเอนไซม์ ACC synthase ในผลมะเขือเทศ (Li *et al*.,1992) และ การใช้กรดซาลิไซลิกร่วมกับสารเคลือบผิวไคโตซาน มีประสิทธิภาพในการชะลอการสุกของละมุด โดยจุ่มละมุดด้วยกรดซาลิไซลิกที่ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารเคลือบผิวไคโตซานที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ และเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถรักษาคุณภาพและลดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของละมุดได้ดีที่สุด โดยมีผลในการชะลอการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัส และชะลอปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่เกิดขึ้น ทำให้มีอายุการเก็บรักษานานขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับละมุดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานเพียงอย่างเดียว (วารินทร์ และ สุภาวดี, 2549)

กรดซาลิไซลิกกับความต้านทานในพืช

พืชบางชนิดที่ต้านทานโรคจะควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อโรคที่เข้าทำลายให้กำจัดอยู่ในบริเวณเล็กๆรอบบริเวณที่เชื้อเริ่มเข้าไปในพืช ซึ่งจะเห็นเป็นรอยแผลสีน้ำตาล การป้องกันตนเองของพืชโดยการตายอย่างรวดเร็ว (hypersensitive reaction, HR) สามารถนำไปสู่ความต้านทานแบบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ซิสเทมมิค อะไควร์ รีซิสแตนท์ (systemic acquired resistance, SAR) ซึ่งความเกี่ยวข้องของ HR กับ SAR คือ การสร้าง pathogenesis-related protein (PR-protein) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ความต้านทานโรคพืช มีพืชบางชนิด HR และ SAR อาจถูกชักนำโดยกรดซาลิไซลิก หรืออะซิทิลซาลิไซลิก แอซิด (Acetysalicylic acid) แม้จะอยู่ในสภาพที่ไม่มีจุลินทรีย์โรคพืชอยู่ (Raskin, 1992) ในระหว่างการพัฒนาของพืชเพื่อตอบ สนองต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคนั้น พืชจะมีการสร้างกรดซาลิไซลิกจากกรดซินนามิกในบริเวณใกล้เคียงกับบาดแผลขึ้นมาปริมาณมาก โดยกรดซาลิไซลิกที่พืชสร้างส่วนใหญ่จะมี 2 รูปแบบ คือ

1. ในรูปของ β-O-D-glucosyl salicylic acid ซึ่งไม่มีการเคลื่อนย้ายไปยังส่วนต่างๆของพืช
2. ในรูปของกรดซาลิไซลิกอิสระสามารถเคลื่อนย้ายไปยังส่วนอื่นของพืชได้

เมื่อพืชสังเคราะห์กรดซาลิไซลิกขึ้นมา กรดซาลิไซลิกอิสระจะมีการเคลื่อนย้ายเข้าสู่ระบบท่อลำเลียงอาหารและถูกส่งไปสู่ส่วนต่างๆของต้นพืช และการเพิ่มขึ้นของกรดซาลิไซลิกในเนื้อเยื่อพืชนั้นสามารถชักนำ PR-protein และกลไกความต้านทานต่อการเข้าทำลายเชื้อโรคพืชได้ Zainuri *et al.* (2001) รายงานว่า การใช้กรดซาลิไซลิกก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวในมะม่วงพันธุ์ Kensington Pride ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. gloeosporiodes* ได้ นอกจากนี้ กรดซาลิไซลิกยังมีผลชะลอการสุกของมะม่วง จึงทำให้ยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น Beasley *et al*.(1999) พบว่า การใช้กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวดอก Geraldton waxflower สายพันธุ์ CWA Pink สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *Epicoccum* sp. นอกจากนี้ Yu *et al*. (2003) รายงานว่า การจุ่มผลกีวีด้วยกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 0.14 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ก่อนการเก็บรักษาสามารถกระตุ้นความต้านทานต่อเชื้อรา *Botrytis cinerea* ในผลกีวีพันธุ์ Hayward และกรดซาลิไซลิกยังมีผลกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส และเปอร์ออกซิเดส ซึ่งสอดคล้องกับ Yu *et al.* (2007) รายงานว่า กรดซาลิไซลิกมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Penicillium expansum* และ *Botrytis cinerea* สาเหตุโรคผลเน่าในสาลี่ โดยมีกระตุ้นให้ผลสาลี่มีกิจกรรมของเอมไซม์เปอร์ออกซิเดส และลดกิจกรรมของเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส และแคทตะเลส รวมทั้งเพิ่มการสังเคราะห์โปรตีนขนาด 33 และ 47 kDa ขึ้นใหม่ในผลเชอร์รี่ (Chan and Tian, 2006) และยังมีรายงานว่า กรดซาลิไซลิกมีผลโดยตรงต่อเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* โดยกรดซาลิไซลิกมีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ (Zainuri *et al.,* 2001)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

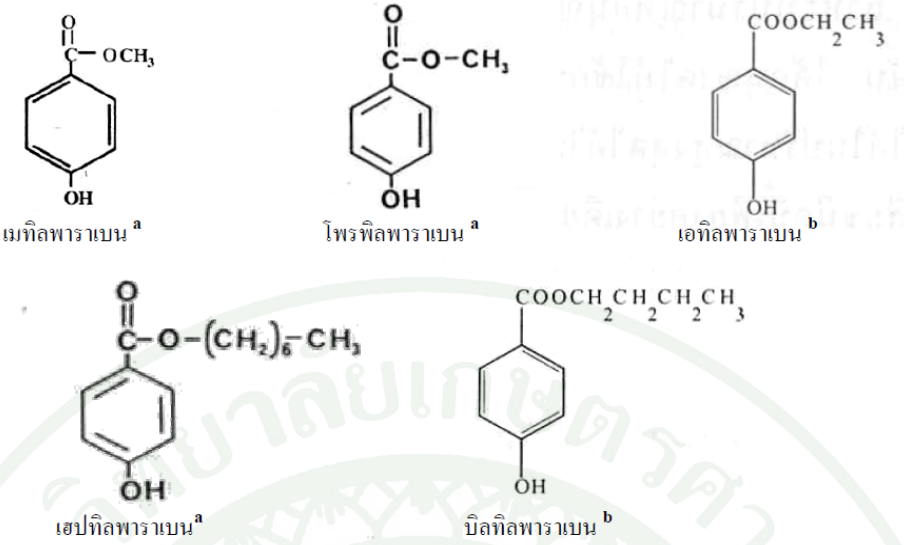
Mauricio *et al*. (2006) รายงานว่า กรดซาลิไซลิกที่ความเข้มข้น 0.1-100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และการใช้กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ ในระยะเวลา 20 วัน ก่อนการปลูกเชื้อรา *R.solani* สามารถลดการเกิดโรคใบไหม้ในถั่วเหลืองได้ แต่การใช้กรดซาลิไซลิกที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน และกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 5.0 มิลลิโมลาร์ ในระยะเวลา 0 5 10 และ 15 วัน ก่อนการปลูกเชื้อ *R.solani* ไม่สามารถลดการเกิดโรคใบไหม้ได้ Mazel and Levine (2001) พบว่า กรดซาลิไซลิกสามารถกระตุ้นการตายของเซลล์ (programmed cell death, PCD) ในต้น *Arabidopsis thaliana* ได้ โดยกรดซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้น 0.75 มิลลิโมลาร์ สามารถทำให้ต้น *A. thaliana* แสดงอาการตายของเซลล์ภายใน 6-12 ชั่วโมง

Ward *et al*. (1991) ในการทดลองพ่นกรดซาลิกไซลิกลงบนต้นอ่อนของยาสูบ พบว่ายีน PR-1 มีการแสดงออกสูงที่สุดหลังจากฉีดพ่นเป็นเวลา 1 วัน และเมื่อฉีดพ่นเชื้อไวรัสใบยาสูบด่าง (Tobacco Mosaic Virus, TMV) ตามลงไป พบว่ากรดซาลิไซลิกสามารถชักนำความต้านทานของยาสูบภายในเวลา 2 วัน โดยพบการติดเชื้อลดลงและมีการแสดงออกของยีน PR-1 ในระดับสูงขึ้น

เอสเทอร์ของพาราไฮดรอกซีเบนโซอิกแอซิด (ester of p-hydroxybenzoic acid)

เอสเทอร์ของพาราไฮดรอกซีเบนโซอิกแอซิด ที่ใช้โดยทั่วไป คือ อัลคิลเอสเทอร์ของพาราไฮดรอกซีเบนโซอิกแอซิด ซึ่งเรียกรวมว่า พาราเบน (paraben) (ภาพที่ 2) ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมี 2 ชนิด คือ เมทิลพาราเบน (methyl paraben) และโพรพิลพาราเบน (prophl paraben) เป็นวัตถุกันเสียที่รู้จักใช้กันอย่างแพร่หลาย ในผลิตภัณฑ์ประเภทยาและเครื่องสำอาง และเป็นวัตถุกันเสียที่ค่อนข้างมีความคงตัวดีมาก มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยีสต์ แต่ประสิทธิภาพต่ำในการคุมเชื้อแบคทีเรีย โดยฤทธิ์ของพาราเบนเพิ่มขึ้นตามความยาวของโซ่อัลคิล (alkyl chain) ที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อโซ่อัลคิลยาวขึ้นจะทำให้ละลายน้ำได้น้อยลง โดยละลายในตัวทำลาย เช่น น้ำ แอลกอฮอล์ หรือโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol) ด้วยเหตุนี้พาราเบนที่มีโซ่อัลคิลสั้นจึงมีการนำมาใช้มากกว่าโซ่อัลคิลยาว พาราเบนส์จะมีฤทธิ์สูงที่พีเอช (pH) 7 หรือสูงกว่านี้ สามารถถูกขับออกทางปัสสาวะ สำหรับปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขคือ ไม่เกิน 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 2 สูตรโครงสร้างของเอสเทอร์ของพารา-ไฮดรอกซีเบนโซอิกแอซิด

ที่มา: [a] Linsay (1996); [b] ศิวาพร (2546)

อิมาซาลิล (imazalil)

อิมาซาลลิล เป็นสารเคมีในกลุ่มอิมิดาโซล (imidazole) ใช้ในการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยว การใช้สลับกับสารเคมีในกลุ่มไทอะเบนดาโซล และเบนโนมิล โดยประสิทธิภาพของสารเคมีอิมาซาลิลผันแปรไปตามชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่เกี่ยวข้อง พบว่ามีการใช้สารเคมีอิมาซาลิลในการควบคุมโรคส้มหลังการเก็บเกี่ยว คือ *Penicillium digitatum* และ *Penicillium italicum* (Eckert *et al*., 1994) โดยสารเคมีอิมาซาลิลมีผลต่อการสังเคราะห์เออร์โกสเตอรอล (ergosterol) ซึ่งเป็นสเตอรอล (sterol) หลักที่ทำหน้าที่สำคัญมากของผนังเซลล์ในเชื้อราหลายชนิด ดังนั้นเมื่อเออร์โกสเตอรอล ถูกรบกวนจะทำให้ระบบการควบคุมการเคลื่อนที่ผ่านผนังเซลล์ของสารประกอบต่าง ๆ รวมทั้งไขมันผิดปกติ และเออร์โกสเตอรอลยังมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ควบคุมการเคลื่อนย้ายของสารผ่านเข้าออกจากเซลล์ (Demel and de Kruyff, 1976) แต่ยังไม่มีข้อกำหนดสำหรับพิษตกค้าง โดยเฉพาะในอเมริกาและญี่ปุ่น มีรายงานการใช้สารเคมีอิมาซาลิล 0.45 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับสารบิวทิลเลเตดไฮดรอกซิลแอนิโซล (butylated hydroxyanisole; BHA) 5 มิลลิโมลาร์ ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสของกล้วยที่เกิดจากเชื้อรา *C. musae* พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ 63-80 เปอร์เซ็นต์ (Khan *et al*., 2001) และ (Spalding, 1982) รายงานว่า จุ่มสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 2 นาที สามารถ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides*, *Diploida natalensis* และ *Phomopsis citri* ที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่ากับมะม่วงพันธุ์ Tommy Atkins และ Keitt หลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งเชื้อเหล่านี้มีความต้านทานต่อสารเคมีเบนโนมิล (จินตนา และ รณภพ, 2534) ใช้สารเคมีอิมาซาลิล ผสมกับสารเคมีคาร์เบนดาซิม 1,500 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าสามารถควบคุมโรคผลเน่าของมังคุดที่เกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* ได้นาน 7 วัน

McGuire and Campbell (1993) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงโดยการจุ่มผลมะม่วงในสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/ลิตร ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส พบว่าสารเคมีอิมาซาลิลสามารถลดอาการของโรคได้ 38-88 เปอร์เซ็นต์

ทศพร (2535) ทดสอบสารเคมีที่ใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสของกล้วยหอมที่เกิดจาก *C. musae* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าสารเคมีอิมาซาลิล และสารเคมีไทโอฟาเนทเมทิล. ที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และการจุ่มกล้วยในสารเคมีอิมาซาลิล 250 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 3 นาที สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้ดี และเมื่อใช้ร่วมกับการเก็บรักษาในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษากล้วยหอมได้นาน 30 วัน โดยที่กล้วยหอมไม่มีอาการของโรค ไม่เปลี่ยนสี และยังมีสภาพดี นอกจากนี้ยังได้ทำการทดสอบหาสารพิษตกค้างโดยวิธี bioassay ในผลกล้วยหอมที่จุ่มในสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 3 นาที โดยตรวจผลหลังจากจุ่มสารเคมีแล้ว 1 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณสารตกค้าง 44 มิลลิกรัม/ลิตร ในส่วนของเปลือกด้านนอก และหลังจากจุ่มในสารเคมีนาน 20 ชั่วโมง พบสารพิษตกค้างในเปลือกด้านนอก 12 มิลลิกรัม/ลิตร เปลือกด้านใน 13 มิลลิกรัม/ลิตร และไม่พบสารพิษตกค้างในส่วนของเนื้อเยื่อของกล้วยหอมหลังจากจุ่มในสารเคมีแล้ว นอกจากกล้วยหอมแล้วยังได้มีการตรวจสอบหาปริมาณสารพิษตกค้างบนผลทุเรียนโดยวิธี bioassay พบว่าผลทุเรียนที่จุ่มในสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/ลิตร โดยการจุ่มยก ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสำหรับใช้ในการควบคุมโรคผลเน่าของทุเรียน มีปริมาณสารเคมีตกค้าง 25.3 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อนำผลทุเรียนมาตรวจหาปริมาณสารเคมีตกค้างทันที มีปริมาณสารเคมีตกค้าง 14.4 มิลลิกรัม/ลิตร หลังจากจุ่ม 3 วัน และมีปริมาณสารเคมีตกค้างน้อยกว่า 10 มิลลิกรัม/ลิตร หลังจากจุ่มสาร 6 วัน หรือทุเรียนสุก (สุจิรา, 2543)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุจิรา (2543) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมี 7 ชนิด ได้แก่ ฟลูซิโลโซน ควอซาทีน อิมาซาลิล ไมโคลบิวทานิล โพรพิโคนาโซล ไทอะเบนดาโซล และไทโอฟาเนทเมทิล ความเข้มข้น 250 500 750 และ 1,000 ppm ในการควบคุมโรคผลเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *L. theobromae*, *C. gloeosporioides* และ *Phomopsis sp*. พบว่าสารเคมีอิมาซาลิล ทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 3 ชนิด และสารเคมีอิมาซาลิล ยังสามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *L. theobromae* ได้สูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์

กรดออกซาลิก (Oxalic acid)

กรดออกซาลิกเป็นกรดอินทรีย์อิสระพบได้ในผักหลายชนิด ได้แก่ กะหล่ำปลี ผักโขม บีทรูท เป็นต้น ส่วนใหญ่มีการนำไปใช้ในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาล โดยกรดออกซาลิกมีคุณสมบัติเป็น chelating agent เข้าจับกับโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และเปอร์ออกซิเดสมีผลทำให้เอนไซม์ทั้งสองทำงานไม่ได้หรือชะลอการทำงาน ดังการศึกษาของ Yang *et al*. (2000) และ Son *et al*. (2000) พบว่ากรดออกซาลิกเข้าจับกับทองแดงซึ่งเป็นโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส มีผลทำให้ทองแดงซึ่งจับกับเอนไซม์ในรูปออกซาลิก – คอปเปอร์ (II) คอมเพล็กซ์ ถูกออกซิไดส์เปลี่ยนจาก Cu^{2+} ไปเป็น Cu^{+} ทำให้คอมเพล็กซ์ระหว่างเอนไซม์กับโคแฟคเตอร์ถูกเปลี่ยนแปลง และเอนไซม์ทำงานไม่ได้หรือช้าลง นอกจากนี้ Perez-Ruiz *et al.* (2004) พบว่ากรดออกซาลิกสามารถเข้าจับเหล็กซึ่งเป็นโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสโดยการออกซิไดส์ Fe^{+3} ของคอมเพล็กซ์ไปเป็น Fe^{+2} ยังผลให้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาไม่ได้ จึงสามารถชะลอหรือยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ กรดออกซาลิกยังมีคุณสมบัติเป็น acidulant ที่สามารถแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออนสูง โดยลดพีเอสของสารละลายให้ต่ำ ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเอนไซม์ ส่งผลให้เสื่อมสภาพตามธรรมชาติ รวมทั้งความเสถียรของสับสเตรทถูกทำลายได้อย่างรวดเร็ว เมื่ออยู่ในสภาวะที่พีเอสต่ำมาก ทำให้ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และเปอร์ออกซิเดส เนื่องจากเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และเปอร์ออกซิเดส มีค่าพีเอสที่เหมาะสมต่อการทำงานประมาณ 7.0 และ 5.2 และยับยั้งการทำงานเมื่อมีค่าพีเอส ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 4.2 และ 2.0 (Yue-Ming *et al.,* 1997) จากการศึกษาในผลแอปเปิ้ลและสาลี่ของจีน พบว่ากรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.019 และ 0.017 กรัม/ลิตร ช่วยลดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่ก่อให้เกิดสีน้ำตาลลง โดยการเปลี่ยน Cu^{2+} ซึ่งเป็น prototropic group ของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ให้เป็น Cu^{+} เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้เอนไซม์ทำงานได้ต่ำลง (Yang *et al.,* 2000) การแช่แอปเปิ้ลพันธุ์ฟูจิตัดแบ่งชิ้นในกรดออกซาลิก 0.05 กรัม/100 มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ดี มีการเกิดสีน้ำตาลของผลเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(Lee *et al.,* 2003) และในผลฝรั่งตัดแบ่งชิ้นพันธุ์กลมสาลี่ พบว่าการแช่ในกรดออกซาลิก 1 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้เกิดสีน้ำตาลต่ำมาก ซึ่งสัมพันธ์กับแอคติวิตีของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่ต่ำลง ตลอดการเก็บรักษาเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ฉัตรนภา, 2547) นอกจากกรดออกซาลิกจะมีการนำไปใช้ในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลแล้ว สารดังกล่าวน่าจะเกี่ยวข้องกับกลไกความต้านทานในพืช เพื่อป้องกันตนเองจากการรุกรานของเชื้อสาเหตุอีกด้วย จากรายงานของ Tian *et al.* (2006) พบว่า กรดออกซาลิก ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ กระตุ้นให้ผลแพร์มีการสร้างสารที่เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านทานต่อเชื้อรา *Alternaria alternata* เช่น เบต้า-1,3 กูลคาเนส ฟีนิลอะลานีน แอมโมเนียไลเอส เพอออกซิเดส และโพลีฟีนอลออกซิเดส ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านทานโรคในพืช อีกทั้งกรดออกซาลิกยังมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรค จากรายงานของ บุญญวดี และ คณะ (2554) พบว่าเมื่อนำกล้วยหอมทองมาจุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอมทอง ที่เกิดจากเชื้อรา *L. theobromae* ได้ดี สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ 49.47 เปอร์เซ็นต์

การชักนำความต้านทานโรคในพืช

การชักนำความต้านทานของพืชที่เกิดจากการกระตุ้นของเชื้อนั้น เป็นความสัมพันธ์ของเชื้อสาเหตุโรคกับพืชอาศัย อิลิซิเตอร์ (elicitor) ซึ่งมาจากเชื้อสาเหตุโรคและพืชก็จะมีตัวรับรู้ (receptor) เป็นกระบวนการจดจำ (recognition) ของพืชต่อเชื้อส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอิออนที่ชั้นพลาสมาเมมเบรน ทำให้เกิดการแตกตัวของออกซิเจนและมีการสร้างไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) และสารพวกรีแอคทีฟ ออกซิเจน อินเตอร์มีเดียส (reactive oxygen intermediates, ROIs) ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide, O_2^-) และ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) นอกจากนี้ยังพบว่ามีการสะสมของกรดซาลิไซลิก (salicylic acid, SA) ทั้ง ไนตริกออกไซด์ รีแอคทีฟ ออกซิเจน อินเตอร์มีเดียส และกรดซาลิไซลิก อาจมีผลต่อเชื้อหรือเป็นโมเลกุลสัญญาณ (signal molecule) เพื่อส่งสัญญาณให้พืชเกิดความต้านทานแบบซิสเทมมิค อะไควร์ รีซิสแตนท์ จากรายงาน ของ Morris *et al*. (1998) พบว่าพืชสามารถถูกกระตุ้นให้สร้างซิสเทมมิค อะไควร์ รีซิสแตนท์ ยีน (SAR gene)ได้โดยการใช้สารเคมีเป็นตัวกระตุ้นเช่นการใช้กรดซาลิไซลิก กระตุ้นความต้านทานโรคราน้ำค้างในข้าวโพดและพบว่าภายหลังการติดเชื้อต้นข้าวโพดที่ถูกกระตุ้นมีกิจกรรมของ PR-1 และ PR-5 ยีนสูง ยีนเหล่านี้พืชแต่ละชนิดจะผลิตออกมาแบบจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อที่เข้าทำลาย นอกจากนี้ในกระบวนการความต้านทานยังพบว่ามีกรดจัสโมนิก (jasmonic acid, JA) และเอทธิลีน ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองให้เกิดความต้านทานในพืช ผลจากการกระตุ้นทำให้พืชมีการสร้างโปรตีน หรือไฟโตอเล็กซินที่แตกต่างกันไปตามความสัมพันธ์ของ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชนิดของพืชกับเชื้อสาเหตุโรค โดยนำไปสู่ความต้านทานของพืชต่อเชื้อโรค (Arul, 1994) ในการชักนำให้มีความต้านทานนั้นเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวเคมีและโครงสร้างทางกายภาพซึ่งได้รับจากการกระตุ้นโดยอิลิซิเตอร์ทั้งนี้สามารถกระตุ้นได้โดยการใช้อิลิซิเตอร์จากสิ่งที่มีชีวิตและสิ่งที่ไม่มีชีวิต (biotic and abiotic elicitors) ในการชักนำความต้านทานเพื่อการควบคุมโรคภายหลังการเก็บเกี่ยวนั้นสามารถทำได้โดยการชักนำโดยการใช้ผนังเซลล์ของเชื้อ ไคโตแซนและรังสี UV เป็นต้น (Caruso and Kuc, 1979; El Ghaouth *et al.,* 1992; El Ghaouth, 1994)

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างพืชและเชื้อก่อโรค (plant-pathogen interaction)

พืชสามารถตอบสนองต่อเชื้อก่อโรค 2 ปฏิกิริยา คือ

1. ตอบสนองด้วยการแสดงอาการเกิดโรค (compatible reaction) เกิดขึ้นเมื่อพืชพันธุ์อ่อนแอ (susceptible) ถูกรุกรานด้วยเชื้อโรคที่รุนแรง (virulent pathogen)

2. ตอบสนองด้วยการไม่แสดงอาการของโรค (incompatible reaction) เกิดขึ้นในพืชพันธุ์ต้านทาน (resistant) ที่ถูกรุกรานโดยเชื้อโรคที่ไม่รุนแรง (avirulent pathogen) พืชจะตอบสนองด้วยการไม่แสดงอาการของโรค แต่จะมีกลไกในการป้องกันตัวเอง (defense mechanism) (ประสาทพร, 2534) ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ ความต้านทานที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติก่อนที่เชื้อจะเข้าทำลาย (passive resistance) เช่น ไขของพืช คิวติน และผนังเซลล์ที่หนายากต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค และชนิดที่สองเป็นความต้านทานที่เกิดขึ้นเพื่อตอบโต้ต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค (active resisitance) ซึ่งแบ่งออกเป็นสองประเภท คือ ความต้านทานที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (rapid active defense) เช่น การเกิดคอร์ก (cork) ไทโลส (tylose) การสะสมยางเหนียว (gum) ปฏิกริยาไฮเปอร์เซนซิติวิตี้ (hypersensitivity) และการสร้างสารพิษ (phytoalexin) เป็นต้น และความต้านทานที่ต้องใช้เวลานานจึงจะเกิดขึ้น (delay active defense) เช่น โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานของพืช (PR-proteins) และกลไกของระบบการป้องกันตนเองของพืชแบบซิสเทมมิค อะไควร์รีซิสแตนท์ (systemic acquired resistance, SAR) เป็นต้น (ธรรมศักดิ์, 2529; Oku, 1994; Guest and Brown, 1997)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความต้านทานของพืช

1. ความต้านทานที่มีอยู่ตามธรรมชาติก่อนที่เชื้อจะเข้าทำลาย (passive resistance)

ลักษณะความต้านทานที่มีอยู่ตามธรรมชาติในพืช จะขัดขวางการเข้าทำลายและแพร่กระจายของเชื้อโรค เมื่อเชื้อโรคเข้าไปในใบพืชแล้วจะเจริญเติบโตทำลายพืช อาจทำลายที่ใดที่หนึ่งเฉพาะบริเวณที่เชื้อเข้าไป (localized infection) หรือไปเจริญในท่อน้ำท่ออาหาร (vascular bundle) แล้วทำให้อาการของพืชไปแสดงที่อื่นด้วย (systemic infection) ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและเชื้อโรค

1.1 โครงสร้างของพืชซึ่งสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้ (structural barrier) เช่น การมีไขเคลือบที่ผิวพืช และการที่ผิวพืชมีขนหนาแน่น ทำให้ผิวนอกของใบหรือผลไม่จับน้ำ (hydrophobic-surface) สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรค เนื่องจากหยดน้ำที่อยู่บนใบพืชนี้จำเป็นต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา ความหนาของคิวติเคิล (cuticle) และความเหนียวของเซลล์อิพิเดอร์มิส (epidermis) จะช่วยทำให้พืชต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อได้ เนื่องจากเชื้อไม่สามารถเจาะผ่านพืชได้โดยตรง หรือเชื้อจะต้องใช้แรงในการเข้าทำลายมากขึ้น โดยจะพบอยู่เสมอว่าพืชที่ต้านทานต่อโรคนั้น จะมีชั้นของคิวติเคิลหนากว่าพืชที่อ่อนแอต่อโรค นอกจากนี้ชนิดและโครงสร้างของปากใบ (stomata) มีความสำคัญต่อเชื้อที่สามารถทำให้พืชติดโรคผ่านทางปากใบ เช่น ข้าวสาลีพันธุ์ต้านทานบางพันธุ์ ปากใบจะเปิดในเวลาสายมากเป็นสาเหตุให้สปอร์ที่อยู่ในหยดน้ำใกล้ปากใบซึ่งงอกตั้งแต่เช้าถูกแดดเผาตาย

1.2 กระบวนการทางเคมีที่มีอยู่ในพืชซึ่งสามารถทำลายหรือป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้ (chemical barrier) เช่น ในมะเขือเทศและบีทรูทจะมีการหลั่งสารที่เป็นพิษต่อเชื้อโรค (fungitoxic exudates) ซึ่งสามารถยับยั้งการงอกของซูโอสปอร์ของเชื้อโรคได้ รวมทั้งยังผลิตสารประกอบฟีนอลิกต่างๆด้วย หรือในบางกรณีสารที่พืชหลั่งออกมาเป็นปกติอยู่แล้วก็อาจมีความเป็นพิษต่อเชื้อโรคได้เช่นเดียวกัน เช่น ไดอีน (dienes) เป็นสารประกอบที่คล้ายกรดไขมันชนิดหนึ่งจะมีการผลิตในปริมาณสูงในเซลล์ของใบและผลอ่อน ทำให้ใบและผลอ่อนนั้นมีความต้านทานต่อเชื้อมากกว่าเซลล์ที่แก่กว่า (Agrios,1978)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ความต้านทานที่พืชสร้างขึ้นเพื่อโต้ตอบการเข้าทำลายของเชื้อโรค (active resistance)

เป็นลักษณะของความต้านทานที่พืชสร้างขึ้น เพื่อตอบโต้การเข้าทำลายของเชื้อโรค ป้องกันการเจริญลุกลามของเชื้อโรคออกไป ปฏิกิริยาดังกล่าวมีดังนี้

2.1 ความต้านทานที่พืชสร้างขึ้นเพื่อโต้ตอบการเข้าทำลายเชื้ออย่างรวดเร็ว (rapid active resistance)

2.1.1 การป้องกันทางโครงสร้างที่เกิดจากเนื้อเยื่อ (histological defense structures)

การสร้างคอร์กเลเยอร์ (cork layers) ในบริเวณที่พืชติดเชื้อ เนื่องจากเซลล์ของพืชได้รับการกระตุ้นจากสารที่พืชขับออกมาทางเนื้อเยื่อ ส่งผลให้สร้างเซลล์ที่เจริญเป็นชั้นช่วยยับยั้งไม่ให้เชื้อและสารพิษขยายวงกว้างออกไป โดยระงับการไหลเวียนของน้ำและอาหารของพืชจากเนื้อเยื่อปกติไปยังเนื้อเยื่อที่เป็นโรค ทำให้เชื้อและเนื้อเยื่อที่ตายแล้วอยู่ในขอบเขตที่เห็นเป็นจุดหรือพองนูนแยกออกมาจากเนื้อเยื่อปกติ (ไพโรจน์, 2525; Guest and Brown, 1997) การปริแตกของเนื้อเยื่อ (abscission regions) เป็นช่องว่างระหว่างเซลล์ที่เป็นชั้นทั้งสองข้างรอบบริเวณที่ติดเชื้อของเนื้อเยื่อพืช (protective layers) พบว่า มิดเดิล ลาเมลลา (middle lamella) ของเซลล์ที่อยู่ระหว่างชั้นทั้งสองนั้นถูกย่อยตลอดตามความหนาของใบ ทำให้เนื้อเยื่อดีถูกตัดออกจากเนื้อเยื่อที่เป็นโรค เพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อโรคและสารที่เชื้อสร้างขึ้นลุกลามไปยังเนื้อเยื่อปกติ (ธรรมศักดิ์, 2529, ไพโรจน์, 2525) การเกิดไทโลส (tylose) ในท่อลำเลียงน้ำ (xylem) จะเกิดขึ้นในระหว่างที่เชื้อโรคเข้าทำลายพืชทางกลุ่มท่อลำเลียง โดยพืชพันธุ์ต้านทานต่อโรคจะเกิดไทโลสได้มากมายและรวดเร็วก่อนที่เชื้อจะลุกลามไป หากเป็นพืชพันธุ์อ่อนแอเชื้อจะเจริญไปถึงก่อนแล้วจึงเกิดไทโลสภายหลัง ส่งผลให้ไม่สามารถป้องกันการลุกลามของเชื้อได้ พืชจึงเป็นโรครุนแรง การสะสมยางเหนียว (gum) บริเวณเนื้อเยื่อที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย ทำให้เชื้อบางชนิดชะงักการเจริญและขยายขอบเขตออกไปอีกไม่ได้ เชื้อจะถูกจำกัดอยู่เฉพาะในแผล อัตราการสะสมยางนั้นมีความแตกต่างกันแล้วแต่ชนิดและพันธุ์พืช (ประสาทพร, 2534)

2.1.2 การป้องกันที่เกิดจากโครงสร้างของเซลล์ (cellular defense structure)

โครงสร้างป้องกันที่เกิดจากเซลล์ ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของผนังเซลล์ระหว่างที่เซลล์ถูกเชื้อเข้าทำลาย ในกรณีที่เชื้อราเข้าทำลาย พบได้ 2 แบบคือ เกิดจากการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โป่งออกของเซลล์อิพิเดอร์มิสและเซลล์ที่อยู่ใต้อิพิเดอร์มิส ในระหว่างที่เชื้อแทงผ่านพืชโดยตรง และการเกิดเป็นปลอกห่อหุ้มเส้นใยของเชื้อที่เริ่มแทงผ่านเซลล์ ทำให้สามารถยับยั้งการแทงผ่านและการเข้าทำลายของเชื้อได้ (ประสาทพร, 2534)

2.1.3 การตายอย่างรวดเร็วของเซลล์ (hypersensitive cell death)

เป็นปฏิกิริยาของกลไกป้องกันโรคที่สำคัญมากที่สุดแบบหนึ่ง โดยพืชจะมีการปล่อยสารพิษที่จะทำให้เนื้อเยื่อบริเวณที่ติดเชื้อตายอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เชื้อไม่สามารถแพร่กระจายไปยังเซลล์และเนื่อเยื่อข้างเคียงได้ โดยจะสังเกตเห็นรอยสีน้ำตาลไหม้อย่างชัดเจน ขนาดของรอยไหม้จะมีขอบเขตกว้างหรือแคบ เกิดขึ้นเร็วหรือช้า ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบหลายอย่าง เช่น ชนิดของพืชอาศัย เชื้อที่บุกรุก เป็นต้น ในพืชพันธุ์ต้านทานจะพบขนาดของรอยไหม้เล็กและไม่แผ่กว้าง แสดงถึงความสามารถในการกักบริเวณเชื้อราไม่ให้แพร่กระจายไปยังเซลล์ข้างเคียง ส่วนพืชพันธุ์อ่อนแอจะพบรอยไหม้ใหญ่และแผ่กว้างแสดงถึงการเกิดโรค

2.1.4 ไฟโตอเล็กซิน (phytoalexin)

เป็นสารปฏิชีวนะที่พืชสร้างขึ้นและเป็นพิษต่อเชื้อรา (antimicrobial) พบเฉพาะในพืชที่ได้รับการกระตุ้นจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคหรือถูกกระตุ้นจากอิลิซิเตอร์ต่างๆ ทั้งไบโอติก (biotic) และอไบโอติก (abiotic) มีคุณสมบัติเฉพาะขึ้นอยู่กับพืชที่สร้าง แต่ไม่เจาะจงกับเชื้อราชนิดใดชนิดหนึ่ง จากผลการศึกษาของ (Darvill and Albersheim, 1984) พบว่าในเชื้อราที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคจะกระตุ้นให้พืชสร้างสารไฟโตอเล็กซินได้ในอัตราความเข้มข้นต่ำกว่าเชื้อราที่ไม่ได้เป็นเชื้อสาเหตุโรค และสารไฟโตอเล็กซินที่พืชอาศัยสร้างยังเป็นพิษต่อเชื้อสาเหตุโรคน้อยกว่าเชื้อราอื่นๆที่ไม่ใช่เชื้อราสาเหตุโรค โดยได้ศึกษาการสะสมไฟโตอเล็กซินบริเวณอีพิเดอร์มิสของใบถั่วเหลือง เปรียบระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคกับสายพันธุ์ไม่ก่อให้เกิดโรค ของเชื้อรา *Botrytis cinerea* พบว่า สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคสามารถเจริญผ่านเข้าไปในผนังเซลล์ได้อย่างรวดเร็วและเกิดการตายของเซลล์พืชก่อนที่จะมีการสะสมไฟโตอเล็กซินได้มากพอ เพื่อใช้ในการต้านทาน ในขณะที่สายพันธุ์ไม่ก่อให้เกิดโรค มีการสะสมไฟโตอเล็กซินจำนวนมาก ส่งผลให้เชื้อนั้นหยุดการเจริญเติบโตและไม่ทำให้เซลล์พืชตาย นอกจากนี้อัตราการเกิดไฟโตอเล็กซินยังขึ้นอยู่กับพันธุ์กรรมของพืช ในพืชพันธุ์ต้านทานจะมีการสะสมไฟโตอเล็กซินได้เร็วกว่าในพืชพันธุ์อ่อนแอ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 การตอบสนองที่ต้องใช้เวลานานจึงจะเกิดขึ้น (delayed active defense)

2.2.1 การสังเคราะห์พีอาร์-โปรตีน (PR- proteins)

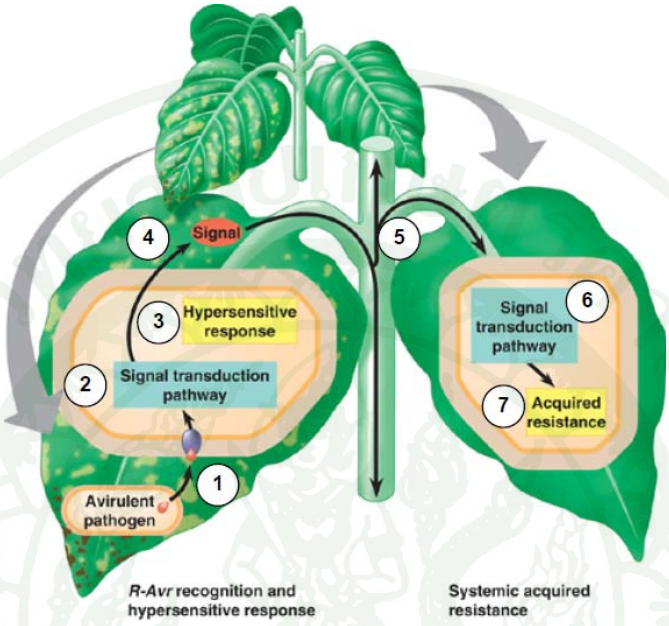
พีอาร์-โปรตีน เป็นโปรตีนขนาดเล็กที่มีมวลโมเลกุล 10,000 -40,000 ดาลตัน พบภายในพืชโดยทั่วไป โดยในพืชปกติมักพบพีอาร์-โปรตีน น้อยมากหรือไม่พบเลย แต่จะถูกชักนำให้สร้างขึ้นภายหลังจากถูกกระตุ้นด้วยเชื้อโรคหรือภาวะเครียดต่างๆ (Antoniw *et al*., 1980) เช่น การเกิดบาดแผล (wounding) สารเคมี (chemical treatment) ฮอร์โมนพืชบางชนิด และการกระตุ้นจากอิลิซิเตอร์ต่างๆ เพื่อป้องกันอันตรายให้กับตนเอง ซึ่งเมื่อพืชผลิตโปรตีนชนิดนี้แล้วจะมีความเป็นพิษต่อเชื้อโรคที่มารุกราน โดยพีอาร์-โปรตีน ที่สำคัญซึ่งมีการศึกษากันมากและมักพบในพืชที่สามารถต้านทานต่อเชื้อโรค ได้แก่ เอนไซม์ 2 ชนิด คือ เอนไซม์ไคติเนส และเอนไซม์เบต้า-1,3กลูคาเนส เอนไซม์ในกลุ่มนี้จะย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรค (Leubner-Metzger and Meins, 1999) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างองค์ประกอบผนังเซลล์ของเชื้อรา ส่งผลให้เชื้อราไม่สามารถเจริญต่อไปได้ จากรายงานของ (Matthieu *et al*., 1989) ได้ศึกษาการสร้างพีอาร์-โปรตีน ในใบมะเขือเทศ โดยการปลูกเชื้อจุลินทรีย์ *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*) พบว่ามีการสังเคราะห์เอนไซม์ 2 ชนิด คือ เอนไซม์เบต้า-1,3 กลูคาเนส และเอนไซม์ไคติเนสเพิ่มขึ้นเพื่อป้องกันการบุกรุกของเชื้อโรค และจากการทดลองหาน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้ด้วยการใช้เทคนิคโครมาโตโฟกัสซิ่ง (chromatofocusing) พบว่าเอนไซม์เบต้า-1,3 กลูคาเนส มีน้ำหนักโมเลกุล 33 กิโลดาลตัน และเอนไซม์ไคติเนส มีน้ำหนักโมเลกุล 27 30 และ 32 กิโลดาลตัน นอกจาก พีอาร์-โปรตีนจะมีบทบาทสำคัญต่อพืชในการป้องกันตนเองจากเชื้อโรคแล้ว ยังมีความสัมพันธ์กับการเกิดระบบกลไกของระบบการป้องกันตนเองของพืชแบบ อะไควร์ รีซิสแตนท์ อีกด้วย (van Loon and van Strien, 1999) รวมทั้งมีความสำคัญต่อการปรับตัวเพื่อการดำรงชีวิตของพืชในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมด้วย (Edreva, 2005)

2.2.2 กลไกของระบบการป้องกันตนเองของพืชแบบซิสเทมมิค อะไควร์ รีซิสแตนท์ (systemic acquired resistance, SAR)

ระบบป้องกันตนเองที่สามารถชักนำให้เกิดการต้านทานโรคของพืช โดยไม่จำเพาะเจาะจงกับเชื้อโรคชนิดใดชนิดหนึ่งและมีความต้านทานทั้งบริเวณที่ถูกบุกรุกโดยตรงและบริเวณที่ไกลออกไปที่ไม่ได้สัมผัสกับเชื้อโรค (Hopkins and Huner, 2004) ระบบการป้องกันตนเองของพืชแบบซิสเทมมิค อะไควร์ รีซิสแตนท์ จะเกิดขึ้นในช่วงเวลาสั้นๆ ภายหลังจากการติดเชื้อโรค

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แต่สามารถคงอยู่ได้เป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้พืชนั้นมีความทนทานต่อเชื้อบุกรุกหลายชนิดในเวลาต่อมาได้ โดยพืชที่มีการป้องกันตนเองของพืชแบบซิสเทมมิค อะไควร์ รีซิสแตนท์ จะสามารถต้านทานต่อเชื้อบุกรุกครั้งต่อไป ซึ่งอาจเป็นเชื้อชนิดเดิมหรือเป็นเชื้อที่แตกต่างจากเดิมก็ได้



ภาพที่ 3 กลไกของระบบการป้องกันตนเองของพืชแบบซิสเทมมิค อะไควร์ รีซิสแตนท์ เมื่อพืชถูกรุกรานโดยเชื้อก่อโรค (1) จะมีการส่งสัญญาณไปยังระบบการป้องกันตนเองของพืช (2) และเกิด การตอบสนองของพืชต่อการรุกรานของเชื้อจุลินทรีย์ (hypersensitive response, HR) เพื่อยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อ (3) จากนั้นจะมีการกระตุ้นระบบการป้องกันตัวเองต่างๆ เช่น มีการผลิตโปรตีนและเอนไซม์ต่างๆ (4, 5 และ 6) เพื่อให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อที่จะเข้ามารุกรานในครั้งต่อไปได้ (7)

ที่มา: www.bio.miami.edu/dana/226/226F08_21.html

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากผลมะม่วงน้ำดอกไม้และการพิสูจน์โรค

1.1 เก็บตัวอย่างมะม่วงน้ำดอกไม้ที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส นำไปแยกเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting technique ตัดบริเวณเป็นโรคที่ต่อกับเนื้อเยื่อปกติ ขนาด 0.5×0.5เซนติเมตร แช่ชิ้นตัวอย่างในคลอร็อกซ์ (Clorox) 10 เปอร์เซนต์ นาน 5 นาที เพื่อฆ่าเชื้อที่ติดอยู่บริเวณผิวนอก นำชิ้นส่วนที่ได้ไปล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2-3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำมาวางในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร potato dextrose agar (PDA) จำนวน 4 ชิ้นต่อจาน วางให้แต่ละชิ้นห่างกันพอควร นำจานเลี้ยงเชื้อบ่ม (incubate) ไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส เมื่อเส้นใยเจริญออกจากเนื้อเยื่อ มีรัศมี 1 เซนติเมตร ตัดปลายเส้นใยขอบโคโลนีด้วย เครื่องเจาะรู (cork borer) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อ แล้วย้ายส่วนของเส้นใยดังกล่าว ไปเลี้ยงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA อีกครั้งเพื่อให้ได้เชื้อที่บริสุทธิ์ ใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

1.2 พิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch's postulation โดยเลี้ยงเชื้อราบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA นาน 7-10 วัน นำไปเตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อใช้ปลูกเชื้อบนผลปกติ โดยสเปรย์สปอร์แขวนลอยลงบนผล บ่มเชื้อในที่ชื้นนาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจดูอาการโรคที่เกิดขึ้นและแยกเชื้อซ้ำอีกครั้งเพื่อพิสูจน์ว่าเป็นเชื้อชนิดเดียวกัน ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่งเพื่อการทดลองขั้นต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัย ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงบนอาหาร PDA เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

2.1 ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยด้วยวิธีอาหารพิษ poisoned food technique โดยเตรียมอาหาร PDA ผสมสารให้ได้ความเข้มข้นของสารทั้ง 20 กรรมวิธี จากนั้นเทอาหารที่ผสมสารลงในจานเลี้ยงเชื้อ ใช้เครื่องเจาะรู (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะเส้นใยรอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส นำชิ้นวุ้นที่ได้ วางตรงกลางผิวหน้าอาหาร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) เปรียบเทียบ 20 กรรมวิธี จำนวน 8 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (PDA)	กรรมวิธีที่ 11 กรดออกซาลิก 100 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 2 เอทิลแอลกอฮอล์ 10,000 มก./ล.	กรรมวิธีที่ 12 กรดออกซาลิก 250 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 3 สารเคมีอิมาซาลิล 100 มก./ล.	กรรมวิธีที่ 13 กรดออกซาลิก 500 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 4 สารเคมีอิมาซาลิล 250 มก./ล.	กรรมวิธีที่ 14 กรดออกซาลิก 750 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 5 สารเคมีอิมาซาลิล 500 มก./ล.	กรรมวิธีที่ 15 กรดออกซาลิก 1,000 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 6 กรดซาลิไซลิก 100 มก./ล.	กรรมวิธีที่ 16 สารโพรพิลพาราเบน 100 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 7 กรดซาลิไซลิก 250 มก./ล.	กรรมวิธีที่ 17 สารโพรพิลพาราเบน 250 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 8 กรดซาลิไซลิก 500 มก./ล.	กรรมวิธีที่ 18 สารโพรพิลพาราเบน 500 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 9 กรดซาลิไซลิก 750 มก./ล.	กรรมวิธีที่ 19 สารโพรพิลพาราเบน 750 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 10 กรดซาลิไซลิก 1,000 มก./ล.	กรรมวิธีที่ 20 สารโพรพิลพาราเบน 1,000 มก./ล.

บันทึกผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา นำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย = [(A – B) / A] x 100

A คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA (กรรมวิธีควบคุม)
B คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA (กรรมวิธีที่ 2-20)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 ทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา

เตรียมอาหาร PDAให้ได้ความเข้มข้นของสารทั้ง 18 กรรมวิธี เทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ หยดสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง 10 ไมโครลิตร บนผิวหน้าอาหาร 5 จุด บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 9 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 18 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (PDA)
กรรมวิธีที่ 2 เอทิลแอลกอฮอล์ 10,000 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 3 สารเคมีอิมาซาลิล 100 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 4 กรดซาลิไซลิก 100 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 5 กรดซาลิไซลิก 250 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 6 กรดซาลิไซลิก 500 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 7 กรดซาลิไซลิก 750 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 8 กรดซาลิไซลิก 1,000 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 9 กรดออกซาลิก 100 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 10 กรดออกซาลิก 250 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 11 กรดออกซาลิก 500 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 12 กรดออกซาลิก 750 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 13 กรดออกซาลิก 1,000 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 14 สารโพรพิลพาราเบน 100 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 15 สารโพรพิลพาราเบน 250 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 16 สารโพรพิลพาราเบน 500 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 17 สารโพรพิลพาราเบน 750 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 19 สารโพรพิลพาราเบน 1,000 มก./ล.

บันทึกลักษณะการงอกของสปอร์และตรวจนับจำนวนสปอร์ที่งอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยสุ่มนับจำนวน 100 สปอร์ต่อ 1 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา= $[(A-B)/A] \times 100$

A คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์เชื้อราที่งอกบนสไลด์แก้วในชุดควบคุม
B คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์เชื้อราที่งอกบนสไลด์แก้วในชุดผสมสารกรรมวิธีที่ 2-18

คัดเลือกระดับความเข้มข้นของสารกลุ่มที่ปลอดภัย จากข้อ 2.1 และ 2.2 ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้อย เพื่อนำมาทดสอบการกระตุ้นความต้านทานในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนส ในการทดลองขั้นต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เกิดจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

3.1 ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ก่อนจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย

ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ความสุกแก่ 80 เปอร์เซ็นต์ ที่สมบูรณ์และไม่เป็นโรค โดยวิธีพ่นสารแขวนลอยสปอร์ ความเข้มข้น 1 x 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ลงบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ด้านใดด้านหนึ่ง ด้วยเครื่องแอร์บรัช (air brush) แล้วเก็บผลมะม่วงน้ำดอกไม้เรียงใส่ตะกร้า คลุมด้วยถุงพลาสติกที่พ่นด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย โดยคัดเลือกความเข้มข้นจากข้อ 2.1 และ 2.2 เป็นเวลา 5 นาที เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำ เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร และสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 100 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร) ผึ่งให้แห้ง เรียงใส่ตะกร้าพลาสติก พ่นด้วยสารอีทีฟอน (ethephon) 1.5 มิลลิลิตร/ลิตร ให้ทั่วผลเพื่อให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกพร้อมกัน เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 10 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำๆละ 4 ผล ประเมินการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 8 วัน โดยตรวจความรุนแรงของโรค (%) โดยวัดพื้นที่ผิวที่แสดงอาการของโรคเทียบกับพื้นที่ผิวทั้งหมด

3.2 ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส หลังจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย

นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้ความสุกแก่ 80 เปอร์เซ็นต์ ที่สมบูรณ์และไม่เป็นโรค มาจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย โดยคัดเลือกความเข้มข้นจากข้อ 2.1 และ 2.2 เป็นเวลา 5 นาที เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำ เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร และสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 100 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร) ผึ่งให้แห้ง เรียงใส่ตะกร้าพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส โดยวิธีพ่นสารแขวนลอยสปอร์ ความเข้มข้น 1x10^6สปอร์ต่อมิลลิลิตร ลงบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ด้านใดด้านหนึ่งด้วยเครื่องแอร์บรัช แล้วเก็บผลมะม่วงน้ำดอกไม้เรียงใส่ตะกร้า คลุมด้วยถุงพลาสติกที่พ่นด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำมาเรียงใส่ตะกร้าพลาสติก พ่นด้วยสารอีทีฟอน 1.5 มิลลิลิตร/ลิตร ให้ทั่วผลเพื่อให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกพร้อมกัน เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 10 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำๆละ 4 ผล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประเมินการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 8 วัน โดยตรวจความรุนแรงของโรค (%)โดยวัดพื้นที่ผิวที่แสดงอาการของโรคเทียบกับพื้นที่ผิวทั้งหมด

4. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการกระตุ้นความต้านทาน ที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง และการชักนำการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทาน (pathogenesis-related proteins) ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

4.1 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการกระตุ้นความต้านทานที่ระยะเวลา 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

คัดเลือกผลมะม่วงน้ำดอกไม้ความสุกแก่ 80 เปอร์เซ็นต์ ที่สมบูรณ์และไม่เป็นโรค นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มสารที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่ดีที่สุด นาน 5 นาที (โดยคัดเลือกจากกรรมวิธีในข้อ 3) ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) จุ่มนาน 5 นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และสารเคมีอิมาซาลิล 250 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มนาน 5 นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาดังกล่าว ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ด้วยสปอร์แขวนลอย ความเข้มข้น 1 x 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้แอร์บรัชพ่นที่ผลของมะม่วงน้ำดอกไม้ด้านใดด้านหนึ่ง บ่มเชื้อในที่ชื้นนาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เก็บรักษาใส่ตระกร้าพลาสติก เก็บที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 วัน ตรวจความรุนแรงของโรค (%) วัดความรุนแรงของโรคโดยวัดพื้นที่ผิวที่แสดงอาการของโรคเทียบกับพื้นที่ผิวทั้งหมด วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 6 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำๆละ 4 ผล

4.2 ทดสอบผลของระยะเวลาที่ต่างกันของสารกลุ่มที่ปลอดภัยบนผิวของมะม่วงน้ำดอกไม้ ต่อการชักนำการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทาน (pathogenesis-related proteins) ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

คัดเลือกผลมะม่วงน้ำดอกไม้ความสุกแก่ 80 เปอร์เซ็นต์ ที่สมบูรณ์และไม่เป็นโรค นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มสารที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่ดีที่สุด นาน 5 นาที (โดยคัดเลือกจากกรรมวิธีในข้อ 3) ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) จุ่มนาน 5 นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารเคมีอิมาซาลิล 250 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มนาน 5 นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาดังกล่าว จากนั้นปลอกเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้เพื่อใช้วิเคราะห์เอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 6 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ

โดยนำตัวอย่างเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้ 10 กรัม แช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว เพื่อป้องกันเอนไซม์และโปรตีนถูกทำลาย นำมาบดในเครื่องบด (blender) เติม 50 mM sodium acetate buffer, pH 5.0 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 *g* ที่อุณหภูมิ 4˚C เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำให้ตกตะกอนโดยการเติม 60 % acetone (v/v) นำ ไปไว้ที่ –20˚C เพื่อให้ตกตะกอน ก่อนจะนำไปปั่นเหวี่ยงต่อที่ 12,000 *g* ที่อุณหภูมิ 4˚C เป็นเวลา 30 นาที ก็จะได้ส่วนตกตะกอนที่มีความชัดเจนยิ่งขึ้น เทส่วนเหลวด้านบนทิ้ง ทำการล้างตะกอนที่ได้ 3 ครั้งด้วย 60 % acetone หลังจากนั้นจึงเก็บตะกอน (pellet) ที่ได้ใน 50 mM sodium acetate buffer, pH 5.0 ปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร ก่อนจะนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4˚C เพื่อใช้เป็นแหล่งของเอนไซม์ต่อไป และตรวจสอบความเข้มข้นของโปรตีนได้ตามวิธีการของ Bradford (ดัดแปลงจากวิธีการของ El Ghaouth *et al*., 2003)

การวิเคราะห์เอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส นำสารตัวอย่างมา 50 ไมโครลิตรผสมกับลามินาลิน (Laminarin) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 50 ไมโครลิตร นำไปบ่มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เป็นเวลา 30 นาที และหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ โดยนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 3 นาที เติมสาร DNS solution จำนวน 0.2 มิลลิลิตร และสาร 0.1 M sodium acetate buffer, pH 5.0 จำนวน 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ก่อนที่จะนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที นำมาตั้งให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 2.7 มิลลิลิตร ก่อนจะนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้ในสารละลายตัวอย่างกับกราฟมาตรฐานโดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐานเพื่อหาปริมาณของเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส (ดัดแปลงจากวิธีการของ Burner, 1964)

1 หน่วยของกิจกรรมเอนไซม์ คือ ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถทำให้เกิดน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครกรัมใน 1 นาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยต่อการเป็นสารต้านเชื้อราหรือสารชักนำให้เกิดความต้านทาน (pathogenesis-related proteins) ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่เกิดจากการปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้

คัดเลือกผลมะม่วงน้ำดอกไม้ความสุกแก่ 80 เปอร์เซ็นต์ ที่สมบูรณ์และไม่เป็นโรค นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มสารที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาจุ่มสารที่ชักนำให้สร้างเอนไซม์ได้สูงสุด (โดยคัดเลือกจากกรรมวิธีในข้อ 4) เก็บรักษาผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในอุณหภูมิห้อง ตามจำนวนชั่วโมงที่สามารถชักนำให้มีการสะสมของเอนไซม์ที่สูงสุด แล้วล้างสารเคมีที่ผิวออกด้วยน้ำ ผึ่งให้แห้ง ทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส โดยวิธีพ่นสารแขวนลอยสปอร์ ความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ลงบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ด้านใดด้านหนึ่งด้วยเครื่องแอร์บรัช แล้วเก็บผลมะม่วงน้ำดอกไม้เรียงใส่ตะกร้า คลุมด้วยถุงพลาสติกที่พ่นด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำมาเรียงใส่ตะกร้าพลาสติกฝาปิด พ่นด้วยสารอีทีฟอน 1.5 มิลลิลิตร/ลิตร ให้ทั่วผลเพื่อให้ผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกพร้อมกัน เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประเมินการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 8 วัน โดยตรวจความรุนแรงของโรค (%)โดยวัดพื้นที่ผิวที่แสดงอาการของโรคเทียบกับพื้นที่ผิวทั้งหมด วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 3 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำๆละ 4 ผล

6. การศึกษาประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัย ที่กระตุ้นความต้านทานต่อคุณภาพการเปลี่ยนแปลงของมะม่วงน้ำดอกไม้ภายหลังการเก็บเกี่ยว

คัดเลือกผลมะม่วงน้ำดอกไม้ความสุกแก่ 80 เปอร์เซ็นต์ ที่สมบูรณ์และไม่เป็นโรค นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มสารความเข้มข้นที่ดีที่สุดและใช้ระยะเวลาที่เหมาะสม เก็บผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่อุณหภูมิห้อง ตามจำนวนชั่วโมงที่สามารถชักนำให้มีการสะสมของเอนไซม์ที่สูงสุด บันทึกผลตรวจสอบคุณภาพเมื่อครบ 8 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 2 กรรมวิธี จำนวน 7 ซ้ำๆละ 3 ผล

การตรวจสอบคุณภาพการเก็บรักษาผลมะม่วง ดังนี้

6.1 การเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อของเนื้อและเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้

วัดความแน่นเนื้อโดยใช้เครื่อง texture analyzer ยี่ห้อ Chatillon รุ่น 10 LBF ประเทศ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สหรัฐอเมริกา หัววัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร โดยวางหัววัดให้ตั้งฉากกับผลมะม่วงน้ำดอกไม้ กดลงบนเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ปอกเปลือกแล้ว บริเวณหัว กลางและท้ายผล และตั้งระยะทางให้หัวกดแทงทะลุลงไปในเนื้อและเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้ เท่ากับ 5 มิลลิเมตร รายงานผลเป็นหน่วยนิวตัน (N)

6.2 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก

ทำการวัดสีเปลือกของมะม่วงน้ำดอกไม้ ด้วยเครื่องวัดสี (Minolta Model DP-301) ในการวัดจะใช้หัววัดแนบให้สัมผัสกับผิวเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้ให้มากที่สุด โดยวาง probe ให้ตั้งฉากกับผลมะม่วงน้ำดอกไม้ บริเวณหัว กลางและท้ายผล และรายผลเป็นค่า Hunter's scale ซึ่งประกอบด้วยค่าต่างๆ ดังนี้

- ค่า L เป็นค่าที่รายงานถึงความสว่างของสี มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100 ถ้าค่า L สูง หมายถึง มีความสว่างมาก แต่ถ้าค่า L ต่ำ หมายถึง มีสีเข้มมากหรือสว่างน้อย
- ค่า a เป็นค่าที่รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงของสีเขียว – แดง ค่า a เป็นลบแสดงว่ามีช่วงสีเขียว แต่ถ้า a เป็นบวก แสดงว่าอยู่ในช่วงสีแดง
- ค่า b เป็นค่าที่รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงของสีในช่วงสีน้ำเงิน - เหลือง กรณีที่ค่า b มีค่า เป็น ลบแสดงว่า อยู่ในช่วงสีน้ำเงิน แต่ถ้าหากค่า b เป็น บวกแสดงว่า อยู่ในช่วงสีเหลือง

6.3 ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidit, TA) โดยคำนวณในรูปกรดซิตริก (A.O.A.C., 1990)

นำน้ำคั้นจากเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้มา 5 มิลลิลิตร มาทำการไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 N โดยใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาณ 1-2 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ ทำการไทเทรตจนถึงจุดยุติ (end point) คือ เมื่อสารละลายมีสีชมพูนานอย่างน้อย 30 วินาที นำปริมาณสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้มาคำนวณปริมาณกรดที่ไตเตรทได้เป็นกรดซิตริกจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดซิตริก} = \frac{(\text{N NaOH})\,(\text{ml NaOH})(\text{meq.wt})\times 100}{\text{ปริมาณน้ำคั้นของตัวอย่าง (ml)}}$$

N NaOH = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน NaOH

ml NaOH = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

milliequivalent weight (meq.wt) ของกรดซิตริก = 0.064

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total Soluble Solids Content ,TSS)

วัดปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ โดยการหยดน้ำคั้นจากเนื้อผลมะม่วงน้ำดอกไม้ลงบนเครื่อง Digital refractometer ยี่ห้อ Atago รุ่น 10 PAL ประเทศญี่ปุ่น ค่าที่อ่านได้มีหน่วยวัดเป็นองศาบริกซ์

6.5 ปริมาณกรดแอสคอร์บิก

หลักการวิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก (ไม่มีสี) จะไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันกับ indophenol dye คือ 2,6-dichlorophenol-indophenol (สีน้ำเงินเข้ม) ได้เป็นสารละลายที่ไม่มีสี เมื่อถึงจุดยุติที่มี dye มากเกินพอ (end point unreduced dye) dye จะเป็นสีชมพูในสารละลายกรด ซึ่งสารละลายกรดออกซาลิกจะรักษาสภาพให้เป็นกรด และหลีกเลี่ยงการเกิด auto-oxidation ของกรดแอสคอร์บิกที่ค่าพีเอชสูง (Ranganna, 1986)

นำน้ำคั้นจากเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ 10 กรัม แล้วเติมกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตรของเหลวเท่ากับ 100 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้มา 10 มิลลิลิตร ไปไทเทรตกับสารละลาย 2,6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอลความเข้มข้น 0.4% จนถึงจุดยุติ ซึ่งจะทำให้สารละลายมีสีชมพูคงตัวอยู่ประมาณ 15 วินาที คำนวณหาปริมาณวิตามินซี โดยใช้ปริมาตรของ 2,6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล ที่ใช้ไปเปรียบเทียบกับสารละลายวิตามินซีมาตรฐาน วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณวิตามินซี} = \frac{a \times 0.001 \times 100 \times 1000}{b \times c}$$

a = ปริมาณ 2,6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล ที่ใช้ไทเทรตกับสารละลายตัวอย่าง
b = ปริมาณ 2,6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล ที่ใช้ไทเทรตกับสารละลายวิตามินซีมาตรฐาน
c = ปริมาณสารตัวอย่าง (กรัม)

7. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการโรคหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

8. ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

เริ่มตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2553 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2556 รวมระยะเวลา 3 ปี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

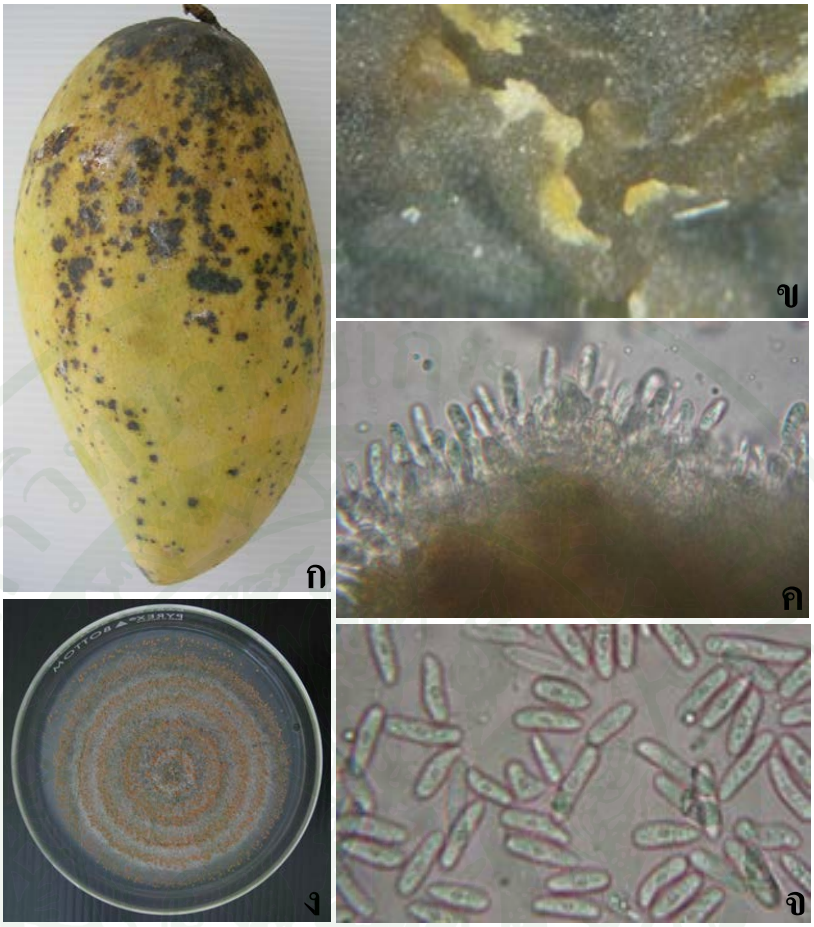
ผลและวิจารณ์

1. แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากผลมะม่วงน้ำดอกไม้และการพิสูจน์โรค

1.1 จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วงของน้ำดอกไม้ ด้วยวิธี Tissue transplanting technique พบว่าในระยะ 3 วันแรก เชื้อราจะสร้างเส้นใยสีขาวอมเทาฟูเล็กน้อย และเมื่อเชื้อรามีอายุมากขึ้นจะมีการสร้างโคโลนีเป็นวงแหวน (concentric ring) หลายวงเรียงซ้อนกัน กลุ่มสปอร์มีลักษณะเป็นเมือกเยิ้มสีส้ม เชื้อราสร้างโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) เป็นก้านตรง เซลล์เดียว สีใส ที่ปลายมีโคนิเดีย (conidia) เซลล์เดียว สีใส รูปร่างแบบรูปไข่ (ovoid) ถึงทรงกระบอกหัวท้ายมน (oblong) (ภาพที่ 4) ซึ่งตรงกับลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Sutton, 1980) และพบว่าเชื้อราชนิดนี้สร้างฟรุตติ้งบอดี (fruiting body) แบบอะเซอวูลัส (acervulus) ฝังตัวลงไปในเนื้อเยื่อผลมะม่วงชั้นอีพิเดอมิส (epidermis) และซับอีพิเดอมิส (sub-epidermis) เป็นรูปถ้วย (dish-shaped หรือ cushion shaped) เชื้อราในสปีชีส์นี้มีความแตกต่างกันถึง 9 ฟอร์ม ทั้งรูปร่าง การเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พืชอาศัย และความสามารถในการทำให้เกิดโรค เป็นเชื้อราที่มีความผันแปรค่อนข้างสูง

1.2 นำสปอร์ของเชื้อราที่แยกได้มาเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ให้มีความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นลงบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ปราศจากโรค เพื่อทำการพิสูจน์การเกิดโรคตามวิธีการของ Koch's postulation พบว่าหลังจากปลูกเชื้อรา เป็นเวลา 7-10 วัน มะม่วงเริ่มแสดงอาการเป็นจุดสีดำ รูปร่างกลม ขนาดไม่แน่นอน ตั้งแต่เล็กเท่าหัวเข็มหมุด จนถึงขนาดใหญ่เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-4 เซ็นติเมตร บริเวณแผลที่รุนแรงจะพบเมือกสีส้มกระจายอยู่กลางแผล และเมื่อนำผลมะม่วงดังกล่าวมาแยกเชื้อบนอาหาร PDA ซ้ำอีกครั้ง พบว่าเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะเหมือนเดิม จึงสรุปได้ว่าเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ที่ได้จากการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์คือเชื้อรา *C. gloeosporioides* เชื้อราชนิดนี้เข้าทำลายผลมะม่วงตั้งแต่อยู่ในสวน หลังจากที่สปอร์สัมผัสกับผิวผล สปอร์จะงอกแล้วสร้างแอพเพรสซอเรียม ช่วยเกาะยึดผิวผลมะม่วง จากนั้นจึงสร้างเส้นใยลงไประหว่างเซลล์ของผลมะม่วง ส่วนของเส้นใยเจริญอยู่ระหว่างเซลล์ แต่ไม่แสดงอาการของโรค จนกระทั่งระยะเก็บเกี่ยว เมื่อผลสุกเชื้อราสามารถเจริญต่อไปได้ ผลมะม่วงจะแสดงอาการของโรค (Kobiler *et al.,* 1998)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 4 โรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

ก) ลักษณะอาการของโรคบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้

ข) กลุ่มโคนิเดียของเชื้อราบนผิวผลมะม่วง

ค) โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย (กำลังขยาย 40 X)

ง) โคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA

จ) ลักษณะของโคนิเดีย (กำลังขยาย 40 X)

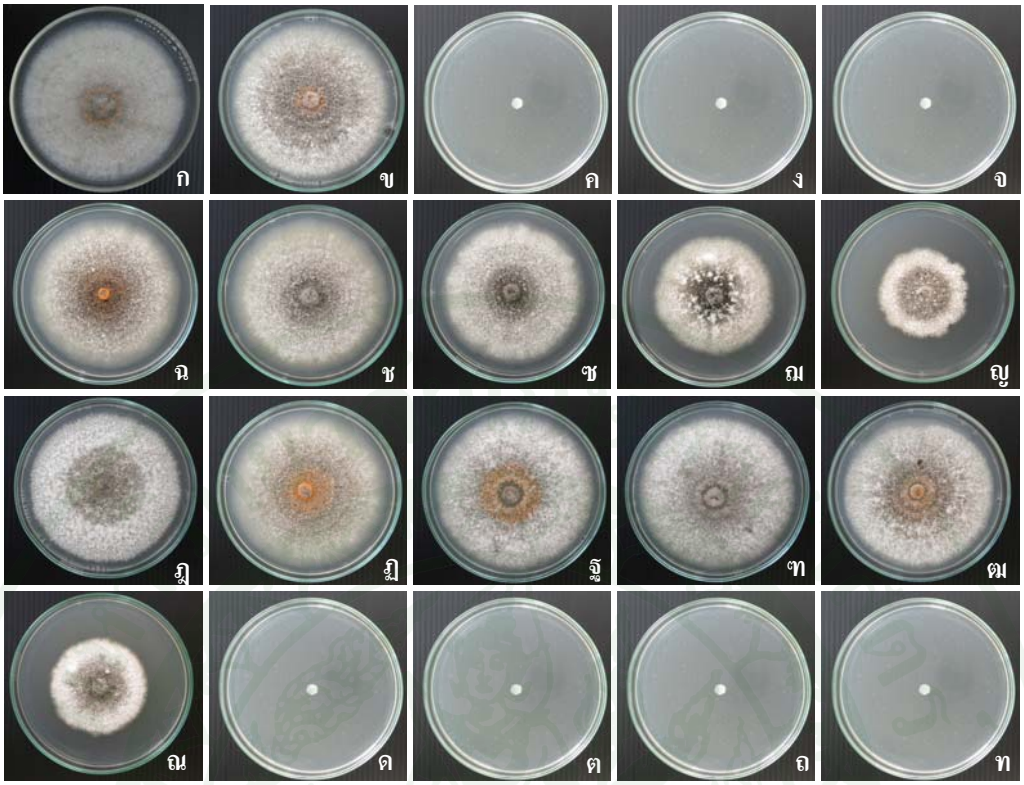
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงบนอาหาร PDA เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

2.1 ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

ศึกษาประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัย 3 ชนิด คือ กรดซาลิไซลิก กรดออกซาลิก และสารโพรพิลพาราเบน ที่ระดับความเข้มข้น 100 250 500 750 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (อาหาร PDA ไม่ผสมสาร เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร และสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 100 250 และ 500 มิลลิกรัม/ลิตร) พบว่าสารกลุ่มที่ปลอดภัยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยสารโพรพิลพาราเบนที่ระดับความเข้มข้น 250 500 750 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้ 100.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรดซาลิกไซลิก ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร และสารโพรพิลพาราเบน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้ 44.2 และ 40.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับส่วนกรดออกซาลิกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้อยกว่าสารชนิดอื่น (ภาพที่ 5, ตารางที่ 1) สอดคล้องกับการศึกษาของ Thompson (1994) พบว่าสารโพรพิลพาราเบนที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 2.0 มิลลิโมลาร์ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราหลายสายพันธุ์ เช่น *Aspergillus, Fusarium* และ *Penicillium* ได้เช่นเดียวกับการศึกษาของ Aalto *et al.* (1953) รายงานว่าสารโพรพิลพาราเบนที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ATCC 10254 ได้ ในขณะที่กรดซาลิไซลิก จากรายงานของ Lopez and Lucas (2002) พบว่า กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Eutypa lata* ทั้งในสภาพอาหารแข็งและอาหารเหลว โดยกรดซาลิไซลิกมีผลทำให้องค์ประกอบของออแกแนลล์ต่างๆ เช่น ผนังเซลล์ ไมโทคอนเดรีย และนิวเคลียส เกิดการเปลี่ยนแปลง จึงทำให้เชื้อรามีการเจริญผิดปกติ (Amborabe *et al.,* 2002)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

ก. กรรมวิธีควบคุม (PDA)
ข. เอทิลแอลกอฮอล์ 10,000 มก./ล.
ค. สารเคมีอิมาซาลิล 100 มก./ล.
ง. สารเคมีอิมาซาลิล 250 มก./ล.
จ. สารอิมาซาลิล 500 มก./ล.
ฉ. กรดซาลิไซลิก 100 มก./ล.
ช. กรดซาลิไซลิก 250 มก./ล.
ซ. กรดซาลิไซลิก 500 มก./ล.
ฌ. กรดซาลิไซลิก 750 มก./ล.
ญ. กรดซาลิไซลิก 1,000 มก./ล.
ฎ. กรดออกซาลิก 100 มก./ล.
ฏ. กรดออกซาลิก 250 มก./ล.
ฐ. กรดออกซาลิก 500 มก./ล.
ฑ. กรดออกซาลิก 750 มก./ล.
ฒ. กรดออกซาลิก 1,000 มก./ล.
ณ. สารโพรพิลพาราเบน 100 มก./ล.
ด. สารโพรพิลพาราเบน 250 มก./ล.
ต. สารโพรพิลพาราเบน 500 มก./ล.
ถ. สารโพรพิลพาราเบน 750 มก./ล.
ท. สารโพรพิลพาราเบน 1,000 มก./ล.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

กรรมวิธี	การยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส (%)[1/]
กรรมวิธีควบคุม (PDA)	0.0 j
เอทิลแอลกอฮอล์ 10,000 มก./ล.	0.0 j
สารเคมีอิมาซาลิล 100 มก./ล.	100.0 a
สารเคมีอิมาซาลิล 250 มก./ล.	100.0 a
สารเคมีอิมาซาลิล 500 มก./ล.	100.0 a
กรดซาลิไซลิก 100 มก./ล.	9.4 gf
กรดซาลิไซลิก 250 มก./ล.	10.2 f
กรดซาลิไซลิก 500 มก./ล.	16.4 e
กรดซาลิไซลิก 750 มก./ล.	27.6 d
กรดซาลิไซลิก 1,000 มก./ล.	44.2 b
กรดออกซาลิก 100 มก./ล.	7.3 h
กรดออกซาลิก 250 มก./ล.	7.6 gh
กรดออกซาลิก 500 มก./ล.	6.9 h
กรดออกซาลิก 750 มก./ล.	4.9 i
กรดออกซาลิก 1,000 มก./ล.	6.1 hi
สารโพรพิลพาราเบน 100 มก./ล.	40.7 c
สารโพรพิลพาราเบน 250 มก./ล.	100.0 a
สารโพรพิลพาราเบน 500 มก./ล.	100.0 a
สารโพรพิลพาราเบน 750 มก./ล.	100.0 a
สารโพรพิลพาราเบน 1,000 มก./ล.	100.0 a
F-test	**
CV(%)	4.2

[1/] การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (%) ที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 ทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา

ศึกษาประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยปลอดภัย 3 ชนิด คือ กรดซาลิไซลิก กรดออกซาลิก และสารโพรพิลพาราเบน ที่ระดับความเข้มข้น 100 250 500 750 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (อาหาร PDAไม่ผสมสาร เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น10,000 มิลลิกรัม/ลิตร และสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร) พบว่าสารกลุ่มที่ปลอดภัยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยสารโพรพิลพาราเบนทุกระดับความเข้มข้นและกรดซาลิกไซลิก ความเข้มข้น 500 750 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้ 100.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรดซาลิกไซลิก ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร และกรดซาลิกไซลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้ 64.6 และ 39.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรดออกซาลิกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้อยกว่าสารชนิดอื่น (ภาพที่ 6, ตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังมีการใช้สารโพรพิวพาราเบนและกรดซาลิไซลิก ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคในพืชชนิดอื่น จากรายงานของ Khan *et al*. (2001) พบว่าสารโพรพิลพาราเบน ความเข้มข้นน้อยกว่า 15 มิลลิโมลาร์ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์โรคแอนแทรคโนสของกล้วยที่เกิดจากเชื้อรา *C. musae* ได้ 72 ชั่วโมง ในขณะที่กรดซาลิไซลิก ความเข้นข้น 300 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ เชื้อรา *Alternaria mali* ในผลแอปเปิ้ล (Ozgonen and Karatas, 2013) เช่นเดียวกับ Yu and Zheng (2006) พบว่ากรดซาลิไซลิก ความเข้นข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Penicillium expansum* ของแอปเปิ้ลได้

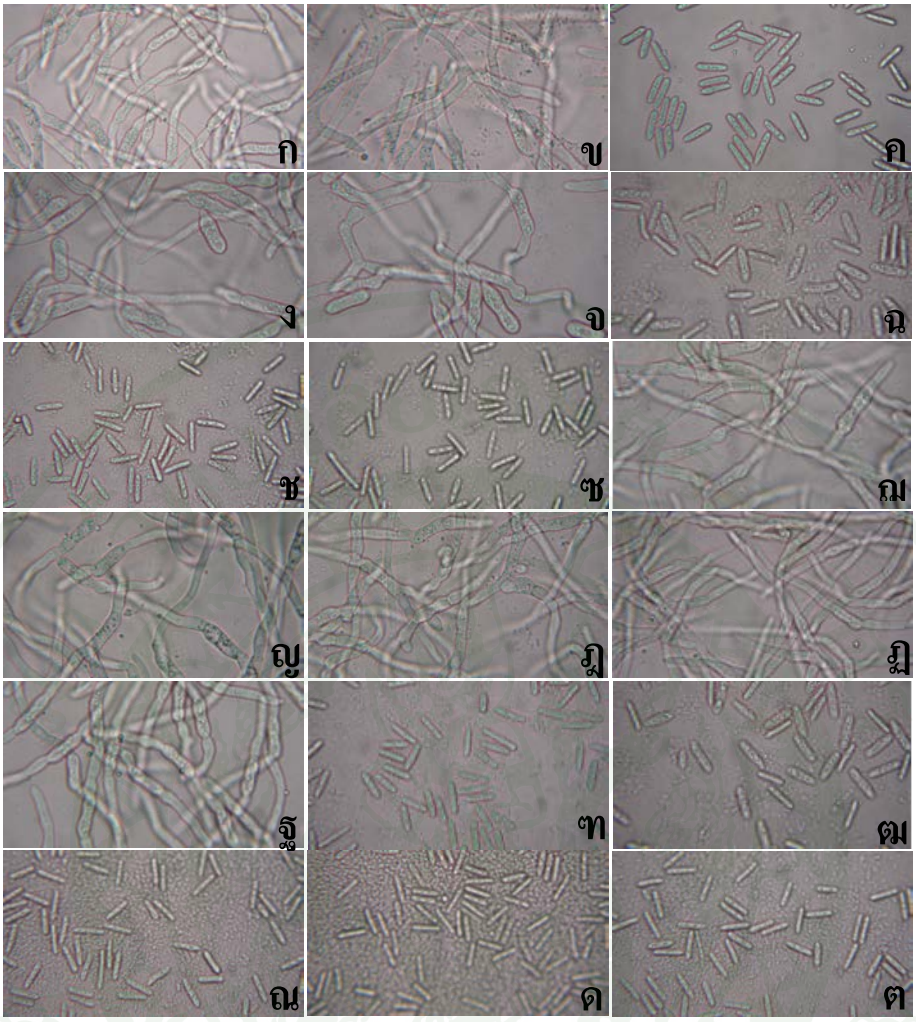
นอกจากกรดซาลิไซลิกสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้โดยตรงแล้ว ยังเป็นส่วนประกอบสำคัญในระบบการส่งต่อสัญญาณ (signal transduction pathway) เกี่ยวข้องกับกระบวนการต้านทานในพืชเฉพาะบริเวณที่เชื้อเข้าทำลาย และสามารถกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานบริเวณที่ห่างจากจุดที่เชื้อเข้าทำลาย (systemic resistance) (Tian *et al*., 2007) โดยพืชจะสร้างเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์สารไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoid) (Raskin, 1992) ดังนั้นการที่พืชสร้างเอนไซม์ชนิดนี้มากขึ้นอาจส่งผลทางอ้อมต่อการสังเคราะห์สารไอโซฟลาโวนอยด์ เพื่อใช้ในระบบป้องกันตัวเอง ซึ่งกรด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ซาลิไซลิกไปกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) ในผลของเชอร์รี่ และสามารถกระตุ้นให้มีกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ฟีนิลอะลานีน แอมโมเนียไลเอส และเบต้า-1,3 กลูคาเนส เพิ่มขึ้น ชักนำให้ผลไม้มีความต้านทานต่อโรค (Qin *et al.*, 2003)

จากผลการทดลองที่ได้สามารถคัดเลือกสารกลุ่มที่ค่อนข้างปลอดภัยที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้อย นำมาทดสอบการกระตุ้นความต้านทานผลมะม่วงต่อโรคแอนแทรคโนส พบว่ากรดออกซาลิก และกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 100 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของเชื้อราได้น้อย ส่วนสารโพรพิลพาราเบน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้เพียงเล็กน้อยเช่นกัน ดังนั้นจึงเลือกสารกลุ่มที่ปลอดภัยที่ความเข้มข้น 100 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร นำมาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงโดยกระตุ้นความต้านทานต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงบนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 9 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล (กำลังขยาย 40 X)

ก. กรรมวิธีควบคุม (PDA)
ข. เอทิลแอลกอฮอล์ 10,000 มก./ล.
ค. สารเคมีอิมาซาลิล 100 มก./ล.
ง. กรดซาลิไซลิก 100 มก./ล.
จ. กรดซาลิไซลิก 250 มก./ล.
ฉ. กรดซาลิไซลิก 500 มก./ล.
ช. กรดซาลิไซลิก 750 มก./ล.
ซ. กรดซาลิไซลิก 1,000 มก./ล.
ฌ. กรดออกซาลิก 100 มก./ล.
ญ. กรดออกซาลิก 250 มก./ล.
ฎ. กรดออกซาลิก 500 มก./ล.
ฏ. กรดออกซาลิก 750 มก./ล.
ฐ. กรดออกซาลิก 1,000 มก./ล.
ฑ. สารโพรพิลพาราเบน 100 มก./ล.
ฒ. สารโพรพิลพาราเบน 250 มก./ล.
ณ. สารโพรพิลพาราเบน 500 มก./ล.
ด. สารโพรพิลพาราเบน 750 มก./ล.
ต. สารโพรพิลพาราเบน 1,000 มก./ล.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 9 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

กรรมวิธี	การยับยั้งการงอกสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส (%)[1/]
กรรมวิธีควบคุม (PDA)	0.0 f
เอทิลแอลกอฮอล์ 10,000 มก./ล.	0.8 f
สารเคมีอิมาซาลิล 100 มก./ล.	100.0 a
กรดซาลิไซลิก 100 มก./ล.	39.0 c
กรดซาลิไซลิก 250 มก./ล.	64.6 b
กรดซาลิไซลิก 500 มก./ล.	100.0 a
กรดซาลิไซลิก 750 มก./ล.	100.0 a
กรดซาลิไซลิก 1,000 มก./ล.	100.0 a
กรดออกซาลิก 100 มก./ล.	2.7 ef
กรดออกซาลิก 250 มก./ล.	5.3 de
กรดออกซาลิก 500 มก./ล.	5.5 de
กรดออกซาลิก 750 มก./ล.	8.3 d
กรดออกซาลิก 1,000 มก./ล.	8.5 d
สารโพรพิลพาราเบน 100 มก./ล.	100.0 a
สารโพรพิลพาราเบน 250 มก./ล.	100.0 a
สารโพรพิลพาราเบน 500 มก./ล.	100.0 a
สารโพรพิลพาราเบน 750 มก./ล.	100.0 a
สารโพรพิลพาราเบน 1,000 มก./ล.	100.0 a
F-test	**
CV(%)	4.6

[1/] การยับยั้งการงอกสปอร์เชื้อรา (%) ที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่ม ที่ปลอดภัยในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เกิดจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

3.1 ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ก่อนจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย

ศึกษาประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ก่อนจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย 3 ชนิด คือ กรดซาลิไซลิก กรดออกซาลิก และสารโพรพิลพาราเบน ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำ เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร และสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 100 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร) พบว่าสารกลุ่มที่ปลอดภัยมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยมะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มสารโพรพิลพาราเบน ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพในการในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด มีความรุนแรงของโรค 4.9 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือมะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร และมะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มสารโพรพิลพาราเบน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร มีความรุนแรงของโรค 5.5 และ 5.7 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับมะม่วงน้ำดอกไม้ชุดกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีความรุนแรงของโรค 29.1 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 7, ตารางที่ 3)

จากผลการทดลองนี้เห็นได้ว่ามะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มสารโพรพิวพาราเบนสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสได้ผลดีที่สุด และมีฤทธิ์ในยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้โดยตรง เนื่องจากสารดังกล่าวไปมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) ของเชื้อ โดยจะไปขัดขวางการสร้างหน่วยพื้นฐานของกรดนิวคลีอิก และไปขัดขวางการรวมตัวของนิวคลีโอไทด์เข้าเป็นกรดนิวคลีอิก ซึ่งมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนของเชื้อทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมผิดปกติไปและทำให้เชื้อถูกทำลายได้ในที่สุด (Nes and Eklund, 1983)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 7 ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ก่อนจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

ก. กรรมวิธีควบคุม (น้ำ)
ข. เอทิลแอลกอฮอล์ 10,000 มก./ล.
ค. สารเคมีอิมาซาลิล 100 มก./ล.
ง. สารเคมีอิมาซาลิล 250 มก./ล.
จ. กรดซาลิไซลิก 100 มก./ล.
ฉ. กรดซาลิไซลิก 250 มก./ล.
ช. กรดออกซาลิก 100 มก./ล.
ซ. กรดออกซาลิก 250 มก./ล.
ฌ. สารโพรพิลพาราเบน 100 มก./ล.
ญ. สารโพรพิลพาราเบน 250 มก./ล.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ก่อนจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

กรรมวิธี	ความรุนแรงของโรค (%)[1/]
กรรมวิธีควบคุม (น้ำ)	29.1 f
เอทิลแอลกอฮอล์ 10,000 มก./ล.	28.9 f
สารเคมีอิมาซาลิล 100 มก./ล.	13.0 cd
สารเคมีอิมาซาลิล 250 มก./ล.	5.5 a
กรดซาลิไซลิก 100 มก./ล.	13.7 de
กรดซาลิไซลิก 250 มก./ล.	9.7 b
กรดออกซาลิก 100 มก./ล.	14.6 e
กรดออกซาลิก 250 มก./ล.	11.8 c
สารโพรพิลพาราเบน 100 มก./ล.	5.7 a
สารโพรพิลพาราเบน 250 มก./ล.	4.9 a
F-test	**
CV(%)	6.4

[1/] ความรุนแรงของโรค (%) ที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส หลังจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย

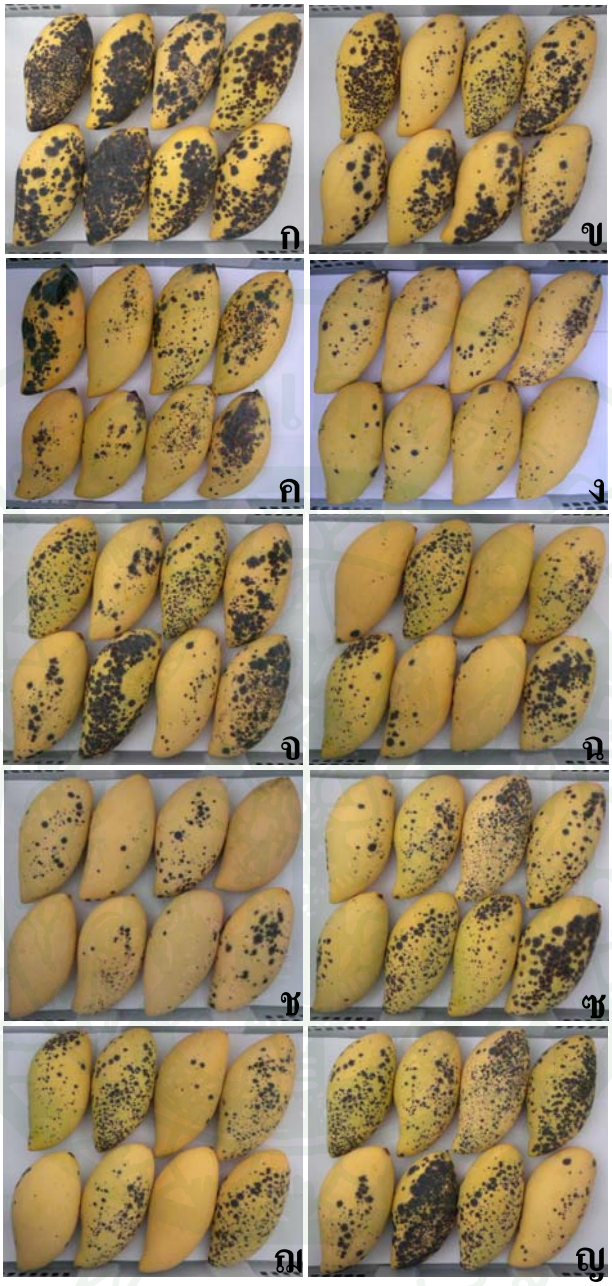
ศึกษาประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* หลังจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย 3 ชนิด คือ กรดซาลิไซลิก กรดออกซาลิก และสารโพรพิลพาราเบน ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำ เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร และสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 100 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร) พบว่าสารกลุ่มที่ปลอดภัยมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพในการในการควบคุมโรคได้ดี มีความรุนแรงของโรค 6.1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร มีความรุนแรงของโรค 10.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับมะม่วงน้ำดอกไม้ชุดกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีความรุนแรงของโรค 65.0 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8, ตารางที่ 4) จากการทดลองนี้พบว่า มะม่วงที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร โดยผลมะม่วงที่จุ่มสารเคมีอิมาซาลิล มีความรุนแรงของโรค 6.0 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สารเคมีอิมาซาลิลทำให้มีสารพิษตกค้างในเนื้อเยื่อพืช พบว่าหลังจุ่มผลส้มในสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 15 วินาที ทิ้งพักไว้ 40-45 นาที สารดังกล่าวสามารถแทรกซึมเข้าในผิวเปลือกได้มากกว่า 1 มิลลิเมตร และมีปริมาณสารตกค้าง 40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาผลส้มที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 88-92 เปอร์เซ็นต์ นาน 0 1 2 และ 7 วัน พบสารพิษตกค้าง 2.15 2.39 2.30 และ 2.40 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (Brown and Dezman, 1990) เช่นเดียวกับทศพร (2535) รายงานว่าได้ทดสอบหาสารพิษตกค้างโดยวิธี bioassay ในผลกล้วยหอมที่จุ่มในสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 3 นาที โดยตรวจผลหลังจากจุ่มสารเคมีแล้ว 1 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณสารตกค้าง 44 มิลลิกรัม/ลิตร ในส่วนของเปลือกด้านนอก และหลังจากจุ่มในสารเคมีนาน 20 ชั่วโมง พบสารพิษตกค้างในเปลือกด้านนอก 12 มิลลิกรัม/ลิตร เปลือกด้านใน 13 มิลลิกรัม/ลิตร และไม่พบสารพิษตกค้างในส่วนของเนื้อเยื่อของกล้วยหอมหลังจากจุ่มในสารเคมีแล้ว นอกจากกล้วยหอมแล้วยังได้มีการตรวจสอบหาปริมาณสารพิษตกค้างบนผลทุเรียนโดยวิธี bioassay พบว่าผลทุเรียนที่จุ่มในสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/ลิตร โดยการจุ่มยก ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสำหรับใช้ในการควบคุมโรคผลเน่าของทุเรียน มีปริมาณสารเคมีตกค้าง 25.3 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อนำผลทุเรียนมาตรวจหาปริมาณสารเคมีตกค้างทันที มีปริมาณสารเคมีตกค้าง 14.4 มิลลิกรัม/ลิตร หลังจากจุ่ม 3 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และมีปริมาณสารเคมีตกค้างน้อยกว่า 10 มิลลิกรัม/ลิตร หลังจากจุ่มสาร 6 วัน หรือทุเรียนสุก (สุจิรา, 2543)

จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ กรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 250 500 750 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้ แต่เมื่อนำผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส สามารถลดความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสได้ กรดออกซาลิกน่าจะเกี่ยวข้องกับกลไกการชักนำความต้านทานในพืชเพื่อป้องกันตนเองจากการรุกรานของเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Tian *et al*. (2006) พบว่า กรดออกซาลิก ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์กระตุ้นให้ผลแพร์มีการสร้างสารที่เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านทานต่อเชื้อรา *Alternaria alternate* เช่น เบต้า-1,3 กูลคาเนส ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส เพอออกซิเดส และโพลีฟีนอลออกซิเดส ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านทานโรคในพืช

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 8 ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

ก. กรรมวิธีควบคุม (น้ำ)
ข. เอทิลแอลกอฮอล์ 10,000 มก./ล.
ค. สารเคมีอิมาซาลิล 100 มก./ล.
ง. สารเคมีอิมาซาลิล 250 มก./ล.
จ. กรดซาลิไซลิก 100 มก./ล.
ฉ. กรดซาลิไซลิก 250 มก./ล.
ช. กรดออกซาลิก 100 มก./ล.
ซ. กรดออกซาลิก 250 มก./ล.
ฌ. สารโพรพิลพาราเบน 100 มก./ล.
ญ. สารโพรพิลพาราเบน 250 มก./ล.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

กรรมวิธี	ความรุนแรงของโรค (%)[1/]
กรรมวิธีควบคุม (น้ำ)	65.0 h
เอทิลแอลกอฮอล์ 10,000 มก./ล.	32.5 g
สารเคมีอิมาซาลิล 100 มก./ล.	23.4 e
สารเคมีอิมาซาลิล 250 มก./ล.	6.0 a
กรดซาลิไซลิก 100 มก./ล.	27.9 f
กรดซาลิไซลิก 250 มก./ล.	10.5 b
กรดออกซาลิก 100 มก./ล.	6.1 a
กรดออกซาลิก 250 มก./ล.	17.4 d
สารโพรพิลพาราเบน 100 มก./ล.	15.3 c
สารโพรพิลพาราเบน 250 มก./ล.	27.9 f
F-test	**
CV(%)	5.7

[1/] ความรุนแรงของโรค (%) ที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการกระตุ้นความต้านทาน ที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง และการชักนำการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทาน (pathogenesis-related proteins) ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

4.1 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการกระตุ้นความต้านทาน ที่ระยะเวลา 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารอิมาซาลิล

ศึกษาประสิทธิภาพของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง หลังจากนั้นทำการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) และกรรมวิธีที่จุ่มสารเคมีอิมาซาลิล 250 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิกในระยะเวลาที่ต่างกันมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุด มีความรุนแรงของโรค 4.1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 18 ชั่วโมง และมะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง มีความรุนแรงของโรค 4.3 และ 5.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับมะม่วงน้ำดอกไม้ชุดกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีความรุนแรงของโรคมากที่สุด คือ 30.6 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 9, ตารางที่ 5) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Tian *et al.* (2006) พบว่ากรดออกซาลิก ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ สามารถกระตุ้นให้ผลแพร์มีการสร้างสารที่เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านทานต่อเชื้อรา *Alternaria alternata* เช่น เบต้า-1,3 กูลคาเนส ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส เพอออกซิเดส และโพลีฟีนอลออกซิเดส ซึ่งกรดออกซาลิกจะกระตุ้นให้เอนไซม์เหล่านี้ เริ่มมีแอคติวิตีสูงขึ้นจากกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง และมีแอคติวิตีของเอนไซม์สูงสุดที่ 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 9 ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการกระตุ้นความต้านทาน ที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

ก. จุ่มกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) นาน 5 นาที ทิ้งไว้นาน 24 ชม. ก่อนการปลูกเชื้อรา

ข. จุ่มสารเคมีอิมาซาลิล 250 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

ค. จุ่มกรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 6 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

ง. จุ่มกรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 12 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

จ. จุ่มกรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 18 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

ฉ. จุ่มกรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการกระตุ้นความต้านทาน ที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

กรรมวิธี	ความรุนแรงของโรค (%)[1/]
กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	30.6 e
สารเคมีอิมาซาลิล 250 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	5.8 b
กรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 6 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	15.9 d
กรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 12 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	10.4 c
กรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 18 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	4.3 a
กรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	4.1 a
F-test	**
CV(%)	4.5

[1/] ความรุนแรงของโรค (%) ที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2 ทดสอบผลของระยะเวลาที่ต่างกันของสารกลุ่มที่ปลอดภัยบนผิวของมะม่วงน้ำดอกไม้ต่อการชักนำการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทาน (pathogenesis-related proteins) ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

ศึกษาประสิทธิภาพของกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ต่อการชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยการสกัดเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสจากเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เวลา 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) และกรรมวิธีที่จุ่มสารเคมีอิมาซาลิล 250 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ระยะเวลาที่ต่างกันของกรดออกซาลิกบนผิวมะม่วงน้ำดอกไม้มีผลต่อการชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง สามารถชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสได้สูงสุด คือมีค่าเท่ากับ 23.9 units/mg protein รองลงมาคือ มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 18 ชั่วโมง สามารถชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสได้ 21.9 units/mg protein เมื่อเทียบกับมะม่วงน้ำดอกไม้ชุดกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) สามารถชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสได้น้อยสุด คือ 18.2 units/mg protein (ตารางที่ 6)

จากผลการทดลองนี้มีความสัมพันธ์กับการทดลองที่ 4.1 คือ เมื่อจุ่มผลมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุด เนื่องมาจากที่ระยะเวลานี้สามารถชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสได้สูงที่สุด โดยเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส มีคุณสมบัติในการย่อยไคตินและเบต้า-1,3-กลูแคน ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์ของเชื้อรา ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างขององค์ประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อราส่งผลให้เชื้อราไม่สามารถเจริญต่อไปได้ (Bartnicki-Garcia, 1969) ดังนั้นการกระตุ้นการสร้างเบต้า-1,3-กลูคาเนส จึงเป็นหนทางหนึ่งในการป้องกันตัวเองจากการบุกรุกจากเชื้อก่อโรค และการที่เอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส มีหลายไอโซไซม์ทำให้เอนไซม์มีความแตกต่างในด้านความจำเพาะต่อสับสเตรท ซึ่งข้อดีของการมีหลายไอโซไซม์คือจะช่วยยับยั้งการบุกรุกของเชื้อก่อโรคที่มีเบต้า-1,3-กลูแคนชนิดต่างๆเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์ได้ (Wessels *et al*., 1987; Hrmova and Fincher, 1993)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 ผลของระยะเวลาที่ต่างกันของสารกลุ่มที่ปลอดภัยบนผิวของมะม่วงน้ำดอกไม้ต่อการชักนำการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทาน (pathogenesis-related proteins) ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

กรรมวิธี	กิจกรรมเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส (units/mg protein) [1/]
กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	18.2 f
สารเคมีอิมาซาลิล 250 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	20.2 c
กรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 6 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	18.8 e
กรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 12 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	19.4 d
กรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 18 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	21.9 b
กรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม.ก่อนการปลูกเชื้อรา	23.9 a
F-test	**
CV(%)	1.9

[1/] กิจกรรมเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส (units/mg protein) ที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

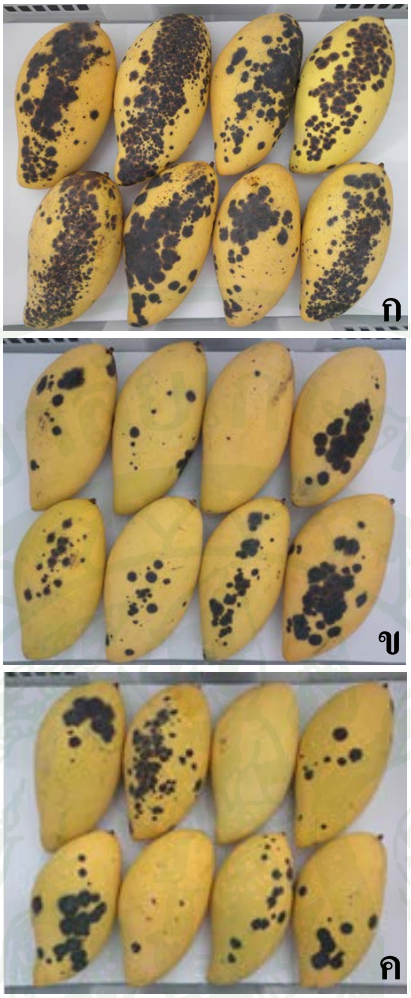
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยต่อการเป็นสารต้านเชื้อราหรือสารชักนำให้เกิดความต้านทาน (pathogenesis-related proteins) ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่เกิดจากการปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้

ศึกษาประสิทธิภาพของกรดออกซาลิก ต่อการชักนำให้เกิดความต้านทานในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* หลังจุ่มกรดออกซาลิกความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม เปรียบเทียบระหว่างมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ล้างกรดออกซาลิกออก และมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ไม่ได้ล้างกรดออกซาลิก พบว่าประสิทธิภาพของกรดออกซาลิกในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ล้างกรดออกซาลิกที่ผิวออก มีความรุนแรงของโรค 16.2 เปอร์เซ็นต์ และมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ไม่ได้ล้างกรดออกซาลิกที่ผิวออก มีความรุนแรงของโรค 15.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยมะม่วงน้ำดอกไม้ชุดกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีความรุนแรงของโรค 49.3 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 10, ตารางที่ 7)

จากการทดลองนี้สามารถยืนยันได้ว่า กรดออกซาลิกเป็นสารในกลุ่มที่สามารถชักนำความต้านในพืช เพราะเมื่อล้างกรดออกซาลิกออกจากผิวมะม่วงน้ำดอกไม้แล้ว พบว่าประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงนั้นไม่แตกต่างจากกรดออกซาลิกที่ไม่ล้างน้ำ แสดงให้เห็นว่าเมื่อจุ่มมะม่วงน้ำดอกไม้ในกรดออกซาลิก ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง สามารถเข้าไปกระตุ้นให้ผลมะม่วงเกิดกลไกในการป้องกันตนเองจากการรุกรานของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสภายหลังการเก็บเกี่ยวได้ โดยที่กรดออกซาลิกไม่ได้เคลือบอยู่เฉพาะที่ผิวภายนอกมะม่วงเพียงอย่างเดียว สอดคล้องกับการทดลองที่ 4.1 และ 4.2 พบว่า เมื่อจุ่มผลมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุด เนื่องมาจากที่ระยะเวลานี้สามารถชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสได้สูงที่สุด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพ 10 ความรุนแรงของโรค (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ผ่านการกระตุ้นความต้านทานด้วยกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตามด้วยการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน

ก. กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม. ก่อนปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

ข. จุ่มกรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม. ล้างน้ำออก ก่อนปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

ค. จุ่มกรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม. ไม่ล้างน้ำ ก่อนปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ความรุนแรงของโรค (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ผ่านการกระตุ้นความต้านทานด้วยกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตามด้วยการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 วัน

กรรมวิธี	ความรุนแรงของโรค (%)[1/]
กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม. ก่อนปลูกเชื้อรา	49.3 a
กรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม. ล้างน้ำออก ก่อนปลูกเชื้อรา	16.2 b
กรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร จุ่มเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชม. ไม่ล้างน้ำ ก่อนปลูกเชื้อรา	15.5 b
F-test	**
CV(%)	28.9

[1/] ความรุนแรงของโรค (%) ที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. การศึกษาประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัย ที่กระตุ้นความต้านทานต่อคุณภาพการเปลี่ยนแปลงของมะม่วงน้ำดอกไม้ภายหลังการเก็บเกี่ยว

6.1 การเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อของเนื้อและเปลือกมะม่วง

มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง ตรวจสอบคุณภาพหลังจากการเก็บรักษา 8 วัน พบว่ามีความแน่นเนื้อของเนื้อและเปลือกมะม่วงสูงกว่ามะม่วงน้ำดอกไม้กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) โดยมะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก มีค่าเฉลี่ยความแน่นเนื้อของเนื้อและเปลือกมะม่วง เท่ากับ 1.6 และ 9.3 นิวตัน เปรียบเทียบกับมะม่วงน้ำดอกไม้กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีค่าเฉลี่ยความแน่นเนื้อของเนื้อและเปลือกมะม่วง เท่ากับ 1.5 และ 8.1 นิวตัน (ตารางที่ 8) สอดคล้องกับรายงานของ Zheng *et al.* (2007a) พบว่า กรดออกซาลิกทำให้ผลพีช (peach) มีความแน่นเนื้อเพิ่ม อัตราการหายใจลดลง เพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) เพอออกซิเดส (peroxidase) แคทตะเลส (catalase) แอสคอเบทเปอร์ออกซิเดส (ascorbate peroxidase) โพลีฟีนอล ออกซิเดส (polyphenol oxidase) และลดกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase) ส่งผลให้มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิกสามารถชะลอการสุกของผลไม้และต้านทานต่อโรคระหว่างการเก็บรักษา และแม้ว่ากระบวนการสุกจะช้าลงแต่กระบวนการสุกนั้นก็ยังเกิดขึ้น ความแน่นเนื้อของผลไม้ลดลง เนื่องจากเพกทินของผนังเซลล์ที่อยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ (protopectin) เปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่สามารถละลายน้ำได้ (Knee and Bartley, 1981) ทั้งยังมีปัจจัยจากกิจกรรมของเอนไซม์เพคตินเนส (pectinase) และพอลิกาแล็กทูโรเนส (polygalacturonase) ทำให้ผนังเซลล์ยึดติดกันไม่เหนียวแน่นดังเช่นเดิม ซึ่งการยึดเกาะกันของเซลล์จะอ่อนแอลงเรื่อยๆ ตามระยะการสุกของผลไม้ที่มากขึ้น (จริงแท้, 2538) จากรายงานของเสาวภา (2547) พบว่าผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองระยะผลดิบ มีค่าความแน่นเนื้อ 14.1 นิวตัน และเมื่อผลสุกมีค่าความแน่นเนื้อ 9.8 นิวตัน

6.2 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก

มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง ตรวจสอบคุณภาพหลังจากการเก็บรักษา 8 วัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (L) และค่าสีน้ำเงิน – เหลือง (b) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่าสีเขียว – แดง (a) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากมะม่วง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

น้ำดอกไม้กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) โดยมะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก มีค่าความสว่าง (L) เท่ากับ 67.6 ค่าสีน้ำเงิน – เหลือง (b) เท่ากับ 35.5 และค่าสีเขียว – แดง (a) เท่ากับ 8.9 เปรียบเทียบกับมะม่วงน้ำดอกไม้กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีค่าความสว่าง (L) เท่ากับ 65.0 ค่าสีน้ำเงิน – เหลือง (b) เท่ากับ 36.8 และค่าสีเขียว – แดง (a) เท่ากับ 9.6 (ตารางที่ 9) จากการทดลองพบว่ามะม่วงที่จุ่มกรดออกซาลิกมีการพัฒนาของสีเหลืองช้ากว่ามะม่วงดอกไม้กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) โดยดูจากค่าความสว่าง (L) มากกว่าและ ค่าสีน้ำเงิน – เหลือง (b) น้อยกว่า แสดงให้เห็นว่ากรดออกซาลิกน่าจะเกี่ยวข้องกับการชะลอการสุกของผลมะม่วงได้ ทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น สอดคล้องการทดลองของ Wang *et al.* (2009) พบว่า เมื่อจุ่มผลพุทราในกรดออกซาลิก ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ สามารถชะลอการเสื่อมสภาพของผลไม้พุทราโดยการลดการผลิตเอทิลีน ส่งผลให้พุทราสุกช้าลง เช่นเดียวกับ Zheng *et al*. (2007b) พบว่า มะม่วงที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ นาน 10 นาที สามารถชะลอการสุกโดยจะไปลดการผลิตเอทิลีนและลดการเกิดโรค ซึ่งการที่กรดออกซาลิกสามารถชะลอการสุก โดยชะลอการผลิตเอทิลีนได้นั้น ส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกมะม่วงจากสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีเหลืองช้าลง เนื่องจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ และการสร้างแคโรทีนนอยด์จะเกิดขึ้นเมื่อผลมะม่วงเข้าสู่กระบวนการสุก นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษา พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายและสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ ซึ่งได้แก่ เพอออกซิเดส และคลอโรฟิลเลส (chlorophyllase) ตามลำดับ ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ และพันธุ์ทองดำ เอนไซม์คลอโรฟิลเลส มีปริมาณลดลง แต่เอนไซม์เพอออกซิเดส มีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ลดลงในระหว่างการสุกของผล (Ketsa *et al*., 1999)

6.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (titratable acidity, TA)

มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง ตรวจสอบคุณภาพหลังจากการเก็บรักษา 8 วัน พบว่ามีปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ไม่แตกต่างกันจากผลมะม่วงน้ำดอกไม้กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) โดยผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก มีค่าปริมาณกรดที่ไตเตรท เท่ากับ 0.03 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ชุดควบคุม (น้ำ) มีค่าปริมาณกรดที่ไตเตรท เท่ากับ 0.03 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 10) แสดงให้เห็นว่าการจุ่มมะม่วงน้ำดอกไม้ในกรดออกซาลิกเพื่อกระตุ้นให้มะม่วงเกิดความต้านทานไม่ทำให้คุณภาพของมะม่วงน้ำดอกไม้ในส่วนของปริมาณกรดที่ไตเตรทได้นั้นต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม (น้ำ) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zheng *et al.* (2007b) พบว่า มะม่วงที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ นาน 10 นาที จากนั้นนำมาวิเคราะห์ผลการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ ในวันที่ 3 6 9 12 15 และ 18 วัน พบว่าในวันที่ 3 และ 6 นั้น มะม่วงที่จุ่มกรดออกซาลิกนั้นมีปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) แต่เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของมะม่วงจะมีปริมาณลดลงเมื่อกระบวนการสุกเพิ่มมากขึ้น แสดงให้เห็นว่ากรดออกซาลิกมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้านองค์ประกอบทางเคมีของผลมะม่วงไม่เด่นชัดในช่วงแรกของการเก็บรักษา ซึ่งการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ไม่ได้ขึ้นอยู่กับกระบวนการสุกเพียงอย่างเดียว อาจเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมอื่นๆด้วย เช่น กระบวนการหายใจ เนื่องจากกรดถูกใช้เป็นซับสเตรทในการหายใจและถูกสังเคราะห์ไปเป็นน้ำตาล ดังนั้นการลดลงของปริมาณกรดจึงเกิดขึ้นพร้อมกับการลดลงของปริมาณแป้งและการเพิ่มขึ้นของน้ำตาล (ธีราพร, 2536)

6.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids, TSS)

มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง ตรวจสอบคุณภาพหลังจากการเก็บรักษา 8 วัน พบว่ามีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม (น้ำ) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ เท่ากับ 15.06 องศาบริกซ์ ในขณะที่มะม่วงดอกไม้กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีค่าปริมาณปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 15.21 องศาบริกซ์ (ตารางที่ 10) แสดงให้เห็นว่าการจุ่มมะม่วงน้ำดอกไม้ในกรดออกซาลิกเพื่อกระตุ้นให้มะม่วงน้ำดอกไม้เกิดความต้านทานไม่ทำให้คุณภาพของมะม่วงน้ำดอกไม้ในส่วนของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้นั้นต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม (น้ำ) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zheng *et al.* (2007b) พบว่า มะม่วงที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ นาน 10 นาที จากนั้นนำมาวิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ในวันที่ 3 6 9 12 15 และ 18 วัน พบว่า ในวันที่ 3 6 และ 9 นั้น มะม่วงที่จุ่มกรดออกซาลิกนั้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุม(น้ำ) แต่เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของมะม่วงจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อกระบวนการสุกเพิ่มมากขึ้น เพราะเมื่อมะม่วงเกิดกระบวนการสุก แป้งภายในเนื้อมะม่วงจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโดยกระบวนการแยกสลายด้วยน้ำ (hydrolysis) ได้เป็นน้ำตาลที่อยู่ในรูปของน้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรุกโตส ส่งผลให้ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้น (Selvaraj and Kumar, 1989; Castrillo *et al*., 1992)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแอสคอร์บิก (วิตามินซี)

มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง ตรวจสอบคุณภาพหลังจากการเก็บรักษา 8 วัน พบว่ามีปริมาณกรดแอสคอร์บิกไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากมะม่วงชุดกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) โดยผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก มีค่าปริมาณกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ 6.7 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ในขณะที่มะม่วงน้ำดอกไม้ชุดกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีค่าปริมาณกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ 6.7 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร (ตารางที่ 10) แสดงให้เห็นว่าการจุ่มมะม่วงน้ำดอกไม้ในกรดออกซาลิก เพื่อกระตุ้นให้มะม่วงดอกไม้เกิดความต้านทานไม่ทำให้คุณภาพมะม่วงในส่วนของปริมาณกรดแอสคอร์บิกต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม (น้ำ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 ผลของกรดออกซาลิกต่อการเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อของเนื้อและเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน

กรรมวิธี	ความแน่นเนื้อของเนื้อมะม่วง (นิวตัน) [1/]	ความแน่นเนื้อของเปลือกมะม่วง (นิวตัน) [1/]
กรรมวิธีควบคุม (น้ำ)	1.5	8.1
กรดออกซาลิก 100 มก./ล.	1.6	9.3
t-test	**	*

[1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี *t*-test

ตารางที่ 9 ผลของกรดออกซาลิกต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (L value) ค่าสีเขียว – แดง (a value) และค่าสีน้ำเงิน – เหลือง (b value) ส่วนเปลือกของมะม่วงน้ำดอกไม้ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน

กรรมวิธี	ความสว่าง (L value) [1/]	ค่าสีเขียว – แดง (a value) [1/]	ค่าสีน้ำเงิน – เหลือง (b value) [1/]
กรรมวิธีควบคุม (น้ำ)	64.9	9.6	36.8
กรดออกซาลิก 100 มก./ล.	67.6	8.9	35.5
t-test	*	NS	*

[1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี *t*-test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 ผลของกรดออกซาลิกต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และกรดแอสคอร์บิก (วิตามินซี) ของมะม่วงน้ำดอกไม้ ภายหลังการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (%)	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°Brix)	การเปลี่ยนแปลงของกรดแอสคอร์บิก (มก./100 มล.)
กรรมวิธีควบคุม (น้ำ)	0.03	15.2	6.7
กรดออกซาลิก 100 มก./ล.	0.03	15.1	6.7
t-test	NS	NS	NS

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

โรคแอนแทรคโนสของมะม่วงเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สามารถเข้าทำลายแบบแฝง (latent infection) จากในสวน และแสดงอาการของโรคเมื่อผลมะม่วงสุก อาการเริ่มแรกเป็นแผลจุดสีน้ำตาลจนถึงดำ ค่อนข้างกลม แผลยุบตัวลง กลางแผลมักพบกลุ่มของสปอร์สีส้มอมชมพู

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกลุ่มที่ปลอดภัย 3 ชนิด คือ กรดซาลิไซลิก กรดออกซาลิก และสารโพรพิลพาราเบน ที่ระดับความเข้มข้น 100 250 500 750 และ1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง พบว่าสารโพรพิลพาราเบนที่ระดับความเข้มข้น 250, 500, 750 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนกรดออกซาลิกทุกความเข้นข้น สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้ 100.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรดออกซาลิกยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ต่ำที่สุด และเมื่อนำสารเคมีกลุ่มที่ปลอดภัยดังกล่าว มาทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง พบว่าสารโพรพิลพาราเบนทุกระดับความเข้มข้น กรดซาลิกไซลิก ความเข้มข้น 500 750 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้ 100.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกับสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนกรดออกซาลิกยับยั้งยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ต่ำที่สุด

การควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง โดยจุ่มผลมะม่วงในสารเคมีกลุ่มที่ปลอดภัย 3 ชนิด คือ กรดซาลิไซลิก กรดออกซาลิก และสารโพรพิลพาราเบน ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร หลังการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าสารโพรพิลพาราเบน 250 มิลลิกรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด มีความรุนแรงของโรค 4.9 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับมะม่วงกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีความรุนแรงของโรค 29.1 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรดซาลิไซลิกและกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 และ 250 มีความรุนแรงของโรค 13.7 9.7 14.6 และ 11.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อจุ่มสารในกลุ่มนี้ก่อนการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* พบว่า กรดออกซาลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีไม่แตกต่างกับสารเคมีอิมาซาลิล ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตรโดยมีความรุนแรงของโรค 6.1 และ 6.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับมะม่วงกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีความรุนแรงของโรค 65.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร มีความรุนแรงของโรค 10.5 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดสอบประสิทธิภาพของกรดออกซาลิกกับผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เพื่อกระตุ้นความต้านทาน ในระยะเวลาต่างกัน ที่เวลา 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนส และชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส พบว่า มะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุด มีความรุนแรงของโรค 4.1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับมะม่วงน้ำดอกไม้กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีความรุนแรงของโรค 30.6 เปอร์เซ็นต์ และสามารถชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสได้สูงสุด คือมีค่าเท่ากับ 23.9 units/mg protein เมื่อเทียบกับมะม่วงน้ำดอกไม้กรรมวิธีควบคุม (น้ำ) สามารถชักนำการสร้างเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนสได้ 18.24 units/mg protein

การทดสอบประสิทธิภาพของกรดออกซาลิก ต่อการชักนำให้เกิดความต้านทานในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* หลังจุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบระหว่างมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ล้างกรดออกซาลิกออก และมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ไม่ได้ล้างกรดออกซาลิก พบว่าประสิทธิภาพของกรดออกซาลิกในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ล้างกรดออกซาลิกที่ผิวออก มีความรุนแรงของโรค 16.2 เปอร์เซ็นต์ และมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ไม่ได้ล้างกรดออกซาลิกที่ผิวออก มีความรุนแรงของโรค 15.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยมะม่วงน้ำดอกไม้ชุดกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) มีความรุนแรงของโรค 49.3 เปอร์เซ็นต์

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะม่วงน้ำดอกไม้ หลังจุ่มกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้กระตุ้นความต้านทานที่ผิวมะม่วง 24 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน พบว่ามะม่วงน้ำดอกไม้ที่จุ่มกรดออกซาลิกสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อของเนื้อและเปลือกมะม่วง และสีเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และปริมาณกรดแอสคอร์บิก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

เกศศิณี ตระกูลทิวากร. 2525. **การศึกษาความแก่และคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่ความแก่ต่างๆ ที่เก็บรักษาในตู้เย็น.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จินตนา ชะนะ และ รณภพ บรรเจิดเชิดชู. 2534. โรคผลเน่าของมังคุดที่เกิดจากเชื้อ *Botryodiplodia* และการควบคุม, น. 297-305. *ใน* **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29 (สาขาพืช)**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2538. **สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้.** โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน , นครปฐม.

ฉัตรนภา นวเศรษฐวงศ์. 2547**. ผลของกรดออกซาลิกต่อการเกิดสีน้ำตาล แอคติวิตีของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและโพลีฟีนอลออกซิเดสในเนื้อผลฝรั่งที่ตัดแบ่งชิ้น.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เฉลิมชัย แก้ววรชาติ. 2539. **การปลูกมะม่วง.** อักษรสยามการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

ชมัยพร เจตตกร. 2537. **ความสัมพันธ์ระหว่างความร้อนสะสมและความบริบูรณ์ของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดวงตรา กสานติกุล. 2526. **การศึกษาการเจริญเติบโตการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและดัชนีการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2529. **โรคพืช : กลไกและพันธุกรรมการเกิดโรค.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธีราพร ไชยวรรณะ. 2536. **การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ-เคมี ระหว่างการสุกของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ หนังกลางวัน และแรด.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ทศพร ทองเที่ยง. 2535. **โรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของกล้วยหอมที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum musae* (Berk & Curt) Arx. และการควบคุมโรคเพื่อการส่งออก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิพนธ์ สารทานนท์. 2542. **โรคมะม่วง.** เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตรหมอพืช-ไม้ผล ฉบับที่ 6. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 44 น.

บรรณ บรูณะชนบท. 2542. **โรค-แมลงศัตรูมะม่วง.** โรงพิมพ์มิตรสยาม, กรุงเทพฯ. 64 น.

บุญญวดี จิระวุฒิ, รัตตา สุทธยาคม, อมรา ชินภูติ และ เสริมสุข สลักเพ็ชร์. 2554. **โรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอมทองและการควบคุมโดยใช้สารปลอดภัย**. แหล่งที่มา http://it.doa.go.th/refs/files/1850_2554.pdf?PHPSESSID=fde28283a21ee1cda736d2228d1c79e8, 20 กุมภาพันธ์ 2556.

ประสาทพร สมิตะมาน. 2534. **โรคพืชวิทยา.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 338 น.

ไพโรจน์ จ๋วงพานิช. 2525. **หลักวิชาการโรคพืช.** บริษัทสารมวลชน, กรุงเทพฯ. 393น.

วารินทร์ พิมพา และ สุภาวดี ปิ่นทอง. 2549. ผลของกรดซาลิไซลิกและสารเคลือบผิวไคโตซานต่ออายุหลังการเก็บเกี่ยวของละมุด. **ว. วิทย์. กษ.** 37(5): 96-99.

วิจิตร วังใน. 2529. **มะม่วง**. ศรีสมบัติการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 301 น.

ศิวาพร ศิวเวชช. 2546. **วัตถุเจือปนอาหาร เล่ม 1**. โรงพิมพ์ศูนย์เสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

ศิริชัย กัลยารัตน์. 2523. **การศึกษาอัตราส่วนเพศดอก การติดผล และการร่วงของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ทะวาย.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศิริชัย กัลยาณรัตน์. 2548. ผลของ salicylic acid ต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้. **ว. เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว.** 4(2): 2-5.

สนั่น ขำเลิศ. 2527. **มะม่วงในระบบปลูกชิด.** อักษรพิทยาการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 294 น.

สมนึก บุญเกิด. 2528. **บทบาทของผึ้งและแมลงวัน ในการผสมเกสรมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุจิรา รวมเงาะ. 2543. **การควบคุมโรคผลเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Phomopsis* sp. หลังการเก็บเกี่ยว.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุชาติ วิจิตรานนท์ และ ขจรศักดิ์ ภวกุล. 2521. การทดสอบประสิทธิภาพของยาเคมีบางชนิดต่อโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง, น. 113–117. *ใน* **รายงานประจำปี.** กองโรคพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

เสาวภา ไชยวงศ์. 2547. **ความแตกต่างทางสรีรวิทยาและคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และดอกไม้สีทองระหว่างการเก็บรักษา.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. **สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศ.** แหล่งที่มา: http://www.oae.go.th/main.php?filename=journal_all, 5 กรกฎาคม 2556

อังสุมา ชยสมบัติ. 2530. **โรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงที่กิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. และการควบคุม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Aalto, T. R., M. C. Firman and N. E. Rigler. 1953. p-Hydroxybenzoic acid esters as preservatives. I. Uses, antibacterial and antifungal studies, properties and determination. **J. Am. Pharm. Assoc.** 42: 449–457.

Agrios, G.N. 1978. **Plant Pathology** 2nd ed. Academic Press, New york.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Amborabe, B. E., P. F. Lessard, J. F. Chollet and G. Roblin. 2002. Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: structure-activity relationship. **Plant Physiol. Biochem.** 40: 1051-1060.

Anonymous. 2012. **Genetally Recognized as Safe (GRAS) Fda. gov**. Available Source: http://www.fda.gov/Food/Food Kngredients Packaging/Generally Recognized as Safe GRAS/default.htm, September 6, 2009.

Anonymous. 2013. **Plants and the Environment: Tropisms, Circadian Rhythms and More.** Available Source: http://www.bio.miami.edu/dana/226/226F08_21.html, March 25, 2013.

Antoniw, J. F., C. E. Ritter, W.S. Pierpoint and L. C. Van Loon. 1980. Comparison of three pathogenesis-related proteins from plants of two cultivars of tobacco infected with TMV. **J. Gen. Virol.** 47: 79-87.

Arul, J. 1994. Emerging technologies for control of postharvest disease of fresh fruits and vegetables, pp. 1 – 10. *In* C. L. Wilson and M.E. Wisniewski, eds. **Biological Control of Postharvest Disease : Theory and Practice.** CRC Press, Inc., Boca Raton.

Association of Official Analytical Chemists. 1990. **Official Method of the Official Analytical Chemists, 2th ed.,** Washington, DC.

Bailey, J. A., J. R. O' Conell, R. J. Pring and C. Nash. 1992. Infection strategies of *Colletotrichum* species, pp. 88-120. *In* J. A. Bailey and M. J. Jeger, eds. ***Colltotrichum*: Biology, Pathology and Control.** CAB International, Wallingford.

Bartinicki-Garcia, S. 1969. Cell wall chemistry, morphogenesis and taxonomy of fungi. **Ann. Rev. Microbiol.** 22: 87-108.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Beasley, D. R., D. C. Joyce, L. M. Coates and A. H. Wearing. 1999. Effect of salicylic acid treatment on postharvest disease of geraldton waxflower, pp. 222. *In* **Proceedings of the 12th Australasian Plant Plathology Conference**. 27-30 September 1999, Canberra, Australia.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analyt. Bichem.** 72: 248-254.

Brown, G. E. and D. J. Dezman. 1990. Uptake of imazalil by citrus fruit after postharvest application and the effect of residue distribution on sporulation of *Penicillium digitatum.* **Plant Dis**. 67: 954-957.

Burner, R. L. 1964. Determination of reducing sugar 3,5 dinitrosalicylic acid method. **Method Carbohydr. Chem.** 4: 67-71.

Caruso, F.L. and J. Kuc. 1979. Induced resistance of cucumber to anthracnose and angular leaf spot by *Pseudomonas lachrymans* and *Colletotrichum lagenarium*. **Physiol. Plant Pathol.** 14: 191-211.

Castafier, M., M. I. Gil and F. Artes. 1997. Organic acids as browning inhibitors on harvested "Baby" lettuce and endive. **Z. Lebensm. Unters. Forsch.** A 205: 375-379

Castrillo, M., N. J. Kruger and F. R. Whatley. 1992. Sucrose metabolism in mango fruit during ripening. **Plant Sci.** 84: 45-51.

Chan, Z. and S. Tian. 2006. Induction of H_2O_2 metabolizing enzymes and total protein synthesis by antagonistic yeast and salicylic acid in harvested sweet cherry fruit. **Postharvest Biol. Technol.** 39: 314-320.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Darvill, G. A. and P. Albersheim. 1984. Phytoalexins and their elicitors-a defense against microbial infection in plants. **Ann. Rev. Plant Physiol.** 35: 243-275.

Davenport, T. L. and R. Nunez-Elisea. 1997. Reproductive physiology, pp 69-146. *In* R. E. Litz, eds. **The Mango-Botany, Production and Uses.** CAB International, Wallingford.

Demel, R. A. and B. de Kruyff. 1976. The function of sterols in membranes. **Biochim. Biophys. Acta** 457: 109-133

Durner, J., J. Shah and D. F. Klessig. 1997. Salicylic acid and disease resistance in plants. **Postharvest Biol. Technol.** 2: 266-274.

Eckert, J. W., J. R. Sievert and M. Rathayake. 1994. Reduction of imazalil effectiveness against citrus green mold in California packinghouse by resistant biotypes of *Penicillium digitatum***. Plant Dis.** 78: 971-974.

El Ghaouth, A., J. Arul, J. Grenier and A. Asselin. 1992. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopath.** 82: 398–402.

_____, A. 1994. Manipulation of defense systems with elicitors to control postharvest disease, pp. 153 – 167. *In* C.L. Wilson and M.E. Wisniewski, eds. **Biological Control of Postharvest Disease : Theory and Practice.** CRC Press, Inc., Boca Raton.

_____, A., C. L. Wilson and M. Wisniewski. 2003. Control of postharvest decay of apple fruit with *Candida saitoana* and induction of defense response. **Phytopath.** 93: 344-348.

Edreva, A. 2005. Pathogenesis-related proteins: research progress in the last 15 years. **Gen. Appl. Plant Physiol.** 31: 105-124.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Fan, X., J. P. Mattheis and J. K. Fellman. 1996. Inhibition of apple fruit 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase activity and respiration by acetylsalicylic acid. **Plant Physiol.** 149: 469-471.

Guest, D. and J. Brown. 1997. Infection processes, epidemiology and crop-loss assessment, 246-286. *In* J. F. Brown and H. J. Ogle., eds. **Plant Pathogens and Plant Diseases.** Rockvale Publications. Australia.

Hopkins, W.G. and N. P. Huner. 2004. **Introduction to Plant Physiology**, 3rd ed. John Wiley and Sons Inc., USA. pp 479-491

Hrmova, M. and G. B. Fincher. 1993. Purification and properties of three (1,3)- ß-1,3-glucanase isozymes from young leaves of barley (*Hordeum vulgare*). **Biochem. J**. 289: 453-461.

Jeffries, P., J. C. Dodd, M. J. Jegger and R. A. Plumbley. 1990. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops**. Plant Pathol.** 39: 343-366.

Ketsa, S., W. Phakawatmongkol and S. Subhadrabhandhu. 1999. Peel enzymatic activity and colour change in ripening mango fruit. **Plant Physiol.** 154: 363-366.

Khan, S. H., J. Aked and N. Magan. 2001. Control of the anthracnose pathogen of banana *(Colletotrichum musae)* using antioxidants alone and in combination with thiabendazole and imazalil. **Plant Pathol.** 50: 601-608

Knee, M. and I. M. Bartley. 1981. Composition and metabolism of cell wall polysaccharide in ripening fruits. pp. 133-148. *In* J. Friend and M. J. C. Rhodes, eds. **Recent Advance in the Biochemistry of Fruits and Vegetables.** Academic Press, London.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kobiler, I., R. Revec., L. Artez., and D. Prusky. 1998. Antifungal compounds regulation quiescent diseases in mango. pp. 109-114. *In* G. I Johnson, E. Highley and D. C. Joyce, eds. **Diseases Resistance in Fruit Australian Center for international Agricultural Research,** Canberra.

Kosiyachinda, S., S. K. Lee and S. Poernomo. 1984. Maturity indices for harvesting of mango, pp. 33-38. *In* D. B. Mendoza and R. B. H. Wills, eds. **Mango: Fruit Development, Postharvest Physiology and Marketing in ASEAN.** ASEAN Food Handling Bureau, Kualalumpur.

Kuo, K. C. 1999. Germination and appressorium formation in *Colletotrichm gloeosporioides.* **Proc. Natl. Sci. ROC(B).** 23: 126-132.

Lee, J. Y., H. J. Park, C. Y. Lee and W. Y. Choi. 2003. Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. **Food Sci. Technol.** 36: 323-329.

Leubner-Metzger, G. and F. Meins. 1999. Functions and regulation of plant ß-1,3-glucanase (PR-2). pp. 49-76. *In* S. K. Datta and S. Muthukrishnan, eds. **Pathogenesis-Related Proteins in Plants.** CRC Press, Inc., New York

Li, N., B. L. Parsons, D. Liu and A. K. Mattoo. 1992. Accumulation of wound-inducible ACC synthase transcript in tomato fruit in inhibited by salicylic acid and polyamines. **Plant Mol. Biol.** 18: 477-487.

Linsay, R.C. 1996. **Food additives. In Food Chemistry**. 3rd ed. Marcel Dekker, Inc., NewYork.

Lopez, A. M. Q. and J. A. Lucas. 2002. Effects of plant defence activator on anthracnose disease of cashew. **Eur. J. Plant Pathol.** 108: 409-420.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Matthieu, H. A., J. Joosten and J. G. M. De.Pierre.Wit. 1989. Identification of several pathogenesis-related proteins in tomato leaves inoculated with *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*) as 1,3-ß-glucanase and chitinases. **Plant Physiol.** 89: 945 – 951.

Mauricio, C. M., J. B. Cesar, L. de S. Nilton and T. Y. Jose. 2006. Effect of doses of fungicides and plant resistance activators on the control of *rhizoctonia foliar* blight of soybean, and *rhizoctonia solani* AGl-IA *in vitro* development. **Crop Protection** 25: 848-854.

Mazel, A. and A. Levine. 2001. Induction of cell death in Arabidopsis by superoxide in combination with salicylic acid or with protein synthesis inhibitors. **Free Radic. Biol. Med.** 30(1): 98-106.

McGuire, R.G. and C.A. Campbell. 1993. Imazalil for postharvest control of anthracnose on mango fruits. **Acta Hort.** 341: 371-376.

Morris, S.W., B. Vernooij, S. Titatarn, M. Starrett, S. Thomas, C.C. Wiltse, R.A. Frederiksen. 1998. Induced resistance responses in maize. **Mol. Plant Microbe. Interact.** 11(7): 643-658.

Nes, I. F. and T. Eklund.1983. The effect of parabens on DNA, RNA and protein synthesis in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. **J. Appl. Bacteriol.** 54: 237–242.

Oku, H. 1994. **Plant Pathogenesis and Disease Control**. Lewis Publisher. Tokyo.

Ozgonen, H. and A. Karatas. 2013. Effect of salicylic acid, DL-ß-amino-n butyric acid and acibenzolar-s-methyl + metalaxyl on mycelial growth and spore germination of *Alternaria mali* in vitro and on young apple seedlings. **Int. J. Agric. Biol.** 15: 165-169.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Perez-Ruiz, T., C. Martinez-Lozano, V. Tomas and J. Martin. 2004. High-performance liquid chromatographic separation and quantification of citric, lactic, malic, oxalic and tartaric acids using a post-column photochemical reaction and chemiluminescence detection. **J. Chromatograph A.** 1206: 57-64.

Perfect, S. E., B. Hughes, R. J. O' Connell and R. J. Green. 1999. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and plant-fungal interactions. **Fungal Genet and Biol.** 27: 186-198.

Prusky, D. 1996. Pathogen quiescence in postharvest disease. **Anal. Rev. Phytopathol.** 34: 413-434.

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

Qin, G. Z., S. P. Tian, Y. Xu and Y. K. Wan. 2003. Enhancement of biocontrol efficacy of antagonistic yeasts by salicylic acid in sweet cherry fruit**. Physiol. Mol. Plant Pathol.** 62: 147-154.

Ranganna, S. 1986. **Handbook of Analysis and Quality Control of Fruit and Vegetable Products.** Tata McGraw Hill Publishing Ltd., New Delhi.

Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. **Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.** 43: 439-463.

Selvaraj, Y. and R. Kumar. 1989. Changes in sugars, organic acids, amino acids, lipid constituents and aroma characteristics of ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. **J. Food Sci. Technol.** 26(6): 308-313.

Shah, J. 2003. The salicylic acid loop in plant defense. **Curr Opinin Plant Biol.** 6: 365-371.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Son-Quang, D. 2002. **Post-harvest Loss of Mango due to Anthracnose and Its Infection Biology and Resistance of Mango to the Disease.** M.S. Thesis, Kasetsart University.

Son, S. M., K. D. Moon and C. Y. Lee. 2000. Kinetic study of oxalic acid inhibition on enzymatic browning. **J. Agric. Food Chem.** 48(6): 2071–2074.

Spalding, D. H. 1982. Resistance of mango pathogens to fungicides used to control postharvest diseases. **Plant Dis.** 66: 1185-1186.

Srivastava, M. K. and U. N. Dwivedi. 2000. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. **Plant Sci.** 158: 87-96.

Sukhvibul, N., A. W. Whiley, M. K. Smith, S. E. Hetherington, and V. Vithanage. 1999. Effects of temperature on inflorescence development and sex expression on mono- and poly-embryonic mango cultivars. **J. Hort. Sci. & Biotech.** 74 : 64-68.

Sutton, B.C. 1980. **The Coelomycetes: Fungi imperfect with Pycnidia, Acervulus and Stromata.** Commonwealth Mycological lnstilute, Kew, England. 696 p.

Thompson, D. P., 1994. Minimum inhibitory concentration of esters of *p*-hydroxybenzoic acid (paraben) combination against toxigenic fungi. **J. Food Prot.** 57: 133–135.

Tian, S., Y. Wan, G. Z. Qin and Y. Xu. 2006. Induction of defense responses against *Alternaria* rot by different elicitors in harvested pear fruit. **Appl. Microbiol. Biotechnol**. 70: 726-734.

_____, H. J. Yao, X. Deng, X. B. Xu, G. Z. Qin and Z. L. Chan. 2007. Characterization and expression of ß-1,3-glucanase genes in jujube fruit induced by the biocontrol microbial agent, *Cryptococcus laurentii*. **Phytopathol.** 97: 260-268.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Tricita, H. Q. and A. J. Quimio. 1974. Pathogenicity of mango anthracnose. **Philippines Agric.** 58: 323-329.

Van Loon, L. C. and E. A. Van Strien. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiol. Mol. Plant Pathol.** 55: 85-97.

Verhoeff, K. 1974. Latent infection by fungi. **Annu. Rev. Phytopathol.** 12: 99-110.

Waller, J. M. 1992. *Colletotrichum* disease of perenial and cash crop, pp. 167-185. *In* J. A. Bailey and M. J. Jeger eds. ***Colltotrichum*: Biology, Pathology and Control**. CAB International, Wallingford.

Wang, Q., T. Lai, G. Qin and S. Tian. 2009. Response of jujube fruits to exogenous oxalic acid treatment based on proteomic analysis. **Plant Cell Physiol.** 50 (2): 230-242.

Ward, E. R., S. J. Uknes, S. C. Williams, S. S. Dincher, D. L. Wiederhold and D. C. Alexander. 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. **Plant Cell** 3: 1085-1094

Wessels, G. M., M. R.Truschel, S. A. Chamber and D. R. Mcclay. 1987. A cortical granule specific enzyme, ß-1,3-glucanase, in sea urchin eggs. **Gamete Res**. 18: 339-348.

Yang, W., A. Yu, Y. Dai and H. Chen. 2000. Separation and determination of di- and tricarboxylic acids in fruits by capillary zone electrophoresis with amperometric detection. **Postharvest Biol. Technol.** 415: 75-81.

Yu, Z., C. Kunsong, Z. Shanglong and F. Ian. 2003. The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. **Postharvest Biol. Technol.** 28: 67-74.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Yu, T. and X. D. Zheng .2006. Salicylic acid enhances biocontrol efficacy of the antagonist *Cryptococcus laurentii* in apple fruit. **J. Plant Growth Regul.** 25: 166–174.

_____, C. Jishuang, C. Rongle, H. Bin, L. Donghong and Z. Xiaodong. 2007. Biocontrol of blue and gray mold disease of pear fruit by integration of antagonistic yeast with salicylic acid. **Int. J. Food Microbiol.** 116: 339-345.

Yue-Ming, J., G. Zauberman and Y. Fuchs. 1997. Partial purification and some properties of polyphenol oxidase extracted from litchi fruit pericarp. **Postharvest Biol. Technol.** 10: 221-228.

Zainuri, D. C., A. H. Wearing, L. Coates and L. A. Terry. 2001. Effects of phosphonate and salicylic acid treatments on anthranose disease development and ripening of 'Kensington Pride' mango fruit. **Aust. J. Exp. Agr**. 41: 805-813.

Zheng, X. L., S. P. Tian, X. Meng and B. Li. 2007a. Physiological and biochemical responses in peach fruit to oxalic acid treatment during storage at room temperature. **Food Chem.** 104: 156-162.

_____, S. Tian, M. J. Gidley, H. Yue and B. Li. 2007b. Effects of exogenous oxalic acid on ripening and decay incidence in mango fruit during storage at room temperature. **Postharvest Biol. Technol.** 45: 281–284.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมีและวิธีการวิเคราะห์เอนไซม์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. วิธีการสกัดเปลือกมะม่วงเพื่อวิเคราะห์เอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส

ดัดแปลงจากวิธีการของ El Ghaouth *et al*. (2003)

เก็บตัวอย่างเปลือกมะม่วงน้ำหนัก 10 กรัม โดยแช่เปลือกมะม่วงในไนโตรเจนเหลว (Liquid nitrogen) ห่อด้วย อลูมิเนียมฟอยล์ (aluminum foil) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างมา เติม 50 mM sodium acetate buffer, pH 5.0 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ก่อนจะนำ มาบดในเครื่องปั่น (blender) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 g ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำ ให้ตกตะกอนโดยการเติม 60 % acetone (v/v) นำไปไว้ที่ –20°C เพื่อให้เกิดการตกตะกอน ก่อนจะนำไปปั่นเหวี่ยงต่อที่ 12,000 g ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 30 นาที ก็จะได้ส่วนตกตะกอนที่มีความชัดเจนยิ่งขึ้น เทส่วนเหลวด้านบนทิ้ง ทำการล้างตะกอนที่ได้ 3 ครั้ง ด้วย 60 % acetone หลังจากนั้นจึงเก็บเม็ดตะกอน (pellet) ที่ได้ใน 50 mM sodium acetate buffer, pH 5.0 ปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร ก่อนจะนำ ไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อใช้เป็นแหล่งของเอนไซม์ต่อไป และตรวจสอบความเข้มข้นของโปรตีนได้ตามวิธีการของ Bradford

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนตามวิธีการของ Bradford (1976)

<u>สารเคมี</u>

Coomassie Brilliant Blue G 250

95% ethanol

85% Phosphoric acid

Ovalbumin

<u>การเตรียมสารละลายที่ใช้วิเคราะห์</u>

- Protein reagent

เตรียมโดยการละลาย Coomassie brilliant Blue G 250 ปริมาตร 100 มิลลิกรัมใน 95%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

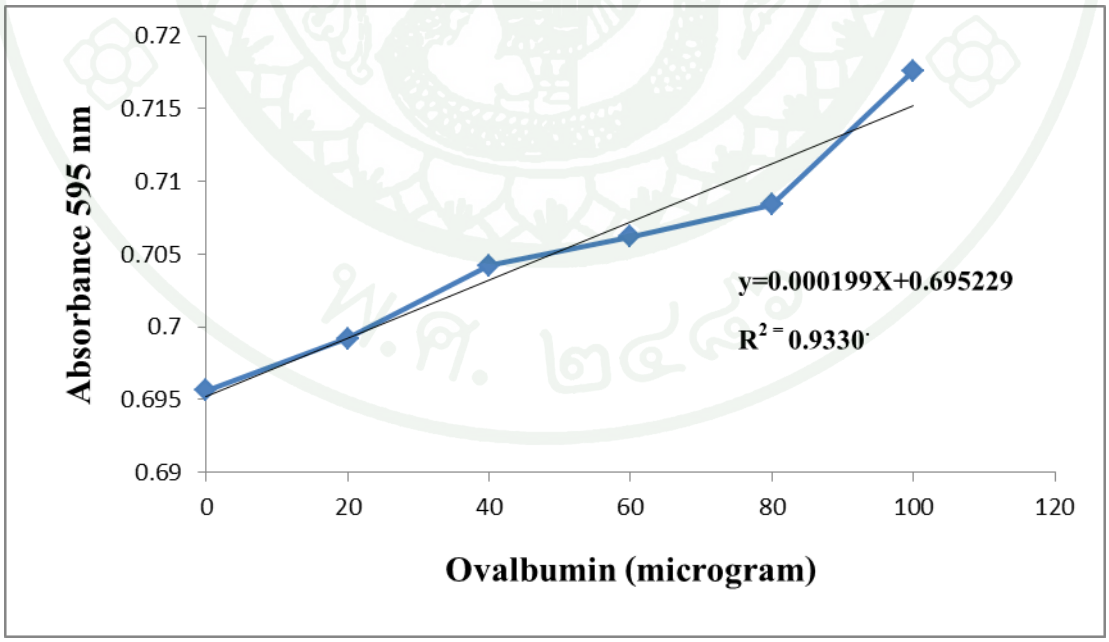
ethanol ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 85% Phosphoric acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จึงปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ก่อนที่จะนำมาใช้ และเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง ภายหลังจากการเก็บเป็นระยะเวลานาน อาจเกิดการตกตะกอนควรกรองก่อนใช้

การวิเคราะห์

ดูดสารละลายเอนไซม์ที่เตรียมได้ 100 ไมโครลิตร ผสมกับ Protein reagent 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixture จึงนำ ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 595 nm ภายใน 5-15 นาที

การเตรียมกราฟมาตรฐานของโปรตีน

เตรียมโดยใช้ Ovalbumin 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็น stock solution และดูดมา 10 20 30 40 50 60 70 80 90 และ 100 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลอดทดลองก่อนจะปรับปริมาตรเป็น 100 ไมโครลิตรด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 100 ไมโครลิตรเป็น blank ทดสอบตามวิธีการวิเคราะห์



ภาพผนวกที่ ก1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น Ovalbumin กับการดูดกลืนแสงที่ 595 nm

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส

ดัดแปลงจากวิธีการของ Burner (1964)

สารเคมี

Acetic acid

Sodium acetate anhydrous

Laminarin

NaoH

Sodium potassium tartrate

การเตรียมสารละลายที่ใช้วิเคราะห์

- 0.1 M sodium acetate buffer, pH 5.0

เตรียมโดย สารละลาย A (acetic acid เข้มข้น 0.2 M : 11.55 กรัม/ลิตร)

สารละลาย B (sodium acetate anhydrous เข้มข้น 0.2 M : 16.4 กรัม/ลิตร)

(A) 148 mL + (B) 352 mL จึงปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

- Laminarin 2 mg/ mL

เตรียมโดยการนำ 5 มิลลิกรัมของ Laminarin ละลายใน 0.1 M sodium acetate buffer, pH 5.0 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

- Dinitrosalicyclic acid (DNS) solution

เตรียมโดยละลาย sodium hydroxide จำนวน 1.6 กรัม ในน้ำกลั่นนึ่ง 50 มิลลิลิตร เติม 3,5-dinitrosalicylic acid จำนวน 0.9 กรัม คนให้ละลายเติม Potassium sodium tartate 28.22 กรัม คนให้ละลาย ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิห้อง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการวิเคราะห์

ดัดแปลงจากวิธีการของ Burner (1964)

ตัวอย่างมา 50 ไมโครลิตรผสมกับ 50 ไมโครลิตรของ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของ Laminarin ผสมให้เข้ากันแล้วนำ ไปบ่มให้เกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ก่อนที่จะนำ ไปต้มในน้ำเดือดนาน 3 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ เติม DNS solution 0.2 มิลลิลิตร และ 0.2 มิลลิลิตรของ 0.1 M sodium acetate buffer, pH 5.0 จึงผสมให้เข้ากันก่อนที่จะนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที นำ มาตั้งให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 2.7 มิลลิลิตร ก่อนจะนำ ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm

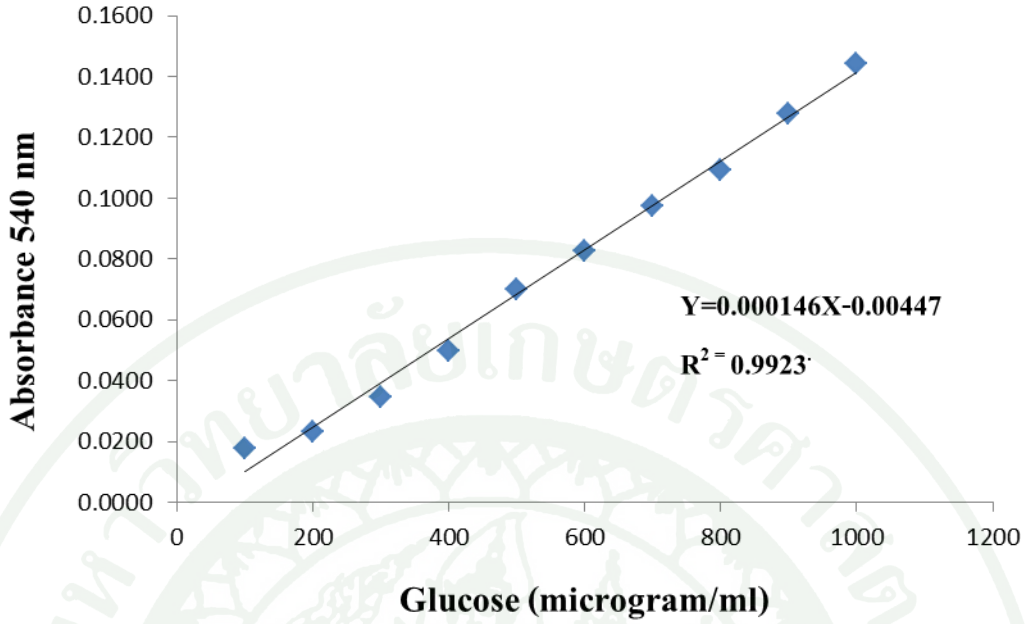
การเตรียมกราฟมาตรฐานของกลูโคส

เตรียมกลูโคส 1 กรัมต่อมิลลิลิตรใน 0.1 M sodium acetate buffer, pH 5.0 แล้วเจือจางเป็น 100 200 300 400 500 600 700 800 900 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรใน 0.1 M sodium acetate buffer, pH 5.0 ดูดสารละลายกลูโคสในแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมได้มา 100 ไมโครลิตร เติม DNS solution 0.2 มิลลิลิตร และเติม 0.1 M sodium acetate buffer, pH 5.0 ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร จึงผสมให้เข้ากัน นำส่วนผสมที่ได้ไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที หลังจากที่ปล่อยให้เย็นลงแล้วที่อุณหภูมิห้องจึงเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้ออีก 2.7 มิลลิลิตร ก่อนที่จะนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm แล้วนำไปเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm กับความเข้มข้นของกลูโคส

กิจกรรมของเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส

1 หน่วยของกิจกรรมของเอนไซม์ที่สามารถย่อย Laminarin ให้ได้ 1 ไมโครกรัม reducing sugar ภายใน 1 นาที ณ สภาวะที่ทดสอบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ก2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ข

ตารางแสดงผลความแปรปรวนทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ข1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

Source of Variation	df	SS	MS	F Value	Pr > F
Treatment	19	289726.421	15248.759	4448.79*	<.0001
Error	140	479.867	3.4276		
Corrected Total	159	290206.288			

หมายเหตุ CV = 4.2%

ตารางผนวกที่ ข2 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเวลา 9 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

Source of Variation	df	SS	MS	F Value	Pr > F
Treatment	17	218431.683	12848.923	1880.70	<.0001
Error	90	614.878	6.832		
Corrected Total	107	219046.5605			

หมายเหตุ CV = 4.6%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ข3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ก่อนจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

Source of Variation	df	SS	MS	F Value	Pr > F
Treatment	9	2792.837	310.316	411.56*	<.0001
Error	30	22.621	0.755		
Corrected Total	39	2815.457			

หมายเหตุ CV = 6.4%

ตารางผนวกที่ ข4 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังจุ่มสารกลุ่มที่ปลอดภัย เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 วัน เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

Source of Variation	df	SS	MS	F Value	Pr > F
Treatment	9	11073.644	1230.405	712.86*	<.0001
Error	30	51.780	1.726		
Corrected Total	39	11125.424			

หมายเหตุ CV = 5.7%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ข5 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ประสิทธิภาพของสารกลุ่มที่ปลอดภัยในการกระตุ้นความต้านทาน ที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

Source of Variation	df	SS	MS	F Value	Pr > F
Treatment	5	2094.940	418.988	1508.36*	<.0001
Error	18	5.000	0.278		
Corrected Total	23	2099.940			

หมายเหตุ CV = 4.5%

ตารางผนวกที่ ข6 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ผลของระยะเวลาที่ต่างกันของสารกลุ่มที่ปลอดภัยบนผิวของมะม่วงน้ำดอกไม้ ต่อการชักนำการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทาน (pathogenesis-related proteins) ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เปรียบเทียบกับสารเคมีอิมาซาลิล

Source of Variation	df	SS	MS	F Value	Pr > F
Treatment	5	114.901	22.980	160.37	<.0001
Error	24	3.4391	0.143		
Corrected Total	29	118.340			

หมายเหตุ CV = 1.9%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ข7 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ความรุนแรงของโรค (%) บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ผ่านการกระตุ้นความต้านทานด้วยกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตามด้วยการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน

Source of Variation	df	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Treatment	2	3730.900	1865.450	30.76	<.0001
Error	12	727.750	60.646		
Corrected Total	14	4458.650			

หมายเหตุ CV = 28.9%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาววีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย
เกิดวันที่	19 มีนาคม 2526
สถานที่เกิด	เขตสาธร จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งปัจจุบัน	นักวิชาการโรคพืช
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์