Agricultural Sci. J. 50 : 3 (Suppl.) : 36-39 (2019) ว. วิทย. กษ. 50 : 3 (พิเศษ) : 36-39 (2562)

การใช้พรอพอลิสในการควบโรคหลังเก็บเกี่ยวของส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง

Application of Propolis for Control Postharvest Diseases of Tangerine cv. 'Sai Nam Pueng'

วิลาวัลย์ คำปวน[1] บาจรีย์ ฉัตรทอง[1] และจำนงค์ อุทัยบุตร[2]

Wilawan Kumpoun[1], Bajaree Chattong[1] and Jamnong Uthaibutra[2]

Abstract

Propolis from the nest of the stingless bee was tested for control post-harvest diseases of 'Sai Nam Phueng' tangerine fruit. Three groups of treatment were set up. First groups; the fractions from propolis extract such as methanol soluble fraction (PM), water soluble fraction (PW), and dichloromethane soluble fraction (PD) 0.1 percent of each fraction was mixed in the 4 percent bee wax coating materials. Second groups: the fresh propolis was mixed in 4 percent bee wax coating materials at various concentrations, namely 2 and 4 percent propolis, and use 4 percent propolis instead of bee wax. The third groups; 0.1 percent of fungicide Amista (A) was mixed in 4 percent bee wax coating materials and the commercial coating materials Zidrow which contains with fungicides Imazalil. All coating material was tested for the coating performance and antifungals ability. Sai Nam Phueng tangerine fruits were wound and inoculated with 20 µl of *Penicilium digitatum* spores suspension 2.3 × 106 spores per ml. and coated with each coating materials. The results showed that all coating materials had an effect on inhibition of disease when compared to the control fruit without coating. The 4 percent propolis coating materials was the best for delaying the disease growth with the smallest wound size and the lowest infection percent. Therefore, propolis can be used as a coating materials to control the post-harvest disease of the 'Sai Nam Phueng' tangerine fruit.

Keywords: propolis, 'Sai Nam Pueng' tangerine, coating material, storage, postharvest disease

บทคัดย่อ

การนำเอาพรอพอลิสจากรังของชันโรงมาทดสอบใช้ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งด้วยวิธีการต่างๆ โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ผสมสารสกัดจากพรอพอลิส ในส่วนต่างๆ ได้แก่ ส่วนที่ละลายในเมทานอล (PM) ส่วนที่ละลายในน้ำ (PW) ส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทน (PD) อัตราส่วน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในสารเคลือบผิวที่มีไขผึ้ง 4 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 นำเอาพรอพอลลิสสดผสมในสารเคลือบผิวที่ประกอบด้วยไขผึ้ง 4 เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ พรอพอลิส 2, 4 เปอร์เซ็นต์, และการใช้พรอพอลิส 4 เปอร์เซ็นต์แทนไขผึ้ง กลุ่มที่ 3 การใช้สารกำจัดเชื้อรา Amista (A) อัตราส่วน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในสารเคลือบผิวที่มีไขผึ้ง 4 เปอร์เซ็นต์ และสารเคลือบผิวทางการค้า Zidrow ซึ่งมีส่วนผสมของสารกำจัดเชื้อรา Imazalil โดยนำสารเคลือบผิวทั้งหมดไปทดสอบประสิทธิภาพการเคลือบผิวและฤทธิ์การต้านการเจริญของเชื้อราด้วยการทำแผลและปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อ *Penicilium digitatum* 2.3×10^6 สปอร์ต่อ 1 มิลลิลิตร จำนวน 20 ไมโครลิตร บนผลส้มสายน้ำผึ้งแล้วนำไปเคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวสูตรต่างๆ ที่เตรียมขึ้น ผลการทดลองผลพบว่าสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ มีผลต่อยับยั้งการเกิดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เคลือบผิว สารเคลือบผิวที่ทำมาจากพรออลิส 4 เปอร์เซ็นต์โดยไม่มีไขผึ้ง สามารถชะลอการเกิดโรคได้ดีที่สุด โดยมีขนาดของแผลเล็กที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด ดังนั้นแสดงว่าสามารถนำพรอพอลิสมาใช้ในการผสมเป็นสารเคลือบผิวเพื่อชะลอการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งได้

คำสำคัญ: พรอพอลิส ส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง สารเคลือบผิว เก็บรักษา โรคหลังเก็บเกี่ยว

[1] สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[1]Science and Technology Research Institute, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

[2] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[2]Department of Biology Faculty of Science Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

บทนำ

จากงานวิจัยที่ผ่านมาคณะผู้วิจัยได้พัฒนาสารเคลือบผิวที่ทำมาจากไขผึ้งสำหรับเคลือบผิวส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง พบว่าสารเคลือบผิวที่ประกอบด้วยไขผึ้ง 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นส่วนผสมที่ดีที่สุดสำหรับยืดอายุการเก็บรักษาผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง สามารถลดการสูญเสียน้ำออกจากผลส้มได้ดี (วิลาวัลย์ และคณะ, 2554) พรอพอลิส เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากผิวของรังผึ้ง มีลักษณะเหนียว ประกอบด้วยสารจากธรรมชาติกว่า 300 ชนิด ซึ่งผึ้งเก็บมาจากส่วนต่างๆ ของพืช สำหรับป้องกันรัง และป้องกันเชื้อโรคในรังผึ้ง สัดส่วนองค์ประกอบและสีของพรพอลิสขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่รังผึ้งตั้งอยู่ (Macucci, 1995) พรอพอลิสมีคุณสมบัติเป็นสารต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์หลาย ๆ ชนิด ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส (Macucci, 1995; Silici *et al*., 2005) Flavonoid ในพรอพอลิสถูกรายงานว่าเป็นสารสำคัญที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และนำเอาไปใช้ในอุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอาง (Cushnie and Lamb, 2005) การใช้สารเคลือบผิวจากสารเคลือบผิวที่ผลิตได้สามารถชะลอการสูญเสียน้ำได้ดี แต่ยังพบปัญหาการเน่าเสียเนื่องจากเชื้อโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลส้มระหว่างการเก็บรักษา ในการวิจัยนี้ได้พัฒนาสารเคลือบผิวสำหรับลดการเน่าเสียของผลส้มสายน้ำผึ้ง โดยผสมสารต้านทานเชื้อจากธรรมชาติโดยเติมส่วนสกัดของพรอพอลิส และพรอพอลิสสด เปรียบกับสารกำจัดแมลงทางการค้า และสารเคลือบผิวที่ใช้ในทางการค้า เพื่อหาสูตรของสารเคลือบผิวที่เหมาะสมสำหรับลดการสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยวของผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บเกี่ยวของผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งจากแปลงของเกษตรกรอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ นำมาล้างด้วยน้ำฟองสบู่ และน้ำประปา ผึ่งให้แห้ง ทำแผลด้วยเข็มขนาด 0.5 มิลลิเมตร ลึก 2 มิลลิเมตร จำนวน 6 แผล บนผิวของผลส้ม และปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อ *Penicilium digitatum* 2.3×10^6 สปอร์ต่อ 1 มิลลิลิตร จำนวน 20 ไมโครลิตร (Fig. 1(A) วางไว้ให้แห้ง แล้วนำไปเคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวสูตรต่างๆ ที่เตรียมขึ้นโดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ผสมสารสกัดจากพรอพอลิส ในส่วนต่างๆ ได้แก่ ส่วนที่ละลายในเมทานอล (PM) ส่วนที่ละลายในน้ำ (PW) ส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทน (PD) อัตราส่วน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในสารเคลือบผิวที่มีไขผึ้ง 4 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 นำเอาพรอพอลลิสสดผสมในสารเคลือบผิวที่ประกอบด้วยไขผึ้ง 4 เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ พรอพอลิส 2และ 4 เปอร์เซ็นต์, และการใช้พรอพอลิส 4 เปอร์เซ็นต์แทนไขผึ้ง กลุ่มที่ 3 การใช้สารกำจัดเชื้อรา Amista (A) อัตราส่วน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในสารเคลือบผิวที่มีไขผึ้ง 4 เปอร์เซ็นต์ และสารเคลือบผิวทางการค้า Zidrow ซึ่งมีส่วนผสมของสารกำจัดเชื้อรา Imazalil เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีการทำแผลแต่ไม่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิว หลังจากนั้นนำไปผึ่งให้แห้ง และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อติดตามการเกิดโรคและวัดขนาดความกว้างของรอยแผล โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยแบ่งออกเป็น 10 กรรมวิธีตามชนิดของสารเคลือบผิว โดยแต่ละกรรมวิธีมี 20 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ผล

ผล

การเจริญของเชื้อ *P. digitatum* ที่ปลูกบนผิวที่ทำแผลไว้บนผลส้ม สามารถเจริญและขยายขนาดของแผลเมื่อวางไว้นานขึ้น (Fig. 1) สารเคลือบผิวชนิดต่างๆ มีผลต่อยับยั้งการเกิดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยที่สารเคลือบผิวที่ทำมาจากพรออลิส 4 เปอร์เซ็นต์โดยไม่มีไขผึ้ง สามารถชะลอการเกิดโรคได้ดีที่สุด โดยมีขนาดของแผลเล็กที่สุด (Table 1) และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด (Table 2) สารเคลือบผิวที่ไม่มีการเติมพรอพอลิสมีการเจริญของเชื้อมากที่สุด และสารเคลือบผิวที่ผสมสารกสกัดส่วนต่างๆ ของพรอพพอลิสมีการเจริญของเชื้อไม่แตกต่างกันและมีมากกว่าสารเคลือบผิวที่ผสมสารกำจัดเชื้อรา Amista ในขณะที่สารเคลือบผิวที่ใช้ในเชิงพาณิชย์ที่มีการผสมสาร Imazalil ซึ่งมีฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อราสามารถชะลอการเกิดโรคบนผิวส้มเพียงเล็กน้อย

วิจารณ์ผลการทดลอง

สารเคลือบผิวชนิดต่างๆ มีผลต่อยับยั้งการเกิดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยที่สารเคลือบผิวที่ทำมาจากพรออลิสสด 4 เปอร์เซ็นต์โดยไม่มีไขผึ้ง สามารถชะลอการเกิดโรคได้ดีที่สุด โดยมีขนาดของแผลเล็กที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด แสดงว่าพรอพอลิสที่มีในสารเคลือบผิวสามารถต้านการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* ได้ ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับ Silici *et.al*. (2005) ซึ่ง Cushnie and Lamb (2005) รายงานว่า Flavonoid ในพรอพอลิสเป็นสารสำคัญที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ สารเคลือบผิวที่มีส่วนผสมของไขผึ้ง 4 เปอร์เซ็นต์ และพรออลิส 4 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการชะลอการเกิดโรคน้อยกว่าการใช้พรอพอลิส 4 เปอร์เซ็นต์เพียงอย่างเดียว สารเคลือบผิวที่ผสมส่วนสกัดของพรอพอลิสในส่วนต่างๆ อัตราส่วน

0.1 เปอร์เซ็นต์อาจเป็นส่วนผสมที่น้อยเกินไป จึงมีผลต่อการชะลอการเกิดโรคน้อย ในขณะที่สารเคลือบผิวที่ผสมสารกำจัดกำจัดเชื้อรา Amista และสารเคลือบผิวที่ใช้ในเชิงพาณิชย์ที่มีการผสมสารกำจัดเชื้อรา Imazalil มีผลต่อการชะลอการเกิดโรคบนผิวส้มเพียงเล็กน้อย แสดงว่าพรอพอลิสสดที่ใช้ผสมเป็นสารเคลือบผิวมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. digitatum* ได้ดีกว่า สารกำจัดเชื้อราทั้ง 2 ชนิด

สรุปผลการทดลอง

พรอพอลิสสามารถนำมาใช้ในการผสมเป็นสารเคลือบผิวเพื่อชะลอการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลส้มสายน้ำผึ้งได้ การใช้พรอพอลิสสดที่เก็บจากรังของชันโรง ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถนำใช้ทดแทนไขผึ้งในการเป็นสารเคลือบผิวได้

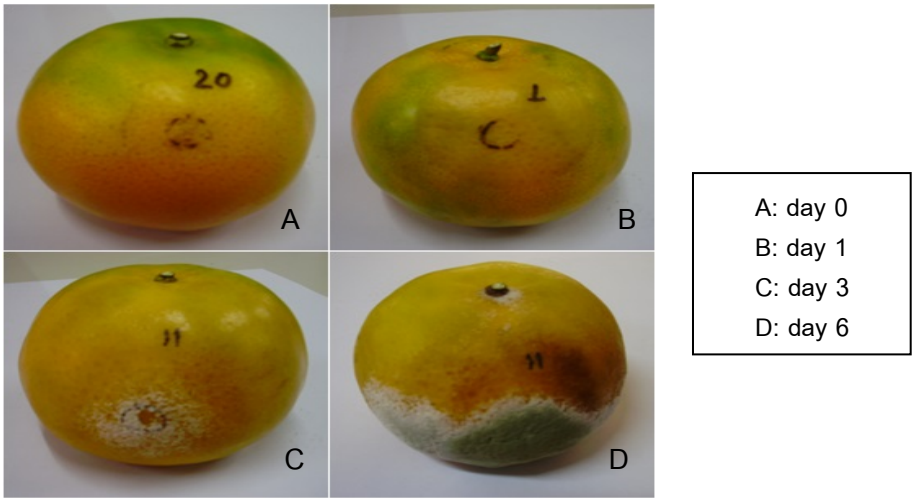

Figure 1 Infection Symptoms after inoculated *P. digitatum* on tangerine cv. Sai Nam Pueng fruits at 25 ºC

Table 1 Diameter of infection area (cm^2) after inoculated *P. digitatum* and coated the fruits with several coating materials at 25 ºC for 6 days (B: Bee wax, A: fungicide Amista, P: fresh propolise, PM: propolis in methanol soluble fraction, PW: propolis in water soluble fraction, PD: propolis in dichloromethane soluble fraction) (mean±S.E.)

Treatmens	Diameter of infection area after storage (cm^2)					
	1 days	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days
B4	0.00±0.00	0.12±0.09^{ab}	3.45±0.53^{cd}	7.68±0.68^{b}	10.97±0.86^{bc}	14.05±1.23^{b}
B4A	0.00±0.00	0.00±0.00^{a}	1.91±0.53^{ab}	6.11±0.85^{b}	9.47±1.15^{bc}	12.91±1.42^{b}
B4P2	0.00±0.00	0.00±0.00^{a}	3.67±0.49^{cd}	6.90±0.71^{b}	9.96±0.89^{bc}	12.36±1.03^{b}
B4PM	0.00±0.00	0.00±0.00^{a}	4.28±0.39^{d}	8.03±0.67^{b}	10.70±0.84^{bc}	13.66±1.03^{b}
B4PW	0.00±0.00	0.00±0.00^{a}	3.35±0.57^{bcd}	7.54±0.90^{b}	10.71±1.18^{bc}	14.34±1.58^{b}
B4PD	0.00±0.00	0.00±0.00^{a}	3.83±0.48^{cd}	7.65±0.81^{b}	10.91±1.03^{bc}	13.94±1.23^{b}
B4P4	0.00±0.00	0.00±0.00^{a}	2.51±0.51^{bc}	5.64±0.87^{b}	8.45±1.10^{b}	11.09±1.40^{b}
P4	0.00±0.00	0.00±0.00^{a}	0.93±0.35^{a}	2.78±0.72^{a}	4.63±1.09^{a}	6.37±1.42^{a}
Zidrow	0.00±0.00	0.00±0.00^{a}	2.31±0.41^{abc}	7.35±0.49^{b}	10.94±0.40^{bc}	13.82±0.51^{b}
No Wax	0.00±0.00	0.24±0.14^{b}	3.38±0.50^{bcd}	8.07±0.85^{b}	12.14±1.27^{c}	19.34±2.23^{c}

The different later in same column show statistic different at P = 0.05 by One way ANOVA and different means test by Duncan's test

Table 2 Percentage of infected fruit after inoculated *P. digitatum* and coated tangerine cv. Sai Nam Pueng fruits with coating materials at 25 ºC for 8 days (B: Bee wax, A: fungicide Amista, P: fresh propolise, PM: propolis in methanol soluble fraction, PW: propolis in water soluble fraction, PD: propolis in dichloromethane soluble fraction) (mean±S.E.)

Treatments	Percentage of infected fruit after storage period (%)						
	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days	7 days	8 days
B4	10.00±6.12^{b}	85.00±6.12^{cd}	95.00±5.00^{b}	95.00±5.00^{b}	95.00±5.00^{b}	95.00±5.00^{b}	95.00±5.00^{b}
B4A	0.00±0.00^{a}	45.00±9.35^{ab}	80.00±9.35^{b}	80.00±9.35^{b}	85.00±10.00^{b}	85.00±10.00^{b}	85.00±10.00^{ab}
B4P2	0.00±0.00^{a}	80.00±9.35^{cd}	85.00±6.12^{b}	90.00±6.12^{b}	90.00±6.12^{b}	90.00±6.12^{b}	90.00±6.12^{b}
B4PM	0.00±0.00^{a}	90.00±6.12^{d}	90.00±6.12^{b}	95.00±5.00^{b}	95.00±5.00^{b}	95.00±5.00^{b}	100.00±0.00^{b}
B4PW	0.00±0.00^{a}	70.00±5.00^{bcd}	85.00±6.12^{b}	85.00±6.12^{b}	85.00±6.12^{b}	90.00±6.12^{b}	90.00±6.12^{b}
B4PD	0.00±0.00^{a}	85.00±6.12^{cd}	85.00±6.12^{b}	90.00±6.12^{b}	90.00±6.12^{b}	90.00±6.12^{b}	95.00±5.00^{b}
B4P4	0.00±0.00^{a}	60.00±12.75^{bc}	75.00±11.18^{b}	80.00±9.35^{b}	85.00±6.12^{b}	85.00±5.00^{b}	95.00±5.00^{b}
P4	0.00±0.00^{a}	30.00±9.35^{a}	50.00±7.91^{a}	50.00±7.91^{a}	55.00±12.25^{a}	60.00±10.00^{a}	70.00±12.25^{a}
Zidrow	0.00±0.00^{a}	65.00±10.00^{bcd}	95.00±5.00^{b}	100.00±0.00^{b}	100.00±0.00^{b}	100.00±0.00^{b}	100.00±0.00^{b}
No Wax	15.00±10.00^{b}	85.00±10.00^{cd}	90.00±10.00^{b}	90.00±10.00^{b}	95.00±5.00^{b}	100.00±0.00^{b}	100.00±0.00^{b}

The different later in same column show statistic different at P = 0.05 by One way ANOVA and different means test by Duncan's test

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่อำนวยความสะดวกและสนับสนุนสถานที่ทำการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

วิลาวัลย์ คำปวน, จำนงค์ อุทัยบุตร และบาจรีย์ ฉัตรทอง. 2554. การพัฒนาสารเคลือบผิวที่ทำมาจากไขผึ้งเพื่อใช้ในระบบผลิตผลไม้เชิง การค้า. รายงานฉบับสมบูรณ์ งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2553 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 58 หน้า.

Cushnie, J.P.T. and A.J. Lamb, 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. Inter. J. of antimicrobial agents. 26: 343-356.

Macucci, M.C. 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie 26:83-99.

Silici, S., N. A. Koc, D. .Ayangil and S. Cankaya. 2005. Antifungal activities of propolis collected by different races of honeybee agnate yeasts isolation from patients with superficial mycoses. J Phamacol Sci. 99: 39-44.