

เชื้อราโรงเก็บบนช่อดอกกัญชาหลังการเก็บเกี่ยวและผลของ UVC ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในห้องปฏิบัติการ Storage Mold on *Canabis sativa* Postharvest Inflorescence and UVC Effect on Growth Inhibit of Fungi in Laboratory

ณัฐชนน ภิรมย์¹ สรินนา อ่ำรุ่ง¹ อมรัตน์ ม้ายอง² และเนตรนภิส เขียวขำ¹
Natchanon Pirom¹, Srinna Umrung¹, Amonrat Mayong¹ and Netnaphis Khewkhom¹

Abstract

The leaf and inflorescence of cannabis (*Cannabis sativa* L.) have medicinal properties and can be used in clinical treatments and applications. However, due to improper postharvest management, the floret of cannabis could be contaminated by storage fungi and cause losses. This study aims to 1) isolate and genus identified of storage mold contamination in the cannabis growth and curing rooms by air sampling using the potato dextrose agar (PDA) settle plate method, 2) contamination of postharvest cannabis inflorescence samples by tissue transplanting method and 3) study on Ultraviolet C (UVC) treatment for fungal inhibition. The condition was RH >60% at 25-28°C in growth room and RH >60% at 20-25°C in curing room. For air sample test on PDA were morphologically identified as *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. and *Penicillium* sp. was found the most at 58.4% in the growth room. In the curing room was found *Cladosporium* sp. 76.1%. Contaminated inflorescence with fungi after one month of storage (mc <10%) was found *Aspergillus* sp. *Cladosporium* sp. *Fusarium* sp. and *Penicillium* sp. Effect of UVC on colony growth of the storage fungi on PDA was tested on uncovered culture plate with placed at a distance of 70 cm from UVC lamp (wavelength 200-280 nm) for 3 hours in every three days in the laboratory. The data show *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., and *Penicillium* sp. had growth inhibition at 17.2%, 15.6%, 23.4%, and 22.6%, respectively, compared with control. *Trichoderma* sp. was not affected by the treatments.

Keywords: cannabis inflorescence, storage mold, UVC

บทคัดย่อ

ใบและช่อดอกเพศเมียของกัญชา (*Cannabis sativa* L.) แห่งนิยมใช้เป็นยารักษาโรคในการแพทย์ทางเลือกและทางคลินิก โดยในระยะหลังการเก็บเกี่ยวอาจพบการปนเปื้อนเชื้อราในโรงเก็บบนช่อดอกกัญชาทำให้ผลผลิตเสียหายได้หากการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวไม่เหมาะสม ในงานวิจัยนี้มุ่งศึกษา 1) เพื่อแยกและจำแนกสกุลของเชื้อราโรงเก็บบนช่อดอกกัญชาและห้องบ่มตาก (curing room) ช่อดอกกัญชาหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีเก็บตัวอย่างจากอากาศด้วย potato dextrose agar (PDA) 2) เชื้อราปนเปื้อนบนช่อดอกกัญชาในระยะหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธี tissue transplanting แล้วจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา และ 3) ทดสอบการยับยั้งเชื้อราด้วย Ultraviolet C (UVC) โดยสภาพในห้องปฏิบัติการที่ปลูกต้นกัญชา มีค่า RH >60 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 25-28°C ส่วนห้องบ่มตาก มีค่า RH >60 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิ 20-25°C เมื่อตรวจเชื้อที่เก็บตัวอย่างจากอากาศบน PDA พบเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* sp. โดยพบเชื้อรา *Penicillium* sp. มากที่สุด 58.4 เปอร์เซ็นต์ ในห้องปลูก และพบเชื้อรา *Cladosporium* sp. 76.1 เปอร์เซ็นต์ ในห้องบ่มตาก ส่วนช่อดอกกัญชาที่มีเชื้อราเจริญเมื่อเก็บรักษา 1 เดือน (ความชื้น <10 เปอร์เซ็นต์) พบว่าเป็นเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ผลของการใช้ UVC ต่อการเจริญของโคโลนีเชื้อราโรงเก็บดังกล่าวบน PDA โดยเปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อและวางจานอาหารเลี้ยงเชื้อห่างจากหลอด UVC (ความยาวคลื่น 200-280 nm) เป็นระยะ 70 เซนติเมตร นาน 3 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 3 วัน ในห้องปฏิบัติการ พบว่ายับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. เท่ากับ 17.2, 15.6, 23.4 และ 22.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และรังสียูวีซีไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ได้

คำสำคัญ: ช่อดอกกัญชา เชื้อราโรงเก็บ ยูวีซี

¹ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

² ศูนย์วิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900 Agricultural Research and Technology Transfer Center, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, 10900

คำนำ

กัญชา (*cannabis: Cannabis sativa*) เป็นพืชล้มลุกชนิดหนึ่งในวงศ์ Cannabidaceae มีการเพาะปลูกทั่วโลก ใช้เป็นยาและสารที่มีฤทธิ์ต่อระบบประสาท มีสารสำคัญคือ cannabinoid และ terpene compounds ผลิตในช่อดอกเพศเมีย กัญชามีลักษณะใบมนแฉกลึกเข้าไปทางก้านหลายแฉก ดอกสีเขียว ช่อดอกเพศผู้และช่อดอกเพศเมียอยู่ต่างต้นกัน เป็นพืชชนิดนิยมที่ใช้ทั้งในด้านนันทนาการ การแพทย์ทางเลือกและยาวิจัยทางคลินิก (Andre *et al.*, 2016; Das *et al.*, 2022; Punja, 2021; Small, 2017) เชื้อราสาเหตุโรคที่เข้าทำลายกัญชาที่ปลูกในการปลูกในโรงเรือน ได้แก่ โรค Dumpling off สาเหตุจากเชื้อรา *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *F. proliferatum* และ *F. solani* โรคเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *F. Oxysporum*, *F. Proliferatum*, *F. solani*, *Pythium myriotylum*, *P. dissotocum* และ *P. aphanidermatum* โรคคราบน้ำค้างสาเหตุจากเชื้อรา *Golovinomyces spp.* โรคช่อดอกเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *B. cinerea*, *Fusarium sp.* และเชื้อราเข้าทำลายหลังการเก็บเกี่ยว *B. cinerea* และ *Penicillium sp.* (Punja, 2021) การจัดการหลังการเก็บเกี่ยวต้องลดความชื้นช่อดอกกัญชาและหลีกเลี่ยงการทำให้ดอกเกิดบาดแผลระหว่างการเก็บเกี่ยวและตัดแต่ง เชื้อราโรงเก็บเป็นปัญหาหลักสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยว หากเก็บในสภาพที่มีอุณหภูมิและความชื้นสูงเชื้อราจะสามารถเข้าทำลายได้อย่างรวดเร็ว เชื้อราโรงเก็บนั้นพบได้ทั่วไปในอากาศ ได้แก่ เชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus sp.* และ *Penicillium sp.* นอกจากนี้ยังมี *Fusarium sp.* และ *Cladosporium sp.* เชื้อราสามารถแพร่ระบาดทางลมมีการปนเปื้อนได้ง่ายในช่วงก่อนการเก็บเกี่ยวในแปลงเพาะปลูก (Punja *et al.*, 2019) ในงานทดลองนี้จึงมุ่งศึกษาจำแนกสกุลของราในโรงเก็บที่สามารถปนเปื้อนช่อดอกกัญชาในระหว่างการบ่มตากและการเก็บรักษาซึ่งอาจเกิดจากความชื้นในระหว่างตากหรือเก็บรักษา รวมทั้งศึกษาผลของ UVC ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรงเก็บที่แยกได้จากช่อดอกกัญชาในระยะหลังการเก็บเกี่ยวในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นแนวทางในการกำจัดเชื้อราในห้องบ่มตากและห้องเก็บรักษาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 ตรวจเชื้อราที่พบปนเปื้อนภายในห้องปฏิบัติการที่ปลูกต้นกัญชาและห้องบ่มตาก และช่อดอกกัญชาที่มีเชื้อราเจริญ

ตรวจชนิดและปริมาณเชื้อราที่ปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการที่ปลูกต้นกัญชาและห้องบ่มตากช่อดอกกัญชาในห้องปฏิบัติการ (การปลูกกัญชาในระบบปิด ศูนย์วิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) เพื่อดูแลแหล่งของเชื้อ (inoculum) ด้วยวิธีการวางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) โดยเปิดฝาแล้ววางไว้ตามจุดต่างๆ ห้องปฏิบัติการที่ปลูกต้นกัญชา โดยวาง 4 แถว แถวละ 3 จุด และห้องตาก วาง 2 แถว แถวละ 3 จุด เป็นเวลา 60 นาที เมื่อครบเวลาเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อมาบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ภายใต้แสงธรรมชาติ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ภายใต้แสงธรรมชาติ บันทึกผลโดยนับจำนวนโคโลนีที่พบ ลักษณะโคโลนี และทำสไลด์เพื่อตรวจดูชนิดของเชื้อราที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound

เก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างช่อดอกที่มีเชื้อราเจริญในระยะเก็บรักษา เก็บเกี่ยวปี พ.ศ. 2563-2565 แยกเชื้อราด้วยวิธี tissue transplanting โดยเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ภายใต้แสงธรรมชาติ จนได้เชื้อบริสุทธิ์ บันทึกผลลักษณะโคโลนี และทำสไลด์เพื่อตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา เส้นใยและสปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของ UVC ในการยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อราโรงเก็บที่แยกได้จากช่อดอกกัญชาในระยะหลังการเก็บเกี่ยวในห้องปฏิบัติการ

นำตัวอย่างเชื้อราที่แยกได้คัดเลือกตัวแทนแต่ละชนิดมาทดสอบโดยเลือก stain ที่โตเร็ว ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.* และ *Trichoderma sp.* เลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด โดยย้ายชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA mycelium disc ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ลงอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใหม่ แล้วนำเข้าในตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow) เพื่อฉายรังสียูวีซี (UV Lamp: 30 Watt Emission of 253.7 nm Consumption 400 W ชนิด germicidal lamp (disinfection lamp or sterilizer lamp) วางจานเลี้ยงเชื้อที่เปิดฝาภายใต้แสงรังสียูวีซี นาน 3 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 3 วัน บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตผลโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราเปรียบเทียบกับชุดควบคุม วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ผลการทดลอง

ในห้องปฏิบัติการที่ปลูกต้นกัญชา (RH>60%, 25-28°C) และห้องบ่มตาก (RH>60%, 20-25°C) ตรวจพบเชื้อรา *Aspergillus* sp. *Cladosporium* sp. *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* sp. โดยพบเชื้อรา *Penicillium* sp. มากที่สุด 58.4% ในห้องปลูกและพบเชื้อรา *Cladosporium* sp. 76.1% ในห้องตาก ส่วนช่อดอกกัญชาที่มีการเจริญของเชื้อราเมื่อเก็บรักษา 1 เดือน (ความชื้น <10 เปอร์เซนต์) ตรวจพบเชื้อรา *Aspergillus* sp. *Cladosporium* sp. *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. โดยพบเชื้อรา *Penicillium* sp. มากที่สุด แต่เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างช่อดอกแห้งต่ออีก 2 เดือน แล้วนำตัวอย่างมาแยกเชื้อพบว่าเชื้อราที่ปนเปื้อนไม่เจริญ

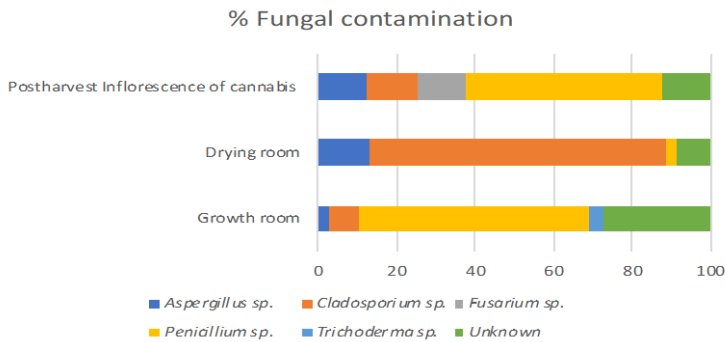


Figure 1 Fungal contamination in laboratory growth room and curing room isolated from air samples and stored cannabis inflorescence using tissue transplanting method.

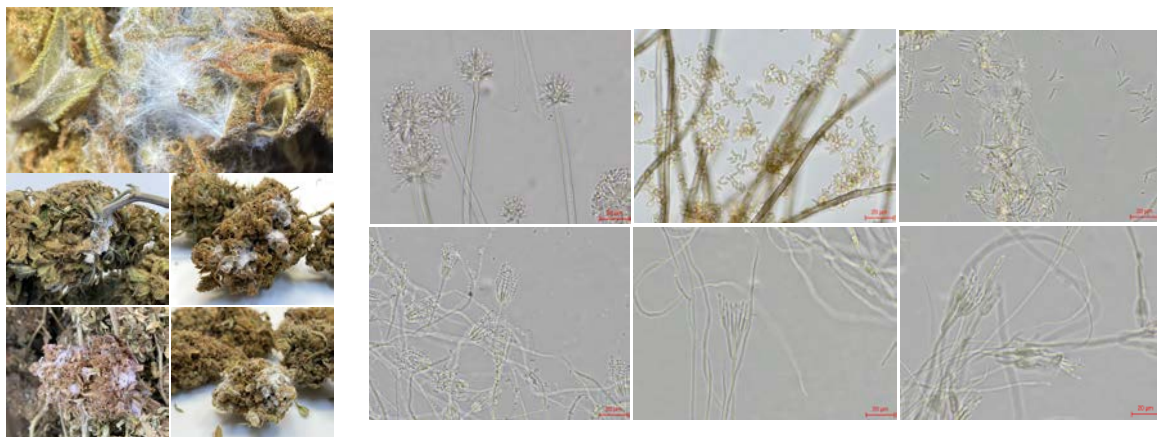


Figure 2 Contamination of stored cannabis inflorescence (A) and morphological characteristic of fungi isolated from contaminated of stored cannabis inflorescence (B) *Aspergillus* sp. (C) *Cladosporium* sp. (D) *Fusarium* sp. และ (E F และ G) *Penicillium* sp.

ผลของการใช้ UVC ต่อการเจริญของโคโลนีเชื้อราโรงเก็บที่แยกได้จากการทดลองที่ 1 เลี้ยงให้เจริญบนอาหาร potato dextrose agar นาน 3 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 3 วัน ในห้องปฏิบัติการ พบว่ายับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* sp. *Cladosporium* sp. *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. เพียง 15.6 - 23.4% เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และรังสียูวีซีไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ได้

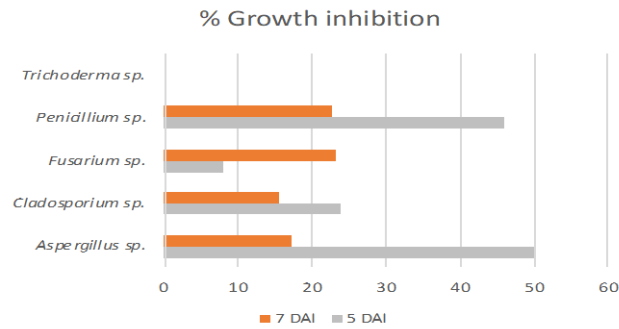


Figure 3 Growth inhibition of isolated fungi on potato dextrose agar after UVC treatment for 3 hours in every three days in the laboratory.

วิจารณ์ผล

เชื้อราโรงเก็บที่ปนเปื้อนบนช่อดอกกัญชาหลังการเก็บเกี่ยวที่ปลูกในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.* และ *Fusarium sp.* ซึ่งก็มีรายงานว่าพบโรคช่อดอกเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *B. cinerea* และ *Fusarium spp.* รวมทั้งพบเชื้อรา *B. cinerea*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.* และ *Penicillium sp.* ในระยะหลังการเก็บเกี่ยวและในห้องปลูกระบบปิด (Punja *et al.*, 2019; Punja, 2021) การเกิดเชื้อราในโรงเก็บทำให้กับผลิตผลเสียหายไม่สามารถนำไปใช้ได้เป็นการสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยวซึ่งควรมีวิธีการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดเชื้อราหรือลดปริมาณเชื้อราที่อาจปนเปื้อนในห้องบ่มตากและห้องเก็บรักษา รวมทั้งการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เชื้อราเจริญ

สรุป

เชื้อรา *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.* และ *Trichoderma sp.* มีการปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการที่ปลูกต้นกัญชาและห้องบ่มตาก พบเชื้อรา *Penicillium sp.* มากที่สุด 58.44 เปอร์เซ็นต์ ในห้องปลูกและในห้องบ่มตากพบเชื้อรา *Cladosporium sp.* มากที่สุด 76.06 เปอร์เซ็นต์ ส่วนช่อดอกกัญชาแห้งเกิดเชื้อราพบว่าเป็นเชื้อราในกลุ่มเดียวกันและยังพบเชื้อรา *Fusarium sp.* อีกด้วยแต่ไม่พบเชื้อรา *Trichoderma sp.* เมื่อทดสอบการควบคุมเชื้อราดังกล่าวโดยใช้รังสียูวีซีมายที่โคโลนีเชื้อที่เจริญบน PDA นาน 3 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 3 วัน มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.* และ *Penicillium sp.* ได้เพียง 15.6 - 23.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยไม่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma sp.*

เอกสารอ้างอิง

- Andre, C.M., J.F. Hausman and G. Guerriero. 2016. *Cannabis sativa*: the plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science* 7:19.
- Das, P.C., A.R. Vista, L.G. Tabil and O. Baik. 2022. Postharvest operations of *Cannabis* and their effect on cannabinoid content: a Review. *Bioengineering* 9:346.
- Punja, Z.K. 2021. Emerging diseases of *Cannabis sativa* and sustainable management. *Pest Management Science* 77(9): 3857-3870.
- Punja, Z.K., D. Collyer, C. Scott, S. Lung, J. Holmes and D. Sutton. 2019. Pathogens and molds affecting production and quality of *Cannabis sativa* L. *Frontiers in Plant Science* 10:1120.
- Small, E. 2017. *Cannabis A Complete Guide*. CRC Press, Boca Raton, FL.