Agricultural Sci. J. 34 : 4-6 (Suppl.) : 45-48 (2003) ว. วิทย. กษ. 34 : 4-6 (พิเศษ) : 45-48 (2546)

การควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว โดยใช้การแช่น้ำร้อนร่วมกับจุลินทรีย์จากอาหาร

Control of Anthracnose Disease in Postharvest Mango Fruit by Hot Water Treatment and Food Microorganism

พรเทพ ซุ้นสุวรรณ[1] **และ อุราภรณ์ สอาดสุด**[2]
Porntep Sunsuwan[1] and Uraporn Sardsud[2]

Abstract

The anthracnose pathogen on mango fruit cv. Nam Dok Mai and Mahajanaka were isolated and screened for a virulent isolate. Among 6 isolates, *Colletotrichum gloeosporioides* MI1 showed the strongest pathogenic activity. The isolate was dual cultured with 11 isolates of microorganisms isolated from fermented pork sausage (CM-NM-1, CM-NM-2, CM-NM-3), preserved fish (CM-PF-1, CM-PF-2), natto (CM-TN), yoghurt (CM-YK), vinegar (SK-AV), nata decoco (CM-NA), ragi (CM-LP) and a laboratory contaminant (CON-1) for antagonistic detection. The results came out that CM-NM-3, CON-1, CM-NA and CM-LP exhibited greater inhibition percentages i.e., 66.82, 62.98, 37.02 and 34.18%, respectively. All 11 isolates were further tested for the prevention of *C. gloeosporioides* MI1 infection on postharvest mango fruit. It was found that the fruit dipped in the cell suspension of CM-NA, CM-YK and CM-PF-2 after the inoculation had small lesion size which differed from the control group (not dipped). The efficacy of combined treatments using CM-NA in combination with 50 or 54 °C hot water for 5 minutes were investigated on wounded mango fruit. The least size was found on the fruit treated with 54 °C for 5 minutes either with or without dipping in the antagonistic cell suspension. The fruit dipping in cell suspension of CM-NA in combination with 54 °C hot water for 5 minutes did not change in pulp color, flesh color, weight loss, texture, total soluble solid, titratable acidify and sensory quality.

บทคัดย่อ

นำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และมหาชนกที่เป็นโรคแอนแทรคโนสมาแยกเชื้อสาเหตุ ได้เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* 6 ไอโซเลท เมื่อนำมาปลูกเชื้อบนมะม่วงพันธุ์มหาชนกพบว่า *C. gloeosporioides* MI1 มีความรุนแรงมากที่สุด จากนั้นนำมาเพาะร่วมกับจุลินทรีย์ 11 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากแหนม 3 ไอโซเลท (CM-NM-1, CM-NM-2, CM-NM-3) ปลาส้ม 2 ไอโซเลท (CM-PF-1, CM-PF-2) ถั่วเน่า 1 ไอโซเลท (CM-TN) โยเกิร์ต 1 ไอโซเลท (CM-YK) น้ำส้มสายชู 1 ไอโซเลท (SK-AV) วุ้นมะพร้าว 1 ไอโซเลท (CM-NA) ลูกแป้ง 1 ไอโซเลท (CM-LP) และจากการปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการ 1 ไอโซเลท (CON-1) เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ พบว่าจุลินทรีย์ CM-NM-3, CON-1, CM-NA และ CM-LP มีประสิทธิภาพการยับยั้งที่ดีคือ 66.82, 62.98, 37.02 และ 34.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำจุลินทรีย์ทั้ง 11 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งบนผลมะม่วง พบว่าผลมะม่วงที่จุ่มใน cell suspension ของ CM-NA, CM-YK และ CM-PF-2 หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุมีขนาดแผลเล็กกว่ามะม่วงชุดควบคุม (ไม่จุ่มจุลินทรีย์) เมื่อใช้จุลินทรีย์ CM-NA ร่วมกับน้ำร้อน 50 และ 54 °ซ. นาน 5 นาที บนมะม่วงที่ทำแผล พบว่ามะม่วงที่แช่น้ำร้อน 54 °ซ. นาน 5 นาที ไม่ว่าจะจุ่มจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หรือไม่ก็ตามมีขนาดของแผลเล็กที่สุด การศึกษาผลของการใช้จุลินทรีย์ CM-NA ร่วมกับการจุ่มน้ำร้อน 54 °ซ. นาน 5 นาที ต่อคุณภาพของผลมะม่วง พบว่าไม่มีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงสีเปลือก สีเนื้อ การสูญเสียน้ำหนัก ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ และคุณภาพทางประสาทสัมผัส มีค่าไม่แตกต่างจากชุดควบคุม

[1] สาขาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[1] Department of Postharvest Technology, Graduate School, Chiang Mai University
[2] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[2] Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University

คำนำ

มะม่วงพันธุ์มหาชนกเป็นมะม่วงที่มีความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรคโนสมากชนิดหนึ่ง การควบคุมโรคนี้ วิธีที่ให้ผลดีและเป็นที่นิยมได้แก่ การใช้สารกำจัดเชื้อรา ซึ่งหากใช้อย่างต่อเนื่องอาจจะมีผลทำให้เชื้อเกิดอาการดื้อยา หรือเกิดสารพิษตกค้างเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค การป้องกันและกำจัดโรคพืชด้วยชีววิธีเป็นวิธีหนึ่งที่เริ่มได้รับความนิยมและปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยใช้จุลินทรีย์จากอาหาร ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ผู้บริโภคยอมรับและมีใช้ในอาหารอย่างแพร่หลาย นอกจากนี้เพื่อประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดโรคจึงใช้การกำจัดโรคพืชโดยชีววิธีร่วมกับการใช้น้ำร้อน ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ให้ผลดีและปลอดภัยเช่นกัน

อุปกรณ์และวิธีการ

มีขั้นตอนดังนี้

1. แยกและรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์จากอาหารหมักประเภทต่างๆ ด้วยวิธี Dilution spread plate โดยใช้อาหาร potato dextrose agar (PDA) และแยกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* จากผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และมหาชนกด้วยวิธี Tissue transplanting นำ *C. gloeosporioides* ไอโซเลทต่างๆ ที่แยกได้มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่ผ่านการทำแผล โดยใช้ spore suspension ที่ความเข้มข้น 10^6 spore/ml คัดเลือกเชื้อสาเหตุที่ก่อโรคได้รุนแรงที่สุดไว้เพื่อทดสอบต่อไป

2. ทดสอบจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในจานเพาะเชื้อ โดยนำจุลินทรีย์แต่ละไอโซเลทมาเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ที่คัดเลือกไว้ บนอาหาร PDA แบบ Dual culture คำนวณประสิทธิภาพการยับยั้งโดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$\text{ประสิทธิภาพการยับยั้ง (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

โดย A = รัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุในจานควบคุม

B = รัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุในจานที่เพาะร่วมกับจุลินทรีย์จากอาหาร

3. ทดสอบจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนผลมะม่วง โดยนำผลมะม่วงที่ปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* MI1 และบ่มในที่ชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้ว มาจุ่ม cell suspension ของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละไอโซเลทที่แยกได้จากอาหาร แล้วนำไปวางที่อุณหภูมิห้อง (28±2 °ซ.) วัดขนาดของแผลที่เกิดในวันที่ 3 5 และ 7

4. ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ที่คัดเลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส เมื่อใช้ร่วมกับการแช่น้ำร้อน โดยนำผลมะม่วงที่ผ่านการปลูกเชื้อสาเหตุและบ่มไว้แล้ว 24 ชั่วโมง มาแช่น้ำร้อน 5 10 นาที ที่ 50 หรือ 54 °ซ. และ/หรือ ตามด้วยการจุ่มใน cell suspension ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ CM-NA แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง วัดขนาดแผลที่เกิดในวันที่ 3 5 และ 7 ของการเก็บรักษา

5. ตรวจคุณภาพของผลมะม่วงจากการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกับการแช่น้ำร้อน โดยนำผลมะม่วงจุ่มในจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ CM-NA และหรือแช่น้ำร้อน 54 °ซ. เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาตรวจสอบการสูญเสียน้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงสีผิว สีเนื้อ ความแน่นเนื้อ ฯลฯ ในวันที่ 3 5 และ 7 ของการทดลอง

ผล

1. จากการรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์จากอาหารและการคัดเลือกเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนส พบว่าสามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด 10 ไอโซเลท โดยแยกจากแหนมได้ 3 ไอโซเลท ให้รหัสเชื้อเป็น CM-NM-1 CM-NM-2 และ CM-NM-3 จากปลาส้ม 2 ไอโซเลท ได้แก่ CM-PF-1 และ CM-PF-2 จากลูกแป้ง 1 ไอโซเลท คือ CM-LP จากโยเกิร์ต 1 ไอโซเลท คือ CM-YK จากวุ้นมะพร้าว 1 ไอโซเลท คือ CM-NA จากน้ำส้มสายชู 1 ไอโซเลท คือ SK-AV และจากถั่วเน่า 1 ไอโซเลท คือ CM-TN นอกจากนี้ได้พบเชื้อปนเปื้อนในระหว่างการแยกเชื้อ *C. gloeosporioides* จากมะม่วง ซึ่งพบว่ามีลักษณะน่าจะเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จึงได้นำมาแยกและเพาะเป็นเชื้อบริสุทธิ์ ให้ชื่อไอโซเลทว่า CON-1 รวมเป็นเชื้อที่แยกได้ทั้งหมด 11 ไอโซเลท

จากการแยกเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสจากผลมะม่วง 2 พันธุ์คือ น้ำดอกไม้และมหาชนก สามารถแยกเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้ 6 ไอโซเลท และเมื่อทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคบนผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก พบว่า *C. gloeosporioides* ไอโซเลท MI1 ทำให้เกิดแผลขนาดใหญ่ที่สุด 12.6 มิลลิเมตร รองลงมาคือไอโซเลท NI3 และ MI2 (Figure 1)

2. จากการทดสอบจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในจานเพาะเชื้อ พบว่า CM-NM-3 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้มากที่สุด 66.82 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือจุลินทรีย์ CON-1 ซึ่งมีประสิทธิภาพการยับยั้ง 62.98 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2)

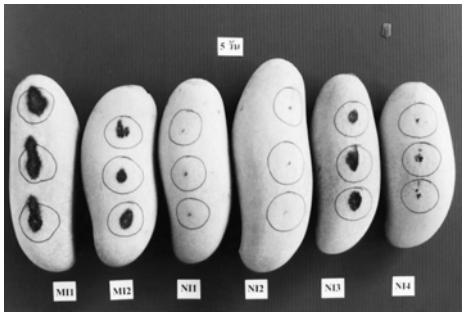

Figure 1 Different lesion sizes of Mahajanaka mango fruit after being inoculated with 6 isolates of *C. gloeosporioides*.

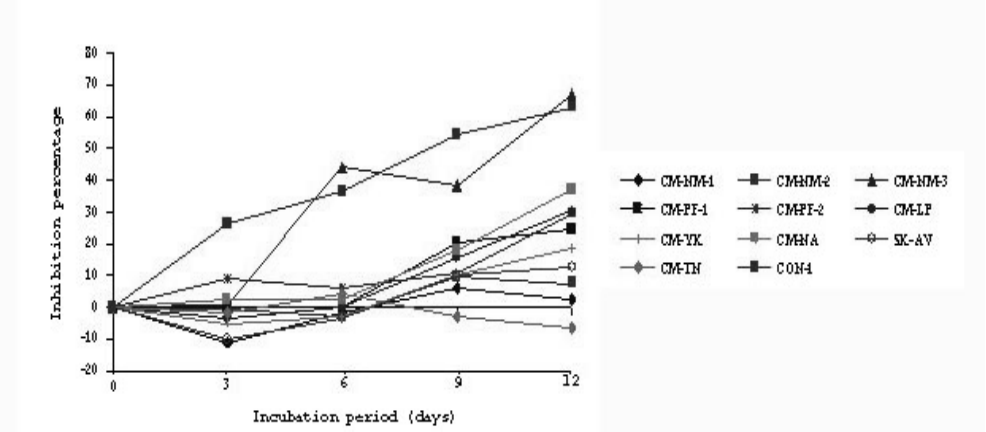

Figure 2 Antagonistic efficiency of microorganisms isolated from some food products against mycelial growth of *C. gloeosporioides* on PDA.

3. จากการทดสอบจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนผลมะม่วง พบว่ามะม่วงที่จุ่มจุลินทรีย์ CM-NA หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุมีขนาดแผลเล็กที่สุด 12.75 มิลลิเมตร ถัดมาคือมะม่วงที่จุ่มจุลินทรีย์ CM-YK, CM-PF-2 และ CON-1 มีขนาดแผล 13.19 13.36 และ 13.84 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับมะม่วงชุดควบคุมที่มีขนาดแผล 15.56 มิลลิเมตร

4. จากการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ที่คัดเลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสเมื่อใช้ร่วมกับการแช่น้ำร้อน พบว่าการจุ่มจุลินทรีย์ CM-NA ร่วมกับการแช่น้ำร้อนให้ผลไม่แตกต่างกับการใช้น้ำร้อนเพียงอย่างเดียว (Figure 3) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ CM-NA ลดลงเนื่องจากปริมาณของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลดลงทำให้ความสามารถในการแย่งพื้นที่อาศัยกับเชื้อสาเหตุโรคด้อยกว่า

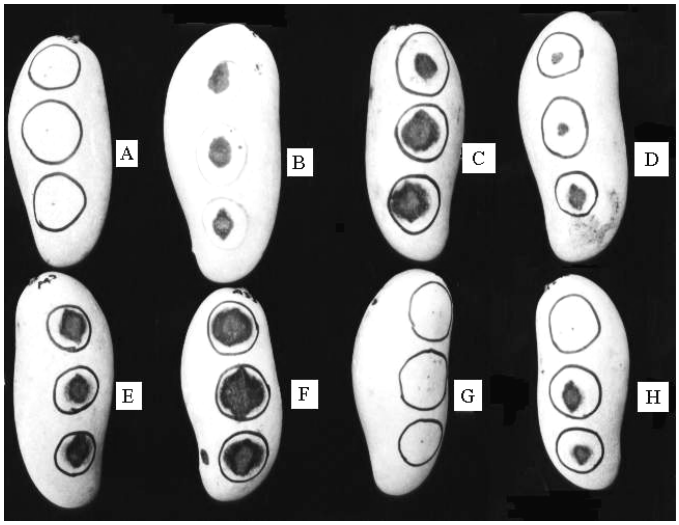

Figure 3 Lesion size on wounded mango fruit after incubation for 7 days. A,B; non-inoculated fruit. C, D, E, F,G, H; inoculated with MI1.

Notes A; immersed in sterilized distilled water. B; immersed in CM-NA. C; no further treated. D; immerse in CM-NA. E; hot dipped (50 °C, 5 min). F; hot dipped (54 °C, 5 min). G; ~ E + CM-NA. H ~ F + CM-NA.

5. จากการตรวจสอบคุณภาพของผลมะม่วงจากการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกับการแช่น้ำร้อน พบว่าการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือกร่วมกับการแช่น้ำร้อน (Hot water treatment) ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วง ทั้งทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัส

สรุป

1. รวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ได้ 11 ไอโซเลท จากแหนม 3 ไอโซเลท ปลาส้ม 2 ไอโซเลท ลูกแป้ง โยเกิร์ต วุ้นมะพร้าว น้ำส้มสายชู ถั่วเน่า และจากการปนเปื้อนระหว่างการทดลอง อย่างละ 1 ไอโซเลท

2. จากการคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยเลี้ยงร่วมกับเชื้อสาเหตุในจานเพาะเชื้อและบนผลมะม่วง ได้ผลสรุปว่าจุลินทรีย์ CM-NM-3, CON-1, CM-NA และ CM-LP แสดงประสิทธิภาพที่ดีในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อสาเหตุในจานเพาะเชื้อ และเมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อสาเหตุบนผลมะม่วง พบว่าจุลินทรีย์ CM-NA, CM-YK และ CM-PF-2 แสดงประสิทธิภาพที่ดีในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

3. การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ CM-NA ร่วมกับการแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 54 °ซ. ให้ผลไม่แตกต่างกับการแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 54 °ซ. เพียงอย่างเดียว

4. การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ CM-NA ร่วมกับการแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 54 °ซ. ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี และคุณภาพทางประสาทสัมผัส ของมะม่วงพันธุ์มหาชนก

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณศจี ศิริสรรพ์ สวนบ้านทราย บ้านทรายไหล่เหมือง อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง ที่ให้ความอนุเคราะห์ผลมะม่วงที่ใช้ในการวิจัย และขอขอบคุณ สถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนในการนำเสนอผลงานครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

จินันทนา จอมดวง. 2543. การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยวโดยชีววิธี. การประชุมเพื่อเสนอผลงานวิจัยโครงการทุนวิจัยหลังปริญญาเอก ครั้งที่ 1. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

Arras, G., R. Dessi, P. Sanna and S. Arru. 1999. Inhibitory activity of yeasts isolated from fig fruits against *Penicillium digitatum*. Acta Horticulturae. 485: 37-46.

Chand-Goyal, T. and R.A. Spotts. 1996. Control of postharvest pear diseases using natural saprophytic yeast colonists and their combination with a low dosage of thiabendazole. Postharvest Biology and Technology. 7: 51-64.

Huang, Y., B.J. Deverall and S.C. Morris. 1995. Postharvest control of green mold on oranges by a strain of Pseudomonas glathei and enhancement of its biocontrol by heat treatment. Postharvest Biology and Technology. 5: 129-137.

Koomen, I. and P. Jeffries. 1993. Effects of antagonistic microorganisms on the postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* on mango. Plant Pathology. 42(2): 230-237.

Sangchote, S. and M. Saoha. 1997. Control of postharvest diseases of mango using yeasts. ACIAR Proceeding. 81: 108-102.