

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ศึกษาอาการโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วง เชื้อสาเหตุของโรค และความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุ

1.1 การศึกษาอาการโรคและการแยกเชื้อบริสุทธิ์

จากการศึกษาอาการโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วงพบว่า ในระยะแรกเกิดแผลเป็นจุดสีน้ำตาลหรือสีดำขนาดเล็ก (ภาพ 3) หลังจากบ่มผลมะม่วงไว้ในกล่อง moist chamber เป็นเวลา 14 วัน พบว่าแผลมีสีดำขนาดใหญ่ขึ้น รูปร่างไม่แน่นอน ลักษณะแผลซ้อนกันเป็นวง และมีรอยบุ๋มตื้นๆ เมื่อทิ้งไว้นานขึ้น แผลจะลุกลามทำให้ผลมะม่วงเน่า มีสีดำทั้งผล และมีกลุ่มสปอร์ (spore masses) สีส้มคล้ายเมือกเกิดขึ้น (ภาพ 3) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวิจิตร (2529) เมื่อนำผลมะม่วงที่แสดงอาการโรคแอนแทรกโนสมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน พบว่าลักษณะโคโลนิของเชื้อสาเหตุ เริ่มแรกสร้างเส้นใยมีสีขาว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวแก่หรือสีเทา สร้างกลุ่มสปอร์สีส้มคล้ายเมือก (ภาพ 4) และเมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า พบเส้นใยสี มีผนังกัน สปอร์ (โคนิเดีย) สี เซลล์เดี่ยว รูปร่างเป็นทรงกระบอกตรงคล้ายแคปซูล หัวท้ายมน ขนาด 3 - 6 ไมโครเมตร (ภาพ 4) ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สอดคล้องกับรายงานของ Josep *et al.* (2004) และ Sanders and Korsten (2003) นอกจากนี้ยังพบ seta สีเข้มคล้ายหนามเช่นเดียวกับรายงานของวิชัย (2551)

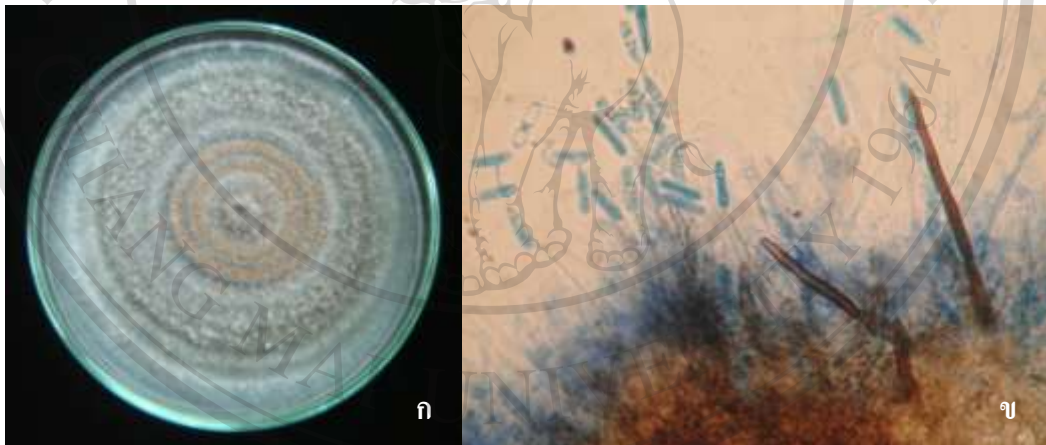
1.2 การชักนำและเปรียบเทียบสูตรอาหารในการสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุ

จากการเลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารทั้ง 4 สูตร ได้แก่ อาหาร PDA, half-PDA, half-MS และ V-8 juice พบว่าเชื้อสาเหตุมีอัตราการเจริญและการสร้างเส้นใย ตลอดจนปริมาณของกลุ่มสปอร์แตกต่างกัน (ตาราง 2 และภาพ 5) ทั้งนี้การสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุอาจขึ้นอยู่กับสภาพอากาศ แสง และอุณหภูมิ เพราะเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเชื้อราที่มีความผันแปรง่ายในสภาพแวดล้อมต่างๆ ดังนั้นจึงไม่สามารถวัดปริมาณสปอร์ของเชื้อสาเหตุได้อย่างแม่นยำ

อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองพบว่าโคโลนิของเชื้อสาเหตุที่เลี้ยงบนอาหาร V-8 juice เจริญเติบโตได้รวดเร็วและสร้างกลุ่มสปอร์ได้มากที่สุด ขณะที่เชื้อสาเหตุที่เลี้ยงบนอาหาร PDA มีการสร้างเส้นใยสีขาวมากที่สุด



ภาพ 3 ผลมะม่วงที่แสดงอาการโรคแอนแทรกโนสในระยะเริ่มต้น (ก) เมื่อป่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ผลมะม่วงจะเน่าทั้งผลและพบกลุ่มสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สีส้มคล้ายเมื่อปรากฏบนผล (ข)



ภาพ 4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA (ก) ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน และลักษณะโครงสร้างของเชื้อรารายได้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า (ข)

ตาราง 2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหารสูตรต่างๆ หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 และ 14 วัน

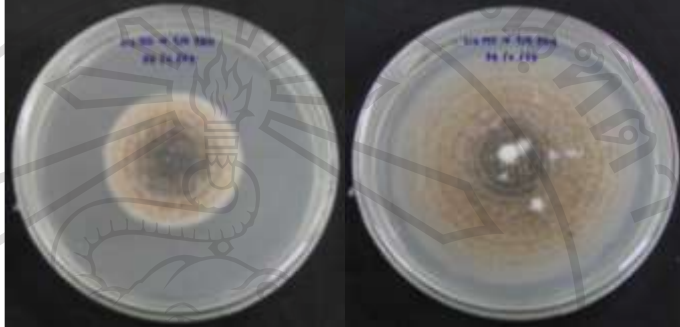
สูตรอาหาร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร)	
	วันที่ 7	วันที่ 14
อาหาร PDA	5.3 ^a	8.8 ^a
อาหาร half-PDA	4.7 ^c	8.3 ^b
อาหาร half-MS	3.0 ^d	6.7 ^c
อาหาร V-8 juice	5.0 ^b	9.0 ^a
CV (%)	4.88	5.20

* ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

อาหาร PDA



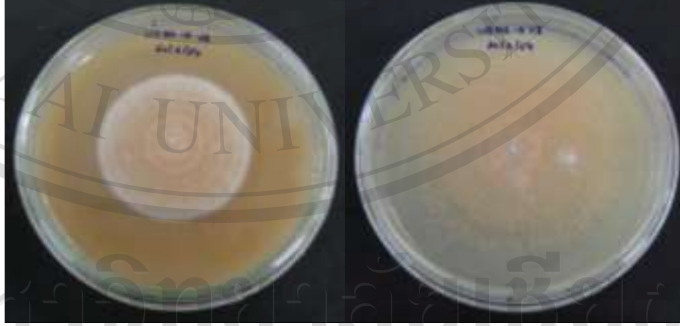
อาหาร half-PDA



อาหาร half-MS



อาหาร V-8 juice



วันที่ 7

วันที่ 14

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved
ภาพ 5 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA, half-PDA, half-MS และ V-8 juice ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 และ 14 วัน

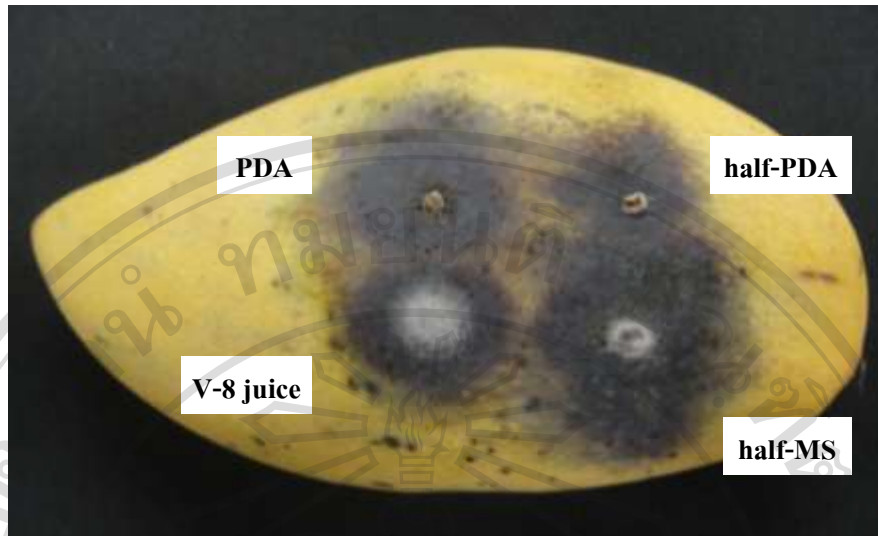
1.3 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุ

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุ โดยการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ลงบนผลมะม่วงที่ทำแผล และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อสาเหตุที่เลี้ยงบนอาหาร half-MS มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วงได้ดีที่สุด โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลได้เท่ากับ 3.6 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบเส้นใยและกลุ่มสปอร์ของเชื้อสาเหตุบนแผลเป็นจำนวนมาก ส่วนเชื้อสาเหตุที่เลี้ยงบนอาหาร PDA, V-8 juice และ half-PDA สามารถทำให้เกิดโรคบนผลมะม่วงได้น้อยกว่า ซึ่งวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลได้เท่ากับ 3.1, 2.9 และ 2.4 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตาราง 3 และภาพ 6)

ตาราง 3 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลของโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วง หลังจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

สูตรอาหาร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร)
อาหาร PDA	3.1 ^{ab}
อาหาร half-PDA	2.4 ^c
อาหาร half-MS	3.6 ^a
อาหาร V-8 juice	2.9 ^{bc}
CV (%)	14.45

* ค่าเฉลี่ยในสมคมักเดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 6 ความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลมะม่วงของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA, half-PDA, half-MS และ V-8 juice ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติของน้ำอิเล็กโทรไลต์

จากการศึกษาคุณสมบัติของน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด (Electrolyzed Oxidizing; EO) ที่ได้จากการผลิตโดยใช้เครื่องผลิตยี่ห้อ SUPER OXSEED LABO และใช้สารละลายเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์) พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 3.56 - 4.04 ซึ่งค่าที่ได้นี้ไม่เสถียร มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบๆ อาจเนื่องมาจากความไม่สม่ำเสมอของอุณหภูมิห้องขณะวัด ซึ่งค่า pH ของน้ำ EO จะมีค่าต่ำมากจนถึงใกล้เป็นกลาง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับเครื่องมือที่ใช้ในการผลิต กำลังกระแสไฟฟ้า ชนิดของเกลือและความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ Muhammad *et al.* (2002) เตรียมน้ำ EO โดยผ่านกระแสไฟฟ้า 8 - 10 แอมแปร์ และ 9 - 10 โวลต์ ในสารละลายเกลือ NaCl พบว่าค่า pH ที่ได้มีค่าระหว่าง 2.6 - 6.8 ต่างจาก Bonde *et al.* (1999) ซึ่งผ่านกระแสไฟฟ้าในสารละลายเกลือ NaCl 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ Len *et al.* (2002) ที่ผ่านกระแสไฟฟ้า 14 แอมแปร์ และ 7.4 โวลต์ ในสารละลายเกลือ NaCl 0.1 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่า pH ระหว่าง 2.5 - 2.6 ขณะที่ Hoon *et al.* (2004) ผ่านกระแสไฟฟ้า 14 แอมแปร์ ในสารละลายเกลือ NaCl 0.1 เปอร์เซ็นต์ ได้ค่า pH 2.6 - 7.0 ส่วน Sumida (1998) รายงานว่า ประเทศญี่ปุ่นมีเครื่องผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์หลายรูปแบบที่วางจำหน่ายในตลาด ที่แนะนำให้ใช้มี 4 ชนิดได้แก่ type I, type II, type 1S, and type 3 ซึ่งวัดค่า pH ได้ 2.3 - 3.5, 2.5 - 3.5, 3.0 - 4.0 และ 5.0 - 6.0 ตามลำดับ

ค่า EC ที่วัดได้จากน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1 - 0.5 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในช่วง 4.34 – 9.56 mS/cm ซึ่งเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นเกลือของน้ำ EO ที่มากขึ้น ส่วนค่า EC ของน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 1.0 – 5.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถวัดได้เนื่องจากประสิทธิภาพของเครื่องมือที่ใช้ไม่สามารถวัดได้ สำหรับค่าคลอรีนอิสระ (free chlorine) มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำ EO เช่นกัน โดยมีค่าระหว่าง 15.7 - 185.0 ppm (ตาราง 4) ซึ่งนับว่าเป็นระดับความเข้มข้นที่เพียงพอที่สามารถยับยั้งการเจริญหรือสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณคลอรีนอิสระที่มีในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้ออื่นๆ ที่มีขายตามท้องตลาด เช่น สารละลาย Clorox ที่มีความเข้มข้นของคลอรีนอิสระเท่ากับ 5.25 - 6.0 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ Bonde *et al.* (1999) วัดค่าคลอรีนอิสระของน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ได้ 11.0 - 16.0 ppm Hoon *et al.* (2004) วัดค่าคลอรีนอิสระของน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านกระแสไฟฟ้า 14 แอมแปร์ ได้ 50.0 ppm และ Len *et al.* (2002) ทำการผ่านกระแสไฟฟ้า 14 แอมแปร์ และ 7.4 โวลต์ ในสารละลายเกลือ NaCl 0.1 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่าคลอรีนอิสระ 53.0 – 56.0 ppm

ตาราง 4 ค่า pH, Electrolyte conductivity (EC) และความเข้มข้นของคลอรีนอิสระ (free chlorine) ของน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ที่เตรียมด้วยสารละลายเกลือ NaCl ความเข้มข้นต่างๆ โดยผ่านกระแสไฟฟ้า 110 โวลต์ เป็นเวลา 15 นาที

น้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ (%)	pH	EC (mS/cm)	free chlorine (ppm)
น้ำกลั่น	7.08	-*	0.0
0.1	3.65	4.34	15.7
0.2	3.59	6.12	19.7
0.3	3.59	7.76	70.6
0.4	3.58	9.06	71.4
0.5	3.56	9.56	83.9
1.0	3.95	-	86.3
2.0	3.99	-	100.0
3.0	4.04	-	157.0
4.0	4.03	-	176.0
5.0	4.00	-	185.0

* - หมายถึง ไม่ได้ทำการวัดค่า EC (ประสิทธิภาพของเครื่องมือที่ใช้ไม่สามารถวัดได้)

การทดลองที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในระดับห้องปฏิบัติการ

3.1 ศึกษาผลของน้ำ EO ต่อการเจริญของโคโลนีเชื้อสาเหตุ

จากการแช่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร ในน้ำ EO ที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ด้วยวิธี spread plate เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ พบว่าหลังบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ในชุดควบคุมเชื้อสาเหตุสามารถเจริญได้ดีเป็นปกติ ขณะที่เชื้อสาเหตุที่ทดสอบกับน้ำ EO ทุกความเข้มข้น และทุกระยะเวลาที่แช่ ไม่สามารถเจริญได้ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 7 และภาพ 8)

Venkitanarayanan *et al.* (1999b) รายงานว่า การเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* และ *Listeria monocytogenes* ลดลงประมาณ 7 log CFU/ml เมื่อแช่ในน้ำ EO เป็นเวลา 5 นาที และพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ (100 เปอร์เซ็นต์) เมื่อแช่เป็นเวลา 10 นาที Hoon *et al.* (2004) รายงานว่า น้ำ EO ที่มีความเข้มข้นของคลอรีนอิสระเท่ากับหรือมากกว่า 1.0 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *L. monocytogenes* ที่ปนเปื้อนบนอาหารได้อย่างสมบูรณ์ Ren and Su (2006) พบว่า ประชากรของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (8.74×10^7 CFU/ml) และ *V. vulnificus* (8.69×10^7 CFU/ml) ลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อแช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 15 วินาที โดยตรวจไม่พบการเจริญของเชื้อทั้งสองเลย กนกทิพย์ (2550) ทดลองใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด (AcEW) 30 ppm ในการทำความสะอาดพื้นผิวสัมผัสอาหารพบว่า AcEW สามารถทำลายเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ที่เกาะติดบนพื้นผิวสัมผัสอาหารได้ทั้งหมดภายใน 5 นาที เมื่อปริมาณตั้งต้นระดับต่ำเท่ากับ 3.3 log CFU/ml และระดับสูงเท่ากับ 6.3 log CFU/ml ชนัญชิตา (2551) พบว่า เมื่อแช่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Penicillium digitatum* ในน้ำ EO ที่ผลิตจากสารละลายเกลืออิมิตัว สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้สมบูรณ์ภายใน 1 นาที โดยมีค่าเท่ากับ 0 CFU/ml ในขณะที่น้ำ EO ที่ผลิตจากสารละลายเกลือ NaCl ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้สมบูรณ์ที่ 8 นาที ส่วนน้ำ EO ที่ผลิตจากสารละลายเกลือ NaCl 25 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้สมบูรณ์ที่เวลา 16 นาที เช่นเดียวกับรายงานของจามรี (2552) ที่รายงานว่า การแช่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร ในน้ำ EO ที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 0.025, 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 10 - 15, 5 - 10 และ 1 - 15 นาที ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ระดับความ

เข้มข้นเกลือ 0.0125 เปอร์เซ็นต์ ที่ทุกระยะเวลาการแช่ เชื้อสาเหตุสามารถเจริญเติบโตได้เป็นปกติ เช่นเดียวกับชุดควบคุมที่แช่ในน้ำกลั่นมาเชื้อ



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 ภาพ 7 ประสิทธิภาพของน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังจากแช่เชื้อเป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Copyright © by Chiang Mai University
 All Rights Reserved

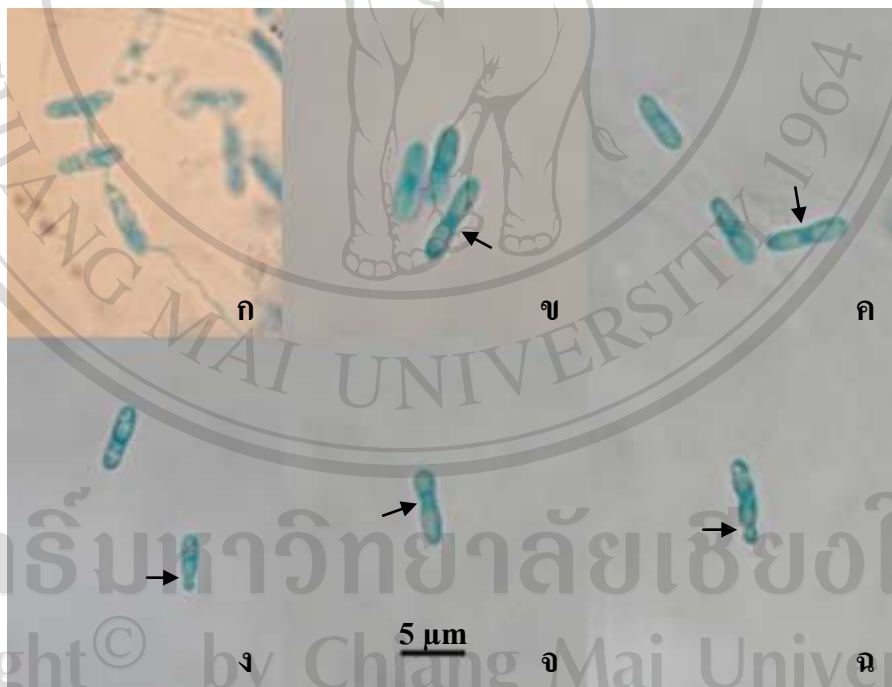


ภาพ 8 ประสิทธิภาพของน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังจากแช่เชื้อเป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชดควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 ศึกษาผลของน้ำ EO ต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการงอกของสปอร์เชื้อสาเหตุ

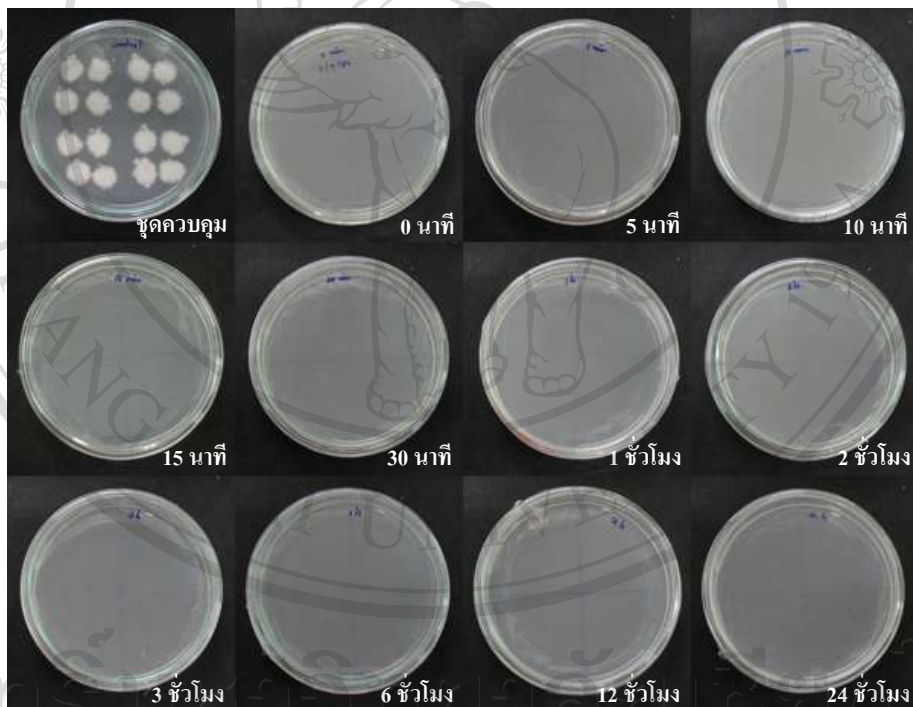
จากการนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แช่ร่วมกับน้ำ EO มาตรวจสอบผลของน้ำ EO ต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเชื้อสาเหตุภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้โครงสร้างของเชื้อสาเหตุเปลี่ยนแปลงไป โดยสปอร์จะมีลักษณะบิดเบี้ยวและฝ่อลีบ นอกจากนี้ยังทำให้สปอร์ของเชื้อสาเหตุส่วนใหญ่ไม่สามารถงอก germ tube และสร้าง appressorium ได้ (ภาพ 9) ส่วนลักษณะรูปร่างของเชื้อสาเหตุที่แช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม แต่ไม่สามารถงอก germ tube และสร้าง appressorium ได้ เช่นเดียวกับ ชันญชิตา (2551) ที่รายงานว่าน้ำ EO ที่ผลิตจากความเข้มข้นของสารละลายเกลืออิ่มตัวโดยผ่านกระแสไฟฟ้าฟ้านาน 60 นาที ทำให้เชื้อรา *P. digitatum* มีลักษณะเส้นใยผิดปกติ หงิกงอและสปอร์มีลักษณะโป่งบวม และจามรี (2552) รายงานว่า สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ผ่านการแช่ร่วมกับน้ำ EO มีลักษณะฝ่อลีบและไม่สามารถงอก germ tube ได้



ภาพ 9 ลักษณะผิดปกติ (ลูกศรชี้) ของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ผ่านการแช่ร่วมกับน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 1.0 (ข), 2.0 (ค), 3.0 (ง), 4.0 (จ) และ 5.0 (ฉ) เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ก) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

3.3 ศึกษาการคงสภาพของน้ำ EO ที่เก็บรักษาในภาชนะปิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ

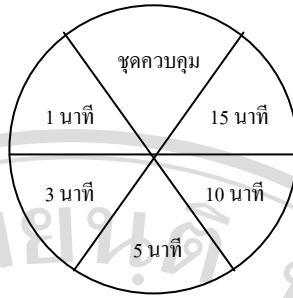
จากการนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ผสมกับน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ผลิตเสร็จทันที (0 นาที) และเก็บรักษาไว้ในภาชนะปิดหลังเตรียมเสร็จเป็นเวลา 5, 10, 15, 30 นาที และ 1, 2, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ด้วยวิธี micro-drop technique บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าในชุดควบคุม เชื้อสาเหตุสามารถเจริญได้เป็นปกติ ขณะที่เชื้อสาเหตุที่ผ่านการแช่รวมกับน้ำ EO ที่ทิ้งไว้ในระยะเวลาต่างๆ ไม่สามารถเจริญได้ (ภาพ 10) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 10 ประสิทธิภาพของน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ผลิตเสร็จทันที (0 นาที) และเก็บรักษาในภาชนะปิดหลังเตรียมเสร็จที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

นอกจากนี้เมื่อยี่ระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำ EO ในภาชนะปิดให้นานขึ้น โดยทดลอง แช่สปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที โดยใช้น้ำ EO ที่ผลิตแล้วทันทีในวันแรก และทิ้งไว้นาน 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน ตามลำดับ พบว่าเชื้อสาเหตุในชุดควบคุม (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) สามารถเจริญได้ตามปกติ ขณะที่เชื้อสาเหตุที่แช่ในน้ำ EO ทุกความเข้มข้นและทุกระยะเวลาในการแช่เชื้อ ยังคงให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อดีมากกว่าเช่นเดิม คือมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 11) ทั้งนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของคลอรีนอิสระในน้ำ EO ทุกความเข้มข้นว่ายังมีปริมาณความเข้มข้นเพียงพอต่อการฆ่าเชื้อสาเหตุได้ดี

ทั้งนี้เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เกิดจากประสิทธิภาพของน้ำ EO จริง จึงได้ทำการทดลองเปรียบเทียบโดยแช่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในน้ำ deionized (DI) เป็นเวลา 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที พบว่าเชื้อสาเหตุสามารถเจริญเติบโตได้ปกติเช่นเดียวกับเชื้อสาเหตุที่แช่ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ส่วนเชื้อสาเหตุที่แช่ในน้ำ deionized ที่ผ่านกระแสไฟฟ้า 110 โวลต์ 15 นาที (DI+Activated) เป็นเวลา 1, 3 และ 5 นาที สามารถเจริญได้ปกติ แต่เชื้อสาเหตุที่แช่ในน้ำ DI+Activated เป็นเวลา 10 และ 15 นาที มีอัตราการเจริญของเชื้อลดลง ขณะที่เชื้อสาเหตุที่แช่ในสารละลายเกลือ NaCl ในน้ำ DI ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อแช่เป็นเวลานานขึ้น เชื้อสาเหตุจะมีอัตราการเจริญลดลงตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 5 และภาพ 12) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อทิ้งสารละลายเกลือ NaCl ทุกความเข้มข้นไว้นานมากกว่า 3 วันขึ้นไป แล้วนำมาทดสอบ จะเกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียขึ้น แสดงให้เห็นว่าสารละลายเกลือ NaCl จะเสื่อมประสิทธิภาพเร็วกว่าน้ำ EO จนไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุและเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาได้ จามรี (2552) รายงานว่าการแช่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในสารละลายเกลือ NaCl และกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0.0125, 0.025, 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1, 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ สามารถลดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 11 ประสิทธิภาพของน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่เก็บรักษาในภาชนะปิดเป็นเวลา 1 - 7 วัน หลังเตรียม ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยแช่เชื้อสาเหตุเป็นเวลา 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ตาราง 5 อัตราการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังแช่ร่วมกับน้ำ deionized (DI), น้ำ deionized ที่ผ่านกระแสไฟฟ้า 110 โวลต์ 15 นาที (DI+Activated) และสารละลายเกลือ NaCl ในน้ำ DI ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ

กรรมวิธี	อัตราการเจริญของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>					
	control	1 นาที	3 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
เชื้อสาเหตุที่แช่ในน้ำ DI	++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
เชื้อสาเหตุที่แช่ในน้ำ DI+Activated	++++	++++	++++	++++	+++	+++
เชื้อสาเหตุที่แช่ในสารละลายเกลือ 0.1%	++++	+++	+++	+++	+++	+++
เชื้อสาเหตุที่แช่ในสารละลายเกลือ 0.2%	++++	++	++	++	++	++
เชื้อสาเหตุที่แช่ในสารละลายเกลือ 0.3%	++++	++	++	+++	+++	+++
เชื้อสาเหตุที่แช่ในสารละลายเกลือ 0.4%	++++	+++	+++	+++	+++	+++
เชื้อสาเหตุที่แช่ในสารละลายเกลือ 0.5%	++++	++	++	++	+	+

หมายเหตุ

+++++ เชื้อเจริญเติบโตได้มากที่สุด

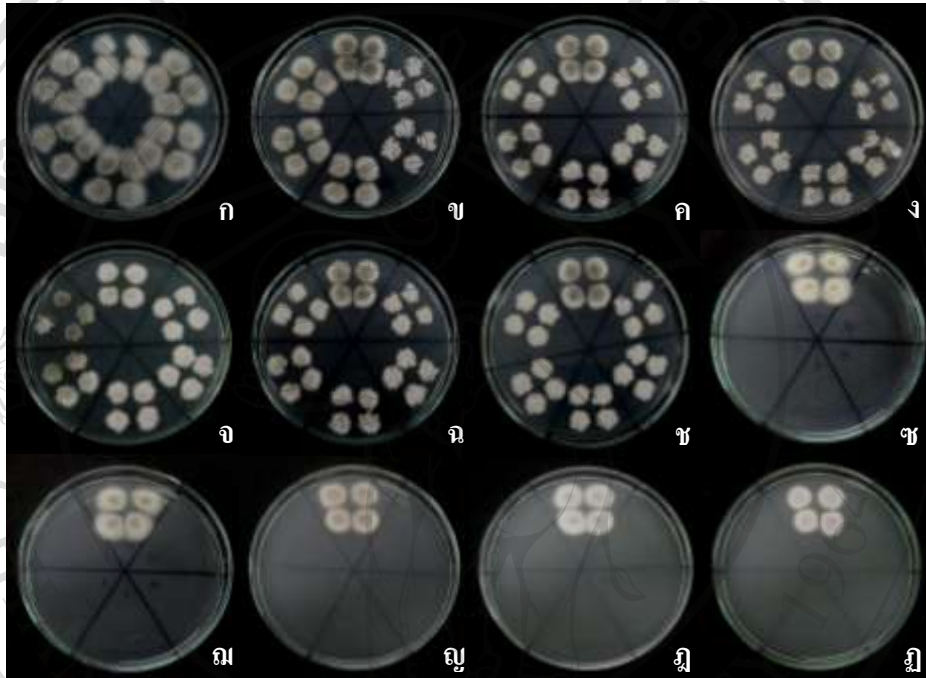
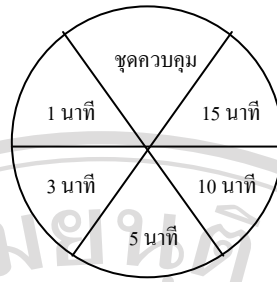
++++ เชื้อเจริญเติบโตได้มาก

+++ เชื้อเจริญเติบโตได้ปานกลาง

++ เชื้อเจริญเติบโตได้น้อย

+ เชื้อเจริญเติบโตได้น้อยที่สุด

- เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตได้



ภาพ 12 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แช่ในน้ำ deionized (ก), น้ำ deionized ที่ผ่านกระแสด้วยไฟฟ้า 110 โวลต์ 15 นาที (ข), สารละลายเกลือ NaCl 0.1 – 0.5 เปอร์เซ็นต์ (ค – ช) และน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) 0.1 – 0.5 เปอร์เซ็นต์ (ซ – ณ) เป็นเวลา 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

จากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น จะเห็นได้ว่าน้ำ EO ทุกระดับความเข้มข้นและทุกระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำในสภาพอุณหภูมิห้องมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคน้ำแตรกโนสได้ดีมาก เนื่องจากการผลิตน้ำ EO โดยผ่านไฟฟ้ากระแสตรงลงไป สารละลายเกลือเจือจางจะทำให้เกิดคลอรีนไดออกไซด์ซึ่งจะไปรวมกับโมเลกุลของน้ำกลายเป็น chlorine oxidants (Cl_2 , HOCl/ClO^-) (Guentzel *et al.*, 2008) และจากการวัดค่า pH ของน้ำ EO ที่ได้ จากส่วนของขั้วบวกที่มีสภาพเป็นกรด ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไฮโปคลอรัส (hypochlorous acid, HClO) (Kim *et al.*, 2000b; Guentzel *et al.*, 2008) ซึ่งเป็นกรดอ่อน ไม่เสถียร มีคุณสมบัติเป็น

strong oxidant สามารถแตกตัวหรือเกิดปฏิกิริยาให้คลอรีนอิสระ (free chlorine) ที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ดีมาก ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบผลของน้ำ EO ทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองที่ 3.2 ต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการงอกของสปอร์ของเชื้อสาเหตุที่พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อสาเหตุได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่น้ำ DI ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ แม้จะนำไปกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า (DI+Activated) พบเพียงการลดลงของเชื้อได้บ้าง แต่ต้องใช้ระยะเวลาในการแช่จนถึง 10 - 15 นาที เช่นเดียวกับผลการทดลองที่ใช้สารละลายเกลือ NaCl ในน้ำ DI ในทุกความเข้มข้นที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้

3.4 ศึกษาการคงสภาพของน้ำ EO ที่เก็บรักษาในภาชนะเปิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ

จากการแช่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่เปิดฝาภาชนะทิ้งไว้เป็นเวลา 5, 10, 15 และ 30 นาที ตามลำดับ โดยแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ด้วยวิธี micro-drop technique บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นมาเชื้อ พบว่าในทุกระยะเวลาของการเปิดฝาภาชนะบรรจุน้ำ EO ทิ้งไว้ น้ำ EO ยังคงคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ดีมาก คือมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 13) ซึ่งสอดคล้องกับค่าคลอรีนอิสระของน้ำ EO ดังกล่าวที่ลดลงไม่มากนักในช่วง 17.4 - 12.9 ppm (ตาราง 6) แสดงให้เห็นถึงปริมาณความเข้มข้นของคลอรีนอิสระที่เพียงพอต่อการฆ่าเชื้อสาเหตุของโรคได้ แม้จะเก็บน้ำ EO นั้นไว้ในภาชนะเปิดนานถึง 30 นาที Len *et al.* (2002) รายงานว่าการเก็บรักษาน้ำ EO ไว้ในภาชนะเปิดและมีการปั่นเหวี่ยง จะสูญเสียระดับคลอรีนที่มีอยู่ในน้ำจนหมดภายใน 30 ชั่วโมง และระดับคลอรีนจะหมดไปภายใน 100 ชั่วโมง หากอยู่ในสภาพปกติ ส่วนการเก็บไว้ภายใต้แสงไฟตลอด 24 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อการลดลงของระดับคลอรีน

สำหรับการเจริญของเชื้อสาเหตุหลังแช่สปอร์ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่บรรจุในภาชนะเปิดฝาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0 - 30 นาที ไม่มีการเจริญของเชื้อหลังเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 3 วัน



ภาพ 13 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังแช่สปอร์ในน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่บรรจุในภาชนะเปิดในระยะเวลาต่างๆ หลังบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

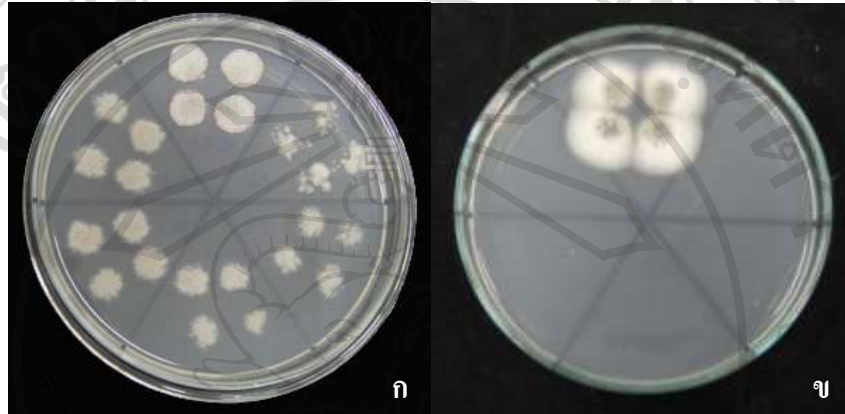
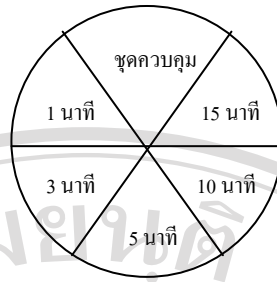
ตาราง 6 ค่าความเข้มข้นของคลอรีนอิสระของน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่บรรจุในภาชนะเปิดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลาที่เปิดฝาภาชนะทิ้งไว้ (นาที)	pH	free chlorine (ppm)
0	3.71	17.4
5	3.72	16.6
10	3.74	15.3
15	3.74	14.1
30	3.73	12.9

3.5 ศึกษาผลของน้ำ EO เจือจางต่อการเจริญของเชื้อสาเหตุ

จากการแช่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจาง 2 เท่า ด้วยน้ำ deionized (DI) แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ด้วยวิธี micro-drop technique บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าชุดควบคุมเชื้อสาเหตุสามารถเจริญได้ตามปกติ ในขณะที่การแช่เชื้อสาเหตุในน้ำ EO เจือจาง เชื้อสาเหตุมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงตามระยะเวลาที่แช่นานขึ้นตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 14)

อย่างไรก็ตาม เมื่อนำน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ มาเจือจาง 2 เท่า พบว่าทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุลดลง เมื่อเทียบกับประสิทธิภาพของน้ำ EO ความเข้มข้นเดียวกันที่ไม่ได้เจือจางในการทดลองที่ 3.3 แสดงให้เห็นว่าการเจือจางความเข้มข้นของน้ำ EO ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุลดลงตั้งแต่วันที่ทำการทดสอบ ต่างจากการเก็บรักษาน้ำ EO ในภาชนะปิดที่แม้จะยืดระยะเวลาการเก็บรักษาไปถึง 7 วัน ก็ยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจอธิบายได้ว่าการเก็บรักษาน้ำในภาชนะปิดไม่ทำให้เกิดการสูญเสียคลอรีนอิสระจากปฏิกิริยาของกรดไฮโปคลอรัส ในน้ำ EO ซึ่งสอดคล้องกับผลการวัดระดับค่า pH ของน้ำ EO ในการทดลองที่ 2 ที่พบว่าค่า pH ของน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าระหว่าง 3.62 - 3.74 เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 1 - 7 วัน เช่นเดียวกับน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือระดับอื่นๆ ที่มีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในช่วงแคบๆ เช่นเดียวกัน



ภาพ 14 ประสิทธิภาพของน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (ก) และน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจาง 2 เท่า คำนวณด้วยน้ำ deionized (ข) ต่อการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังแช่เชื้อสาเหตุเป็นเวลา 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

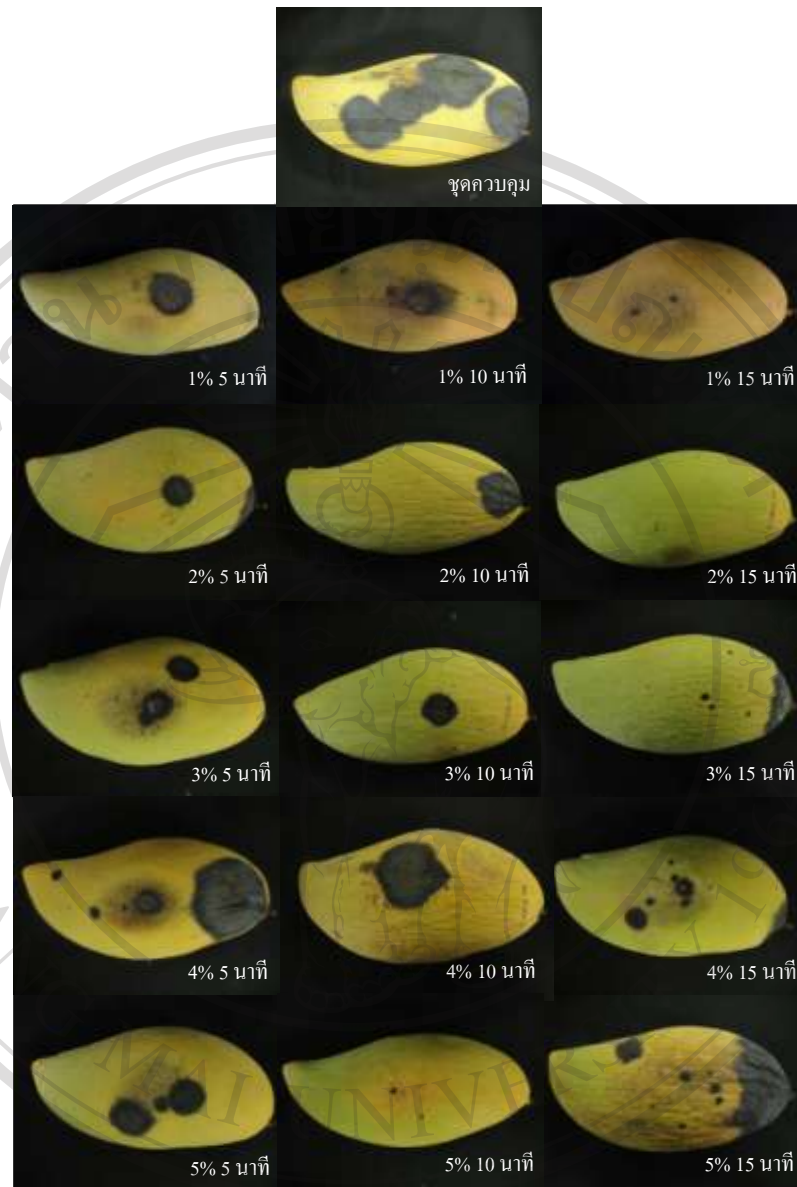
การทดลองที่ 4 ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ในการลดโรคแอนแทรกโสนบนผลมะม่วง

4.1 ปลุกเชื้อสาเหตุบนผลมะม่วงก่อนแช่ล้างผลในน้ำ EO

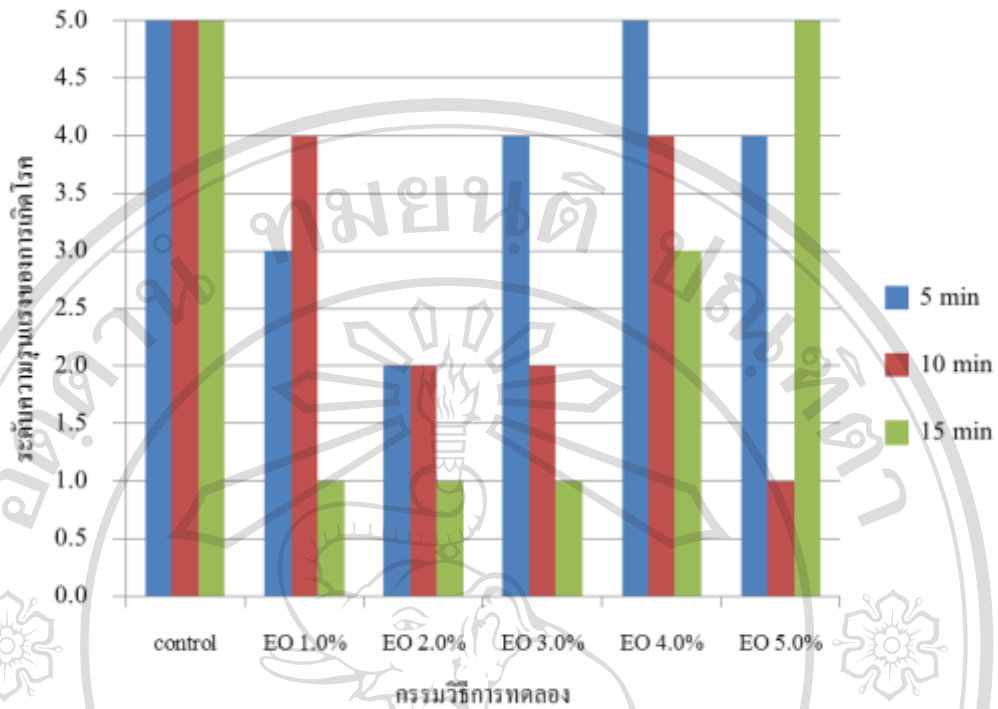
จากการทดลองปลุกเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง แล้วนำผลมะม่วงไปแช่ล้างทำความสะอาดในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่าผลมะม่วงในชุดควบคุมมีอัตราการเกิดโรคมามากที่สุด (ระดับ 5) ผลมะม่วงที่ผ่านการแช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 1.0 - 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที มีอัตราการเกิดโรคอยู่ในระดับ 2 - 5 ซึ่งมีผลต่อการซื้อขายจนถึงไม่สามารถขายได้ ส่วนผลมะม่วงที่ผ่านการแช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 1.0 - 4.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที มีอัตราการเกิดโรคอยู่ในระดับ 2 - 4 มีผลต่อการซื้อขาย แต่ที่ความเข้มข้นเกลือ 5.0 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในเกณฑ์ 1 ซึ่งไม่มีผลต่อการซื้อขาย และพบว่า การแช่ผลมะม่วงในน้ำ EO เป็นเวลา 10 นาที มีผลทำให้ผลมะม่วงเหี่ยวเร็ว สังเกตเห็นเลนติเซลล์สีน้ำตาลได้ชัดเจน ส่วนผลมะม่วงที่ผ่านการแช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 1.0 - 3.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที มีอัตราการเกิดโรคอยู่ในระดับ 1 ไม่มีผลต่อการซื้อขาย และที่ความเข้มข้นเกลือ 4.0 - 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเกิดโรคอยู่ในระดับ 3 - 5 (ภาพ 15 และภาพ 16) ซึ่งมีผลต่อการซื้อขายและไม่สามารถขายได้ นอกจากนี้ยังทำให้ผลมะม่วงเหี่ยวเร็ว และเห็นเลนติเซลล์สีน้ำตาลชัดเจน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระยะเวลาการแช่ในน้ำ EO ที่นานเกินไปและการเก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งอุณหภูมิระหว่างการทดลองค่อนข้างสูง (30.0 - 33.0 องศาเซลเซียส)

เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานานขึ้น โดยผลมะม่วงที่แช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 3.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที มีค่าการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุดคือ 21.3 เปอร์เซ็นต์ และผลมะม่วงที่แช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 3.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที มีค่าการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุดคือ 13.9 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 17) อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองอาจมีความแปรปรวนได้ เนื่องจากผลมะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีระยะความสุกแก่และน้ำหนักเริ่มต้นไม่เท่ากัน

Muhammad *et al.* (2002) ทดลองทำผลบนผลแพร์สายพันธุ์ La-France และปลุกเชื้อ *Botryosphaeria berengeriana* ความเข้มข้น 5×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร บ่มไว้เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ในน้ำ EO เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พบว่าผลแพร์ที่แช่ในน้ำ EO I (pH 2.6 และความเข้มข้นคลอรีนอิสระ 150 mg/l) เป็นเวลา 10 นาที มีอัตราการเกิดโรคน้อยที่สุด (45 เปอร์เซ็นต์) ส่วนผลแพร์ที่แช่ในน้ำ EO II (pH 5.7 และความเข้มข้นคลอรีนอิสระ 200 mg/l) มีอัตราการเกิดโรค 60, 55, 62 และ 57 เปอร์เซ็นต์ เมื่อแช่เป็นเวลา 5, 10, 15 และ 20 นาที

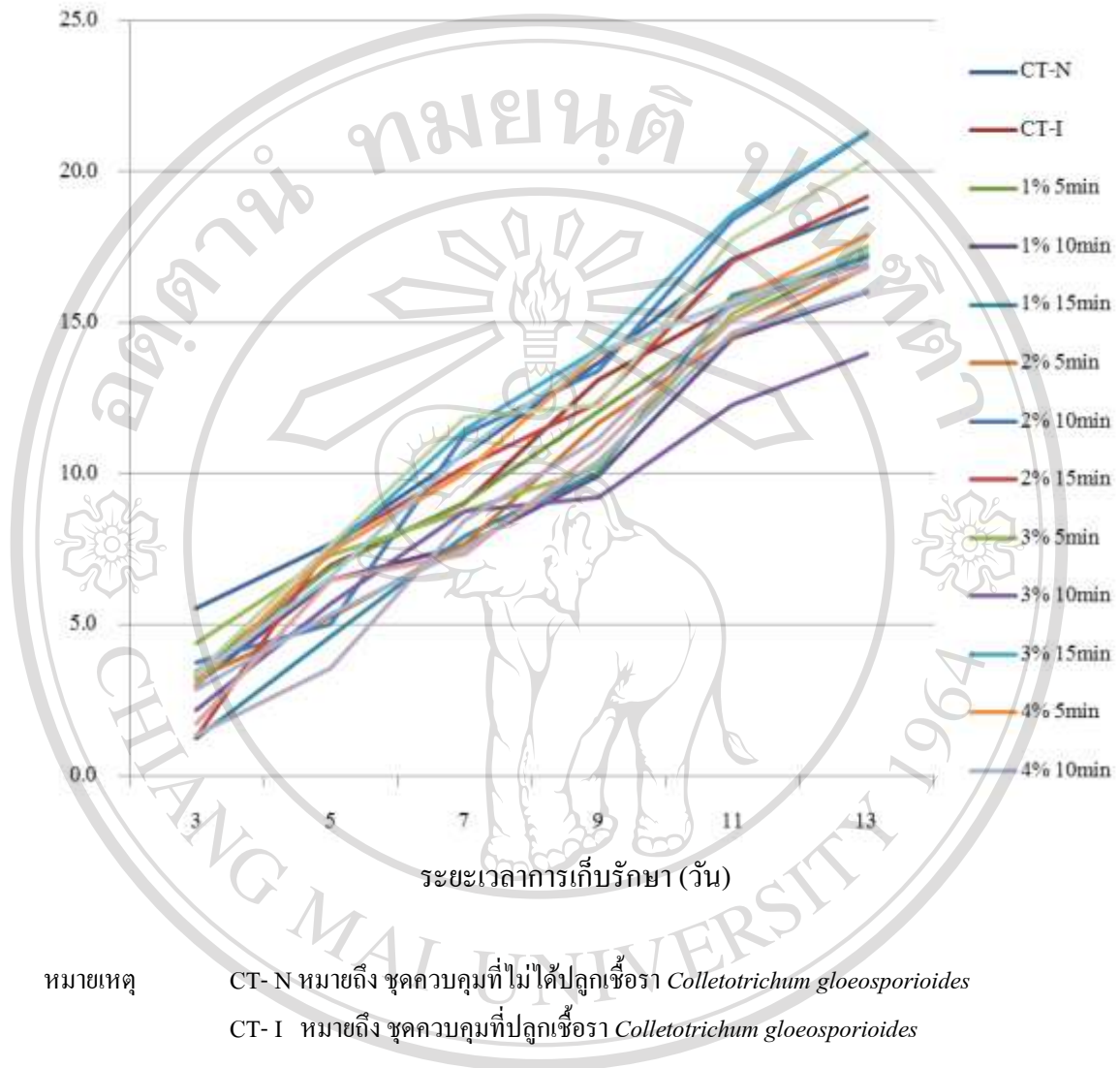


ภาพ 15 อัตราการเกิดโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วงที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยวิธีพ่นบนผลและบ่มเชื้อเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนนำมาแช่ในน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ล้างด้วยน้ำประปา



ภาพ 16 ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคบนผลมะม่วงที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์แวนดอยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยวิธีพ่นบนผลและบ่มเชื้อเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนนำมาแช่ในน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ล้างด้วยน้ำประปา

การสูญเสียน้ำหนัก (%)



ภาพ 17 เปรอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยวิธีพ่นบนผลและบ่มเชื้อเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนนำมาแช่ในน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปรอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ล้างด้วยน้ำประปา

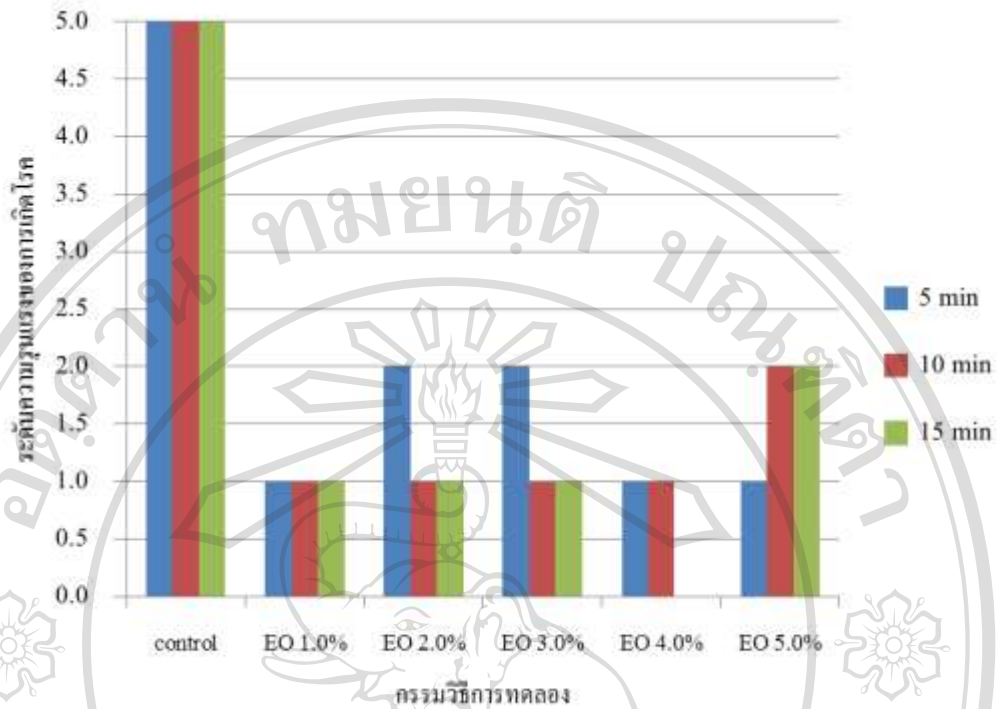
ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการแช่ผลแพร์ในน้ำ EO เป็นเวลา 10 นาที สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ดีที่สุดและได้สรุปว่าน้ำ EO มีประสิทธิภาพที่ดีในการลดการเกิดโรค Bot. rot ได้ แต่ไม่สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้ อธิพร (2550) รายงานว่าการปลูกเชื้อรา *P. digitatum* บนผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง แล้วนำไปแช่น้ำ EO เป็นเวลา 4 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จะมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลส้มเช่น เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และสีเปลือก ชาญชิตา (2551) ทดลองแช่ผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งที่ปลูกเชื้อรา *P. digitatum* แล้วนำไปแช่น้ำ EO เป็นเวลา 4, 8 และ 16 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส พบว่าการแช่ผลส้มในน้ำ EO เป็นเวลา 8 นาที จะมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาแช่ผลส้มในน้ำ EO เป็นเวลา 4, 8 และ 16 นาที จากนั้นรมด้วยไอโซนทุกๆ 2 ชั่วโมงต่อวัน แบบต่อเนื่อง ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่าการแช่ผลส้มด้วยน้ำ EO เป็นเวลา 8 และ 16 นาที ร่วมกับการรมด้วยไอโซนแบบต่อเนื่องระหว่างการเก็บรักษาสามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดี โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลส้ม

4.2 แช่สปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุในน้ำ EO ก่อนฉีดพ่นบนผลมะม่วง

จากการทดลองแช่สปอร์แขวนลอยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ จากนั้นนำไปพ่นบนผลมะม่วงและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่าผลมะม่วงที่พ่นด้วยสปอร์แขวนลอยแช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ทุกระยะเวลา มีอัตราการเกิดโรคอยู่ในระดับ 1 ซึ่งไม่มีผลต่อการซื้อขาย ผลมะม่วงที่พ่นด้วยสปอร์แขวนลอยแช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 2.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที มีอัตราการเกิดโรคอยู่ในระดับ 2 ส่วนที่ 10 และ 15 นาที มีอัตราการเกิดโรคอยู่ในระดับ 1 ผลมะม่วงที่พ่นด้วยสปอร์แขวนลอยแช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 4.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 และ 10 นาที มีอัตราการเกิดโรคอยู่ในระดับ 1 ส่วนที่ 15 นาที ไม่เกิดโรค ผลมะม่วงที่พ่นด้วยสปอร์แขวนลอยแช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที มีอัตราการเกิดโรคอยู่ในระดับ 1 ส่วนที่ 10 และ 15 นาที อัตราการเกิดโรคอยู่ในระดับ 2 นอกจากนี้ยังพบว่าผลมะม่วงที่ใช้ทดลองในทุกกรรมวิธีมีอาการเหี่ยวและสังเกตเห็นเลนติเซลได้เล็กน้อย (ภาพ 18 และภาพ 19) อาจเนื่องมาจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งอุณหภูมิระหว่างการทดลองค่อนข้างสูง (30.0 - 33.0 องศาเซลเซียส)



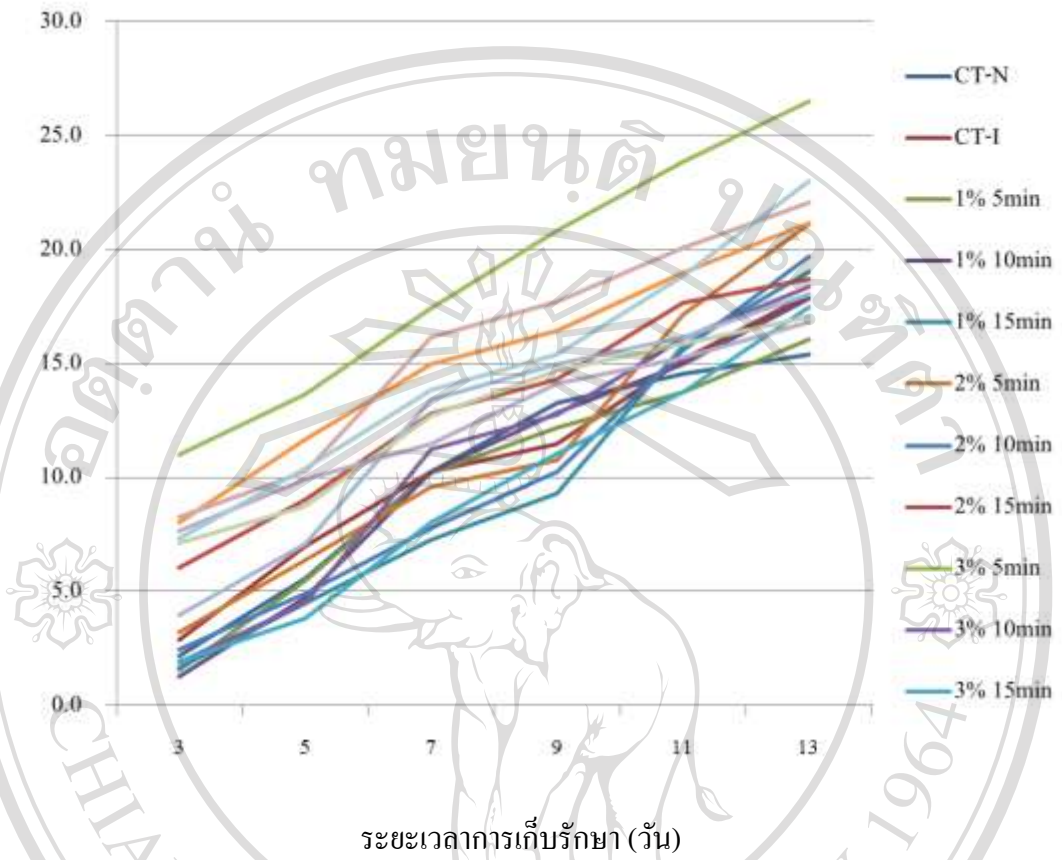
ภาพ 18 อัตราการเกิดโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วงที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์แวนลอยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แช่ในน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์แวนลอยที่แช่ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ



ภาพ 19 ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วงที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* แฉในน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอยที่แช่น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ

สำหรับเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วง พบว่าเมื่อเก็บรักษาผลมะม่วงไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานานขึ้น เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงก็จะมากขึ้นเช่นกัน โดยผลมะม่วงที่พ่นด้วยสปอร์แขวนลอยแช่น้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 3.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที มีค่าการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุดคือ 26.5 เปอร์เซ็นต์ และผลมะม่วงที่พ่นด้วยสปอร์แขวนลอยแช่น้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 1.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที มีค่าการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุดคือ 16.1 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 20)

การสูญเสียน้ำหนัก (%)



หมายเหตุ CT-N หมายถึง ชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*
 CT-I หมายถึง ชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

ภาพ 20 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงที่ผ่านการพ่นด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แช่ในน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

จากผลการทดลองในการทดลองที่ 4.1 และ 4.2 นี้ แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของประสิทธิภาพของการใช้น้ำ EO ที่ความเข้มข้นเกลือระดับต่างๆ ต่อการลดการเกิดโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วงที่ทำการปลูกเชื้อสาเหตุ โดยพบว่าทั้งการล้างผลมะม่วงหลังการปลูกเชื้อและการปลูกเชื้อด้วยสปอร์แขวนลอยที่ผ่านการแช่ในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือระดับต่างๆ สามารถลดการเกิดโรคบนผลมะม่วงได้แตกต่างจากชุดควบคุม โดยเฉพาะในการทดลอง 4.2 ที่พบการเกิดโรคลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองที่ 4.1 ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองที่ 4.1 นั้น มีการปลูกเชื้อเพื่อให้เชื้อสาเหตุเจริญเข้าทำลายผลมะม่วงโดยบ่มเชื้อไว้นานถึง 12 ชั่วโมง เมื่อนำผลมะม่วงมาล้างด้วยน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 1.0 - 5.0 เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพของน้ำ EO ดังกล่าวอาจสามารถแทรกซึมผ่านผิวของผลมะม่วงเข้าไปทำลายเชื้อสาเหตุที่เจริญอยู่ภายใต้ผิวได้ไม่ทั่วถึง ต่างจากการใช้น้ำ EO ทำลายเชื้อสาเหตุที่อยู่ภายนอกซึ่งจะมีประสิทธิภาพมากกว่า แต่เมื่อพิจารณาระดับของการลดลงของแผลโรคบนผลมะม่วงเปรียบเทียบกับระดับความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ในการเตรียมน้ำ EO และระยะเวลาที่ใช้ในการแช่ที่พบว่ามีความเข้มข้นสูงและไม่สม่ำเสมอ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อสาเหตุของโรคเป็นเชื้อที่มีลักษณะการเข้าทำลายและความสัมพันธ์กับพืชอาศัยค่อนข้างซับซ้อน โดยเชื้อจะแฝงเข้าทำลายผลมะม่วงตั้งแต่ระยะดอก จนถึงระยะผลดิบ ซึ่ง Jitareerat *et al.* (2006) ได้รายงานการใช้เทคนิค PCR ตรวจพบเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในผลดิบของมะม่วง อย่างไรก็ดี ยังไม่มีรายงานที่อธิบายได้อย่างชัดเจนถึงกลไกในการแฝงตัวของเชื้อและการก่อให้เกิดโรคในระยะผลสุก สำหรับการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือและระยะเวลาการล้างผลจะส่งผลต่อขนาดของเลนติเซล และการสูญเสียน้ำของผลมะม่วง

4.3 ปลูกเชื้อสาเหตุบนผลมะม่วงก่อนฉีดพ่นด้วยน้ำ EO

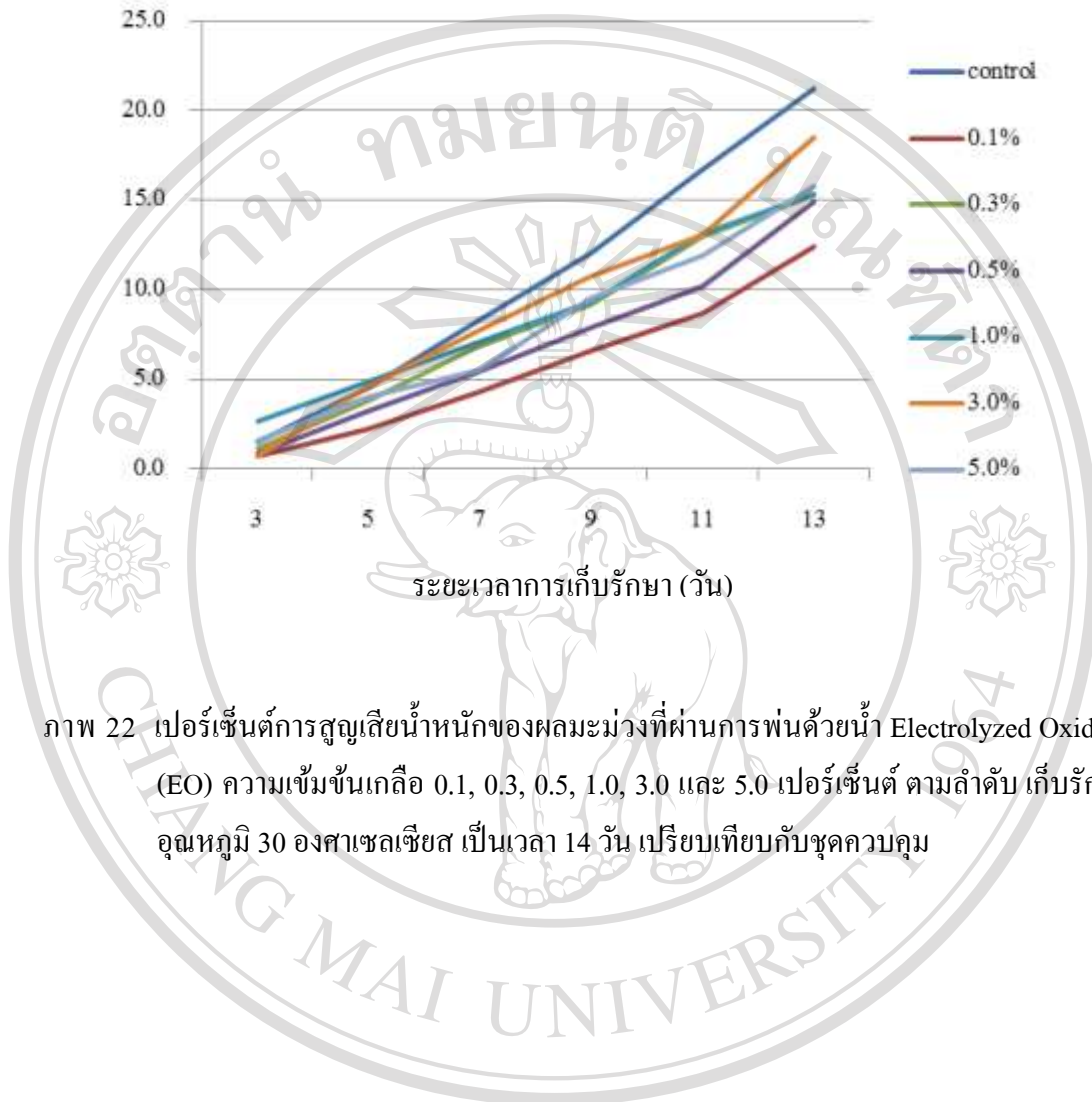
เนื่องจากการทดลองแช่ผลมะม่วงในน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือหลายระดับ ส่งผลต่อคุณภาพของผิวมะม่วง โดยทำให้เกิดอาการเหี่ยวและเลนติเซลเปลี่ยนเป็นสีคล้ำ ซึ่งอาจจะเป็นผลจากวิธีการทดลองใช้การแช่ผลในน้ำ EO ในช่วง 10 - 15 นาที ดังนั้นจึงได้ทดลองปรับการแช่ผลเป็นการพ่นด้วยน้ำ EO แทน และจากการทดลองปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง แล้วพ่นด้วยน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ลงบนผลมะม่วง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่าการพ่นน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.3, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วงได้ดีที่สุด โดยมีเกณฑ์การเกิดโรคอยู่ในระดับ 1 ซึ่งไม่มีผลต่อการซื้อขาย ส่วนการพ่นน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีเกณฑ์การเกิดโรคอยู่ในระดับ 2 ซึ่งเริ่มมีผลต่อการซื้อขาย (ภาพ 21)



ภาพ 21 อัตราการเกิดโรคบนผลมะม่วงที่ผ่านการพ่นด้วยน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการพ่นด้วยน้ำ EO บนผลมะม่วง สามารถแก้ไขปัญหาลักษณะการเหี่ยวและการเกิดเลนติเซลล์สีดำได้ และเมื่อตรวจวัดการสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วง พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงแปรผันโดยตรงกับระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยผลมะม่วงในกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 3.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุดคือ 18.5 เปอร์เซ็นต์ และผลมะม่วงที่พ่นด้วยน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุดคือ 12.4 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 22) Tsunco *et al.* (2006) ทดลองใช้น้ำ EO พ่นบนใบเมลอน พบว่าน้ำ EO สามารถฆ่าเชื้อราแป้งที่อยู่บนใบเมลอนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลกระทบต่อการใช้ปุ๋ยและคุณภาพของผล

การสูญเสียน้ำหนัก (%)

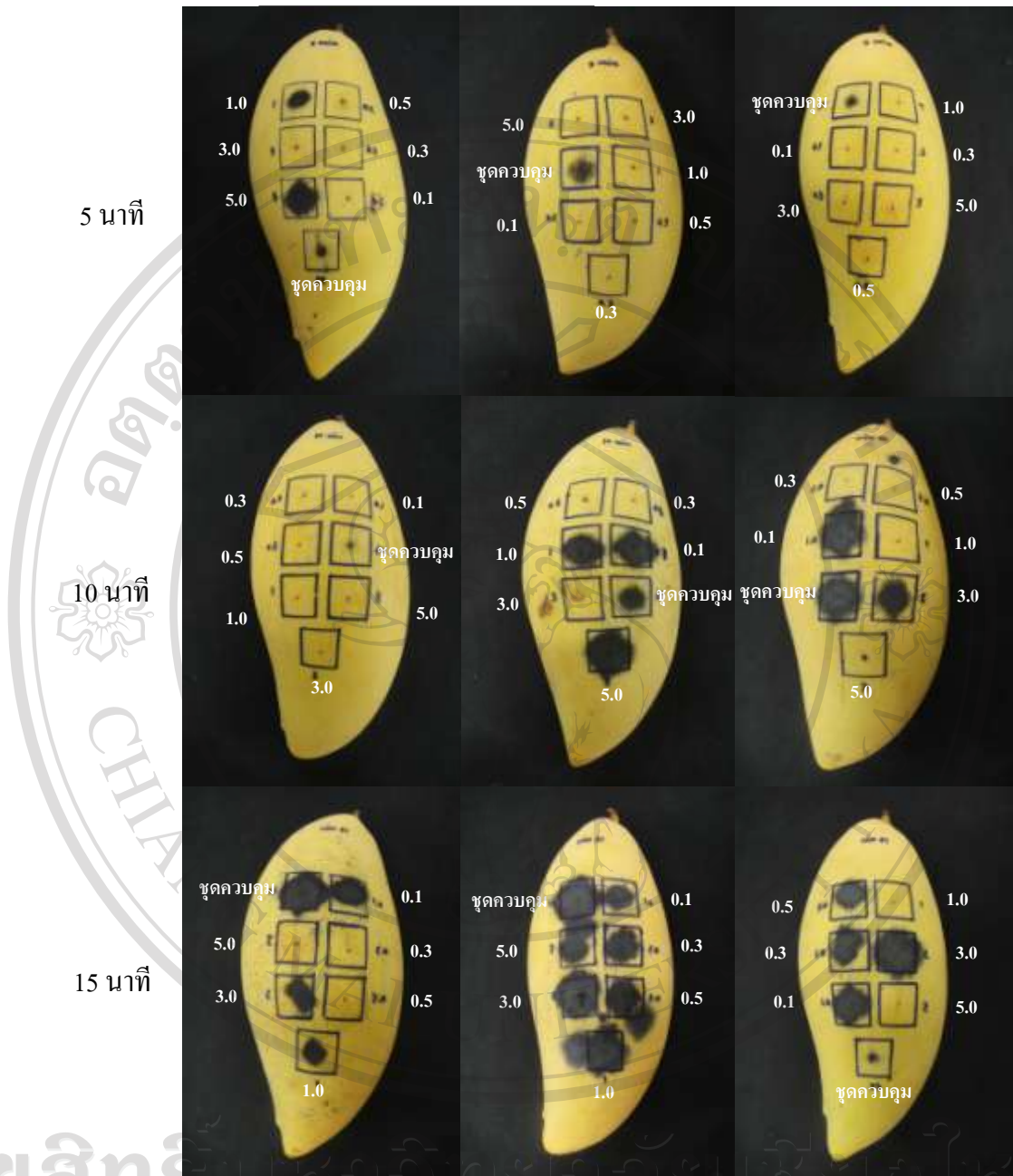


ภาพ 22 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงที่ผ่านการพ่นด้วยน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

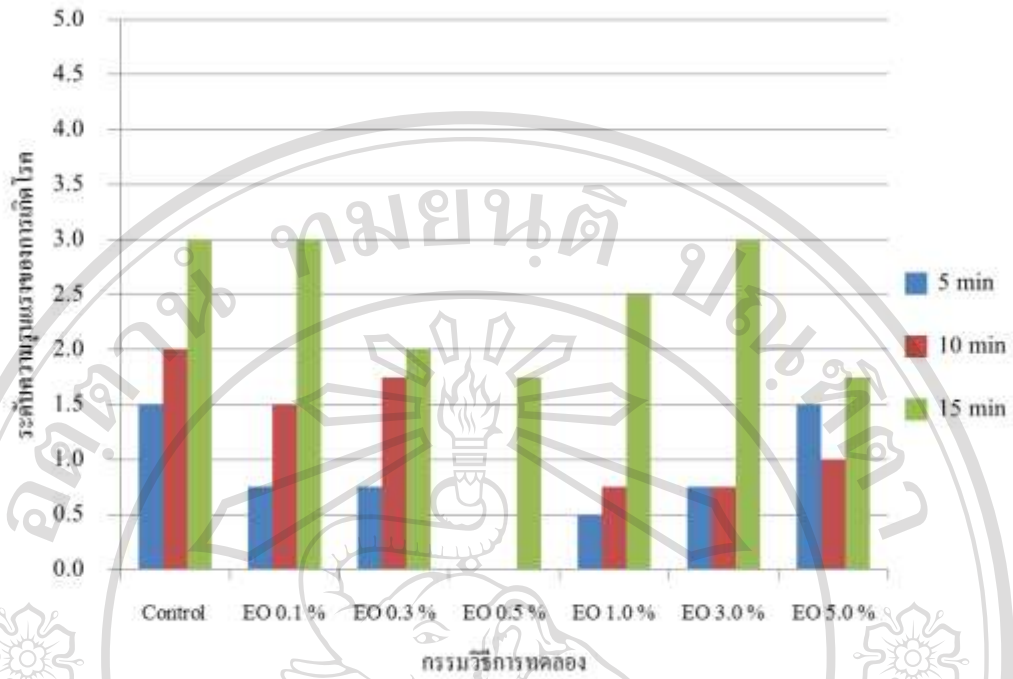
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

4.4 ปลุกเชื้อสาเหตุบนผลมะม่วงและทำการทดสอบกับน้ำ EO ด้วยวิธีไมโครเทคนิค

จากการทดลองทำแผลปลุกเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง และทำการทดสอบกับน้ำ EO ด้วยวิธีไมโครเทคนิค พบว่าการวางแผนสำลิจับน้ำ EO ทุกความเข้มข้นเกลือบนผลมะม่วงที่ปลุกเชื้อ เป็นเวลา 5 นาที มีแนวโน้มในการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนสได้ดีกว่าที่เวลา 10 และ 15 นาที โดยน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลดีกว่าที่ความเข้มข้นเกลือ 1.0, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากไม่เกิดโรค รองลงมาได้แก่ การวางแผนสำลิจับน้ำ EO เป็นเวลา 10 นาที โดยความเข้มข้นเกลือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลดีที่สุด (ไม่เกิดโรค) ส่วนการวางแผนสำลิจับน้ำ EO ทุกความเข้มข้น เป็นเวลา 15 นาที พบการเกิดโรคสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ (ภาพ 23 และภาพ 24) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า การวางแผนสำลิจับน้ำ EO ที่ความเข้มข้นสูงเป็นเวลานาน มีผลทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนสได้มากขึ้น ทั้งนี้อาจเกิดจากสภาพความเป็นกรดของน้ำ EO ที่ความเข้มข้นเกลือสูงๆ ทำให้ผิวมะม่วงนุ่มและอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อได้มากขึ้น สอดคล้องกับการทดลองที่ 4.3 ที่พบว่าการพ่นน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนผลมะม่วง ส่งผลให้เกิดโรคแอนแทรกโนสมากกว่าผลที่พ่นด้วยน้ำ EO ความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.3, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 23 ลักษณะแผลโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงที่ปลูกเชื้อ โดยวิธีทำแผลและวางทับด้วยลำติ
 ชุบน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0
 เเปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
 เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ)



ภาพ 24 ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคบนผลมะม่วงที่ทดสอบโดยวิธีไมโครเทคนิคด้วยน้ำ Electrolyzed Oxidizing (EO) ความเข้มข้นเกลือ 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved