ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของโอโซนต่อการควบคุมการเน่าที่เกิดจาก *Penicillium digitatum* หลังการเก็บเกี่ยวและการตอบสนองทางชีวเคมีบางประการในผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง

ผู้เขียน นางสาวพรอนันต์ บุญก่อน

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. กานดา หวังชัย	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ผศ. ดร. จำนงค์ อุทัยบุตร	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
อ. ดร. สุทธิวัลย์ สีทา	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของโอโซนต่อการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Penicillium digitatum* ภายหลังการเก็บเกี่ยวและการตอบสนองทางชีวเคมีในผลส้ม โดยแบ่งผลส้มออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มแรกไม่มีการปลูกเชื้อ กลุ่มที่สองมีการปลูกด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. digitatum* ($1x10^6$ spores mL^{-1}) จากนั้นนำไปรมด้วยก๊าซโอโซนความเข้มข้น 200 ppm เป็นเวลา 0, 1/2, 1, 2, 4 หรือ 6 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน หรือ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่า ผลส้มที่ผ่านการปลูกเชื้อและได้รับโอโซนเป็นระยะเวลา 4 และ 6 ชั่วโมง สามารถชะลอการเกิดโรคและลดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดโรคได้ โดยมีการเกิดโรค 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภายหลังการเก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 4 วัน ส่วนชุดที่เก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส ภายหลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีการเกิดโรค 60 เปอร์เซ็นต์ ในทั้งสองชุดการทดลอง ในขณะที่ชุดควบคุมมีการเกิดโรคเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อราในผลส้มในชุดที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อที่เก็บรักษาไว้ทั้งสองอุณหภูมิตลอดระยะเวลาการทดลองแต่อย่างใด ซึ่งจากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนได้ยืนยันว่าผลส้มที่ได้รับโอโซนเป็นระยะเวลา 4 และ 6 ชั่วโมง สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนเปลือกส้มได้ 72 ชั่วโมง ขณะที่ในชุดควบคุมพบการปรากฏของเส้นใยเชื้อราตั้งแต่ 24 ชั่วโมงหลังการเก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ จากการรมสปอร์ของเชื้อราด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โอโซนโดยตรง พบว่าการรมโอโซนสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์บนจานอาหารเพาะเชื้อได้ ซึ่งจากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าสปอร์ที่ได้รับโอโซนมีความเสียหายของผนังเซลล์ รวมทั้งพบการงอกของสปอร์ที่ผิดปกติ

ส่วนการศึกษาผลของโอโซนต่อการตอบสนองทางชีวเคมีของผลส้ม โดยการรมโอโซนกับผลส้มทั้งในชุดที่ไม่ผ่านการทำแผลปลูกเชื้อ และชุดที่ผ่านการทำแผลและปลูกด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. digitatum* ที่ระดับความเข้มข้นของโอโซน 200 ppm เป็นระยะเวลา 0, 1/2, 1, 2, 4 หรือ 6 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน หรือ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการรมผลส้มด้วยโอโซนสามารถกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase, β-1,3-glucanase, phenylalanine ammonia lyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) และ ascorbate peroxidase (APX) โดยผลของโอโซนนี้สามารถเห็นได้ชัดเจนในผลส้มชุดที่ผ่านการปลูกเชื้อเมื่อเทียบกับชุดที่ไม่ปลูกเชื้อ โดยเฉพาะเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งประสิทธิภาพในการกระตุ้นเอนไซม์มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ได้รับโอโซน โดยระยะเวลาในการรมนานขึ้นกิจกรรมของเอนไซม์สูงขึ้น การเพิ่มขึ้นของค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่พบในการทดลองครั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการตอบสนองด้านการป้องกันตัวของผลส้มต่อการถูกออกซิไดส์โดยโอโซน โดยเฉพาะเอนไซม์ chitinase, β-1,3-glucanase, PAL, POD, PPO, SOD และ CAT ซึ่งมีค่ากิจกรรมเพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดหากได้รับโอโซนเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยความสามารถในการเพิ่มค่ากิจกรรมของเอนไซม์ให้สูงมีบทบาทสำคัญต่อกลไกการป้องกันตัวเองต่อความเครียดที่เกิดจากการได้รับเชื้อโรคและโอโซน นอกจากนี้ยังพบว่าคุณภาพของผลส้มทั้งในด้านค่าการสูญเสียน้ำหนัก ค่าความแน่นเนื้อ ค่าสีของเปลือกผล ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ ปริมาณกรดแอสคอร์บิก รวมทั้งคะแนนประเมินด้านการบริโภคผลส้มในทุกกรรมวิธีการทดลองไม่ได้รับผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญจากโอโซน รวมทั้งไม่พบความเสียหายรุนแรงของผลส้มอันเกิดจากการได้รับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นสูงแต่อย่างใด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Effects of Ozone on Postharvest Control of *Penicillium digitatum* Decay and Some Biochemical Responses in Tangerine (*Citrus reticulata* Blanco cv. Sai Nam Pung) Fruit

Author Miss Pornanan Boonkorn

Degree Doctor of Philosophy (Biology)

Thesis Advisory Committee
Asst. Prof. Dr. Kanda Whangchai Advisor
Asst. Prof. Dr. Jamnong Uthaibutra Co-advisor
Lect. Dr. Sutthiwal Setha Co-advisor

ABSTRACT

The effects of ozone on the postharvest control of *Penicillium digitatum* decay and some biochemical responses in tangerine fruit during storage were examined. The fruits were divided into 2 groups, non-inoculated and inoculated with *P. digitatum* (1×10^6 spores mL^{-1}) and then fumigated with ozone (200 ppm) for 0, 1/2, 1, 2, 4 or 6 hr and stored at 25°C for 7 days or 5°C for 8 weeks. The results showed that exposing fruits to ozone for 4 and 6 hr delayed disease incidence and reduced lesion diameter in inoculated fruits. The inoculated fruits exposed to ozone for 4 and 6 hr had disease incidence of 70 and 90%, respectively after 4 days at 25°C and 60% when both treatments stored at 5°C for 4 weeks, while control fruits had 100% disease incidence. No decay was observed on any of the non-inoculated fruits from the two storage temperatures throughout the experimental periods. Scanning electron microscopy confirmed that exposing fruit to ozone for 4 and 6 hr inhibited growth of fungi on the fruit peel for 72 hr, while growth of fungal mycelium was found as soon as 24 hr on control fruit peel. After directly exposed the fungus spores to ozone, it was found that ozone could inhibit spore germination on PDA plate compared with the control group. Transmitted light microscopy showed cell wall damage and abnormal germination of those spores.

The effects of ozone on some biochemical responses in tangerine were studied. Gaseous ozone (200 ppm) was applied for 0, 1/2, 1, 2, 4 or 6 hr to inoculated or non-inoculated tangerine fruits and then stored at 25°C for 4 days or 5°C for 4 weeks. The study showed that exposing fruit to ozone influenced chitinase, β-1,3-glucanase, phenylalanine ammonia lyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) activities. The effect was pronounced in the inoculated group than in the non-inoculated group, especially at 25°C storage. The effectiveness of enzyme activation was closely related with the time of ozone exposure; as exposure time gets

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

longer, enzyme activity increases. The increased activities of the enzymes was possibly due to the defense response of the fruit against the oxidizing effect of ozone, especially for the activities of chitinase, β-1,3-glucanase, PAL, PPO, POD, SOD and CAT which were significantly higher than the control after ozone treatment. The ability of fruits in activating high enzyme activities was an important role in their defense mechanism against pathogen and ozone stress. From the study, fruit quality parameters such as weight loss, firmness, outer peel color, total soluble solids, titratable acidity, ascorbic acid content and sensory evaluation in all treatments were not apparently affected by ozone exposure and no severe phytotoxicity occurred in fruits especially those exposed to high doses of ozone.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved