



รายงานโครงการวิจัย

ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อความรุนแรง
ของโรคหลังการเก็บเกี่ยวและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร

Effect of climate change on postharvest diseases and
mycotoxin in agricultural commodities

นางสาวเนตรา สมบูรณ์แก้ว

Ms. Nettra Somboonkaew

พ.ศ. 2558



โครงการวิจัย

ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อความรุนแรง
ของโรคหลังการเก็บเกี่ยวและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร

Effect of climate change on postharvest diseases and
mycotoxin in agricultural commodities

นางสาวเนตรา สมบูรณ์แก้ว

Ms. Nettra Somboonkaew

พ.ศ. 2558

คำปรารภ

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ทำให้เกิดความแห้งแล้ง ปริมาณน้ำฟ้าที่ผิดปกติ และส่งผลต่อความเข้มข้นของปริมาณก๊าซต่างๆ ในบรรยากาศ ส่งผลกระทบอย่างมากต่อภาคการเกษตร ซึ่งรวมถึงการสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยว อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของผลิตผล ความรุนแรงของโรคหลังการเก็บเกี่ยว และสารพิษที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นหลังการเก็บเกี่ยวและปนเปื้อนในผลิตผล ผลกระทบดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยและความมั่นคงทางอาหารได้ในอนาคต

การศึกษาเรื่องผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อความรุนแรงของโรคหลังการเก็บเกี่ยวและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร เช่น ธัญพืชและไม้ตัดดอก มีความจำเป็น ข้อมูลที่สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับศึกษาถึงผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศต่อภาคเกษตรในอนาคต หรือใช้สำหรับกำหนดทิศทางการวิจัยที่เกี่ยวข้องต่อไป



นางสาวเนตรา สมบูรณ์แก้ว
หัวหน้าโครงการ

สารบัญ

i

หน้า

คำปรารภ	i
ผู้วิจัย	1
คำสำคัญ	1
บทคัดย่อ	1
บทนำ	4
ระเบียบวิธีการวิจัย	7
ผลการวิจัยและประเมินผล	16
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	36
บรรณานุกรม	38

โครงการผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อความรุนแรงของโรคหลังการเก็บเกี่ยว
และสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร

Effect of climate change on postharvest diseases and mycotoxin in agricultural
commodities

ผู้วิจัย

เนตรา สมบูรณ์แก้ว

Nettra Somboonkaew

รัมภ์พันธ์ โกศลานันท์

Rumpun Kosaranund

ศุภรา อัคระสาระกุล

Suppara Aukkasarakul

สุฟี วนศิริกุล

Su-phi Wanasirakul

ชุตินา วิฑูรจิตต์

Chutima Vithoonjit

คำสำคัญ (Key words)

อุณหภูมิ ปริมาณน้ำอิสระ คาร์บอนไดออกไซด์ โอคราทอกซิน แอฟลาทอกซิน ฟูโมนิซิน
กล้วยไม้สกุลหวาย กล้วยไม้ตัดดอก โรคดอกจุดสนิม อุณหภูมิ สรีรวิทยาหลังเก็บเกี่ยว

Temperature, Water activity, Carbon dioxide, Aspergillus niger, Aspergillus flavus,
Fusarium monoliforme, Ochratoxin, Aflatoxin, Fumonisin, Dendrobium orchid,
cut orchid, rusty spot, temperature, postharvest physiology

บทคัดย่อ (Abstract)

การเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศ เช่น อุณหภูมิที่สูงขึ้น ปริมาณน้ำฟ้าที่มากกว่าปกติ ความแห้งแล้ง และการเพิ่มขึ้นของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ในบรรยากาศ ส่งผลกระทบต่อการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรและอาหาร การศึกษานี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของระดับอุณหภูมิ ปริมาณน้ำอิสระ ความชื้น ปริมาณ CO₂ และปฏิสัมพันธ์ของปัจจัยข้างต้นต่อการเจริญและผลิตสารพิษของเชื้อรา *Aspergillus niger*, *A. flavus* และ *Fusarium moniliforme* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (*in vitro*) และในผลิตผลเกษตร ได้แก่ เมล็ดกาแฟดิบ เมล็ดถั่วลิสง และเมล็ดข้าวโพดตามลำดับ การศึกษาในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับอุณหภูมิ ปริมาณน้ำอิสระ และปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างอุณหภูมิและปริมาณน้ำอิสระมีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อราทั้งสามชนิด ขณะที่การเพิ่มขึ้นของ CO₂ ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อราทั้งสามชนิด อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของระดับอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณ CO₂ ทำให้เชื้อรา *A. niger*, *A. flavus* และ *F. moniliforme* ผลิตสารไอคราทอกซิน เอ สารแอฟลาทอกซิน บี1 และสารฟูโมนิซิน (ตามลำดับ) ได้ในปริมาณที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณก๊าซ CO₂ ที่สูงขึ้นจากระดับ 300 เป็น 1,000 พีพีเอ็มทำให้มีปริมาณสารพิษทั้งสามชนิดปนเปื้อนเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งพบทั้งในการศึกษาในอาหารเลี้ยงเชื้อและในผลิตผลเกษตร ผลการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับการศึกษาเชิงลึกต่อไป นอกจากนี้ได้ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อการเกิดโรคดอกจูดสนิมในกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก โดยศึกษาข้อมูลเบื้องต้นในแหล่งปลูกกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการส่งออก 3 จังหวัดได้แก่ นครปฐม สมุทรสาคร และราชบุรี จำนวน 6 แปลง ระหว่างมกราคม-สิงหาคม 2557 พบว่า อุณหภูมิในแปลงปลูกอยู่ระหว่าง 29.7-35.9°C ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศอยู่ระหว่าง 41.30-61.70 ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำที่ใช้รดกล้วยไม้ 7.05-7.45 และเมื่อสุ่มเก็บดอกกล้วยไม้ 100 ซ่อต่อแปลง มาจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคดอกจูดสนิม พบเชื้อรา *Curvularia eragrostidis* มากที่สุดของกลีบดอกและก้านดอกจากแปลงปลูกในจังหวัดสมุทรสาครและจังหวัดนครปฐม คิดเป็นร้อยละ 33.33 ทดสอบอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. eragrostidis* บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 5 15 25 35 และ 45°C เป็นเวลา 14 วัน พบว่าที่อุณหภูมิ 25 15 35 5 และ 45°C เชื้อ *C. eragrostidis* มีการเจริญเติบโต 8.10 3.68 0.87 0.63 และ 0 เซนติเมตร ตามลำดับ ทดสอบอุณหภูมิ การเก็บรักษาต่อความรุนแรงการเกิดโรคดอกจูดสนิมกล้วยไม้สกุลหวาย 2 กรรมวิธี คือ ทำแผลบนดอก และไม่ทำแผล เก็บที่อุณหภูมิ 5 15 25 35 และ 30°C (ชุดควบคุม) เป็นเวลา 7 และ 14 วัน พบว่ากรรมวิธีทำแผลที่อุณหภูมิ 15°C เกิดโรคดอกจูดสนิมมากที่สุดร้อยละ 81.73 ในขณะที่ชุดควบคุมเกิดโรคร้อยละ 50.47 ส่วนกรรมวิธีไม่ทำแผลที่อุณหภูมิ 25°C เกิดโรคดอกจูดสนิมมากที่สุดร้อยละ 29.40 ชุดควบคุมเกิดโรคร้อย

ละ 20.20 ทดสอบการควบคุมโรคดอกจุดสนิมด้วยน้ำอุณหภูมิ 25 35 45°C และอุณหภูมิห้อง (ชุดควบคุม) โดยนำช่อกกล้วยไม้สกุลหวายที่มีดอกบาน 3 ใน 4 ของช่อดอกมาพ่นสปอร์เชื้อรา *C. eragrostidis* ความเข้มข้น 10^5 โคลิฟอร์มต่อมิลลิลิตร บ่มอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แช่ช่อดอกกล้วยไม้ในน้ำอุณหภูมิต่างๆ ข้างต้น 4 นาทีและนำขึ้นแช่น้ำกลั่นทันที ผึ่งให้แห้งเก็บที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 10 วัน พบว่า ดอกกล้วยไม้ที่แช่น้ำอุณหภูมิ 25°C เกิดโรคดอกจุดสนิมน้อยที่สุดร้อยละ 2.34 ชุดควบคุมเกิดโรคร้อยละ 3.44

Climate change e.g. warmer weather, greater precipitation, drought and elevated carbon dioxide will have various impacts to mycotoxins in agricultural products and food. The aim of current study was to determine effect of temperature, water stress and carbon dioxide concentrations and their interactions on growth and mycotoxins production by *Aspergillus niger*, *A. flavus* and *Fusarium moniliforme* in vitro and in stored coffee bean, peanut and corn grain. In vitro, only temperature, water activity and temperature x water activity affected on growth of *A. niger*, *A. flavus* and *F. moniliforme*, whilst elevated carbon dioxide did not influence to growth of these three mycotoxigenic species. However, the three main environmental factors and their interactions significantly caused *A. niger*, *A. flavus* and *F. moniliforme* to produce different concentrations of ochratoxin A, aflatoxin B1 and fumonisin, respectively. Increased carbon dioxide (300 to 1,000 ppm) resulted to higher contents of mycotoxins contamination. These results were found in in vitro and in agricultural products experiments. The obtained results are advantage for further study as baseline assumptions. Another study focused on impact of temperature to flower rusty spot initiation of *Dendrobium* hybrid. Basic environmental study of orchid garden was obtained from commercial growers in Nakhon Pathom, Samut Sakhon and Ratchaburi provinces of total 6 farms from January to August 2014. We found that the average field temperature was 29.7-35.9°C, as well as relative humidity was 41.30-61.70%, and water pH was 7.05-7.45. The 100 resemes of orchids per farm were randomly collected to isolate flower rusty spot in Samut Sakhon and Nakhon Pathom provinces. We found that the most disease was *Curvularia eragrostidis* representing for 33.33%. The in vitro experiment studied the effect of 6 temperatures including 5, 15, 25, 35, 45 and 30°C

(control) on mycelium growth of *C. eragrostidis* for 14 days. The result showed that the mycelium growths of *C. eragrostidis* were 8.10, 3.68, 0.87, 0.63 and 0 cm at temperature of 25, 15, 35, 5, and 45°C respectively. The *in vivo* experiments studied the effect of 6 storage temperatures including 5, 15, 25, 35 and 30°C (control) on severity of flower rusty spot disease by wounding and non-wounding. The result showed that for wounding method, the rustiest spot disease of 81.73% was found in 15°C treatment whereas control showed 50.47%. For non-wounding method, the most flower rusty spot diseases of 29.40% was found in 25°C treatment whereas control showed 20.20%. Moreover, we studied the effect of hot water treatment at temperature of 25, 35, 45 and 32°C (control) on flower rusty spot by spraying *C. eragrostidis* 10^5 cfu/ml to receme and immersing them in hot water at temperature mentioned above for 4 minutes, suddenly immersing them in distilled water and keeping them at 14°C for 10 days. We found that 25°C treatment showed the least flower rusty spot by 2.34% whereas control showed 3.44%.

บทนำ

สภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปในปัจจุบัน ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทยโดยเฉพาะอุณหภูมิ ปริมาณความชื้นและปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ อาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อพืชทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว รวมทั้งมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ติดมากับผลิตผลเกษตรทั้งในแหล่งปลูกและสถานที่เก็บรักษาภายหลังการเก็บเกี่ยว การศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงระดับของอุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา การสร้างสารพิษของเชื้อรา รวมทั้งผลกระทบต่อคุณภาพผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว จึงมีความจำเป็นเพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ในการประเมินความสูญเสียที่อาจเกิดขึ้นเมื่อสภาพอากาศเปลี่ยนแปลงไป

นอกเหนือจากความผันแปรตามธรรมชาติ การเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศอาจเป็นผลทางตรงหรือทางอ้อมจากกิจกรรมของมนุษย์ที่ทำให้องค์ประกอบของบรรยากาศเปลี่ยนแปลงไป ข้อมูลจากกรมอุตุนิยมวิทยา (2552) พบว่าปริมาณฝนของประเทศไทยระหว่าง พ.ศ. 2494 – 2551 มีแนวโน้มลดลงอย่างช้าๆ ขณะที่อุณหภูมิมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยอุณหภูมิเฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ พ.ศ. 2521 จนถึงปัจจุบัน และมีการคาดการณ์ว่าอุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ยของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2643 จะสูงขึ้นประมาณ 3-4°C เมื่อเทียบกับในช่วง พ.ศ. 2543 การเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศอาจส่งผลต่อความอ่อนแอของพืช รวมทั้งส่งผลกระทบต่อเชื้อราที่เป็นสาเหตุในการก่อให้เกิดโรคและการสร้างสารพิษในผลิตผลเกษตร อาจทำให้มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหารมากยิ่งขึ้น (Havelaar *et al.*, 2010) และย่อมมีผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและความมั่นคงทางอาหาร ปัจจุบันมีการศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศต่อเชื้อราและการสร้างสารพิษในพืชเศรษฐกิจของหลายประเทศ เช่น Wu *et al.* (2011) ได้รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ปริมาณน้ำฟ้า (precipitation) ความแห้งแล้ง และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศ มีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อราและปริมาณสารพิษที่เชื้อราสร้างขึ้นในข้าวโพดที่ปลูก ณ ประเทศสหรัฐอเมริกา

เชื้อราที่พบมากในผลิตผลเกษตรในประเทศไทย คือ *Aspergillus flavus* เป็นราที่พบอยู่ทั่วไปในดิน พบปนเปื้อนได้ในผลิตผลเกษตรหลายชนิด เช่น หอมแดง ถั่วลิสง ข้าวโพด กาแฟ หอมหัวใหญ่ องุ่น และ เครื่องเทศ (Ghosh *et al.*, 1997) สามารถเจริญเติบโตและผลิตสารแอฟลาทอกซิน (aflatoxin - AF) ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์สูง โดย *A. flavus* สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35°C ที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.95 a_w (Paterson and Lima, 2011) เชื้อราชนิดนี้สามารถเข้าทำลายและเจริญในถั่วเมล็ดแห้ง เช่น ถั่วลิสง ถั่วเหลือง และเมล็ดธัญพืช (Reddy *et al.*,

2009) ความรุนแรงของการเข้าทำลายผลิตผลเกษตรเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม โดยมีรายงานว่าถั่วลิสงที่ปลูกในสภาพอากาศแล้ง ฝักจะเกิดรอยแตกได้มากยิ่งขึ้น เพิ่มโอกาสการเข้าทำลายของเชื้อ *A. flavus* และการปนเปื้อนของสาร AF (Magan *et al.*, 2011) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chauhan *et al.* (2008, 2010) ที่พบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นและปริมาณความชื้นลดลง (อากาศร้อนและแห้ง) พบการปนเปื้อนของสาร AF ในข้าวโพดและถั่วลิสงเพิ่มขึ้น สาร AF เป็นสารพิษที่ก่อให้เกิดมะเร็งได้ในมนุษย์และสัตว์ (Roebuck and Maxuitenko, 1994) ซึ่งทำให้ผู้มีปัญหาเกี่ยวกับตับ เช่น มีเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และ C มีความเสี่ยงเป็นมะเร็งตับมากขึ้นถึง 30 เท่า (Groopman *et al.*, 2008)

เชื้อรา *Aspergillus niger* เป็นราที่พบทั่วไปในดิน เศษซากพืช และผลิตผลเกษตร สามารถเจริญได้ทั้งในเขตร้อนชื้นและเขตหนาว ซึ่งพบปนเปื้อนได้ในผลิตผลเกษตรหลายชนิด เช่น กาแฟ ถั่วลิสง ข้าวโพด หอมแดง หอมหัวใหญ่ องุ่น และเครื่องเทศ เป็นต้น (EPA, 1997) นอกจากนี้รา *A. niger* สามารถสร้างสารพิษและสารทุติยภูมิได้มากมายหลายชนิด เช่น สารพิษ ochratoxin A และ fumonisin B₂ และ B₄ (Kristian *et al.*, 2009) ซึ่งเป็นสารพิษจากเชื้อราที่จัดอยู่ใน class 2B คือ เป็นสารที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งได้ในมนุษย์ ochratoxin A เป็นสารที่ก่อให้เกิดความผิดปกติต่อระบบการทำงานของไต (nephrotoxic) และการพัฒนาการเกิดความผิดปกติ (teratogenic) เป็นสารพิษที่อาจก่อให้เกิดมะเร็ง และทำให้ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ผิดปกติ fumonisins เป็นสารที่มักพบการปนเปื้อนในธัญพืช, ข้าวโพด ซึ่งมีผลต่อมนุษย์โดยอาจก่อให้เกิด มะเร็งหลอดอาหาร และยังเป็นพิษรุนแรงต่อสัตว์ เช่น ม้า, หมู และสัตว์ปีก (Edwin *et al.*, 2010)

นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราในกลุ่ม Fusarium เช่น *F. moniliforme* และ *F. proliferatum* สามารถผลิตสารพิษได้ โดยสารพิษที่พบมาก ได้แก่ สารฟูโมนิซิน (Fumonisin; FB) พบปนเปื้อนในธัญพืชหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และข้าวสาลี (Marasas *et al.*, 1984) รากลุ่มนี้สามารถสร้างสารพิษฟูโมนิซิน หลายอนุพันธ์ โดยอนุพันธ์ที่พบมากและมีพิษรุนแรง คือ Fumonisin B1 (FB1) และ Fumonisin B2 (FB2) สภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสารพิษ FB1 คือที่อุณหภูมิ 30°C ภายในระยะเวลา 13 สัปดาห์ สารพิษนี้เป็นสาเหตุของโรคเกี่ยวกับระบบประสาทที่เรียกว่า equine leukoencephalomalacia ในม้า ทำให้ม้าเสียชีวิตและตายเนื่องจากสมองถูกทำลาย โรคปอดบวมน้ำ (porcine pulmonary edema) ในสุกร (Dupuy *et al.*, 1993; Melcion *et al.*, 1997) สารพิษฟูโมนิซินที่พบในผลิตผลเกษตรหลายชนิด ทั้งในอาหารมนุษย์และอาหารสัตว์ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคโดยตรง เมื่อได้รับสารพิษฟูโมนิซินเข้าไป อาจทำให้เกิดความเป็นพิษต่อระบบประสาท ตับ ไต หัวใจ มีอาการปวดบวม สมองบวม ทำให้เซลล์ตายแบบ apoptosis และอาจก่อให้เกิด

โรคมะเร็งในหลอดอาหารกับคนในประเทศจีนและแอฟริกาใต้อีกด้วย (จุฬารัตน์, 2551) ในปี ค.ศ. 1993 องค์การ International Agency for Research on Cancer (IRAC) ได้จัดให้ฟูโมนิซิน ปี 1 และ ปี 2 เป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์กลุ่ม 2B (IRAC, 1993)

สารพิษฟูโมนิซินจะถูกสร้างโดยเชื้อราเมื่อมีสภาพที่เหมาะสม โดยเฉพาะอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ในประเทศไทยพบเชื้อรา *F. moniliforme* เป็นเชื้อราสาเหตุที่สร้างสารพิษฟูโมนิซิน และพบในเมล็ดข้าวโพดเป็นส่วนใหญ่ Marin *et al.* (1995) รายงานว่าเชื้อรา *F. moniliforme* และ *F. proliferatum* ที่เลี้ยงในข้าวโพด สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30°C ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) มากกว่า 0.925 ในข้าวโพดสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศทั่วทุกภูมิภาคในประเทศไทย และอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อพืชทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว รวมทั้งมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ปนเปื้อนทั้งในสถานที่ปลูกและสถานที่เก็บรักษาภายหลังการเก็บเกี่ยว การศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศโดยเฉพาะระดับของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่เปลี่ยนแปลงต่อการเจริญของเชื้อราและประสิทธิภาพของเชื้อราในการสร้างสารพิษ รวมทั้งผลกระทบต่อความรุนแรงในการก่อให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์เกษตรหลังการเก็บเกี่ยว จึงมีความจำเป็นเพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ในการคาดการณ์สภาวะการณ์ที่อาจเกิดขึ้นเมื่อสภาพภูมิอากาศเปลี่ยนแปลงไปปัจจัยที่เหมาะสมในการทำให้เกิดเชื้อราที่สร้างสารพิษ ได้แก่ ความชื้นในวัตถุดิบที่สูงกว่า 13% ในสภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 65-85% ระหว่างช่วงอุณหภูมิ 20-40°C และมีก๊าซออกซิเจน ในปี 2556 National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) รายงานว่าปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทั่วโลกระหว่างปี พ.ศ. 2548-2556 มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 5.3% และ Magan *et al.* (2011) รายงานถึงผลของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารพิษของเชื้อรา อย่างไรก็ตามรายงานเกี่ยวกับระดับของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณการผลิตสารพิษของเชื้อราในปัจจุบันยังมีไม่เพียงพอ

แม้มีรายงานว่าอุณหภูมิที่กระตุ้นให้เกิดการสร้างสารพิษของเชื้อรามักจะเป็นอุณหภูมิต่ำและสลับเปลี่ยนไปเป็นอุณหภูมิสูงขึ้น และมีความชื้นสูง แต่ยังไม่มีการรายงานถึงระดับอุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำอิสระและปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการศึกษาเดียวกันต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus* spp. และการสร้างสารพิษของเชื้อรา หากทราบอิทธิพลของสภาพอากาศต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารพิษของเชื้อราจะสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ (contour map) ซึ่งสามารถนำไปสู่การสร้างสมการหรือแบบจำลองเพื่อคาดการณ์ความเสี่ยงในการเกิดสารพิษจากเชื้อราในผลิตภัณฑ์เกษตรเมื่อสภาพอากาศเปลี่ยนแปลงได้ต่อไปในอนาคต ตัวอย่างแบบจำลองที่มีการศึกษาในปัจจุบัน เช่น the geographical emerging mycotoxin

identification system (GEMIS) model ที่กำลังทดสอบในสหภาพยุโรป หรือ DONcast[®] ที่สามารถ
ใช้ประเมินการปนเปื้อนของสาร DON ในธัญพืชในประเทศสหรัฐอเมริกา ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมี
จุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของระดับอุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำอิสระ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อ
การเจริญเติบโตและสร้างสารพิษของเชื้อรา *Aspergillus flavus* เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการ
ประเมินความเสี่ยงการปนเปื้อนของสารพิษในผลิตภัณฑ์ต่อไป

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยกล้วยไม้ตัดดอกที่ไทยผลิตและส่งออกมาก
ที่สุดคือ กล้วยไม้สกุลหวาย ประมาณร้อยละ 86 ของดอกกล้วยไม้ที่มีการส่งออกทั้งหมด (สำนักงานเศรษฐกิจ
การเกษตร, 2554) โดยแหล่งปลูกกล้วยไม้จะอยู่รอบๆ กรุงเทพมหานคร เช่น บางแค หนองแขม บางขุนเทียน
ภาษีเจริญ ดลิ่งชัน นครปฐม สมุทรสาคร สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ราชบุรี ปทุมธานี นนทบุรี เป็นต้น ปัจจุบัน
สภาวะแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงไปทั้งอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และอื่นๆ โดย
โรคที่พบบ่อย ได้แก่ โรคดอกสนิมหรือจุดสนิม (flower rusty spot) มีสาเหตุจากเชื้อรา *Curvularia*
eragrostidis (Henn.) J.A. Meyer ซึ่งมักพบมากในกล้วยไม้สกุลหวาย เช่น หวายขาว หวายชมพู หวาย
มาตาม หวายสีซาร์ และหวายลูกผสม โดยแสดงอาการบนดอกกล้วยไม้ภายใน 8-24 ชั่วโมง อาการ
เริ่มแรกกลีบดอกกล้วยไม้เป็นจุดขนาดเล็กสีน้ำตาลอมเหลือง จุดขยายใหญ่มีสีเขียวเข้มคล้ายสนิม
(พิบูลย์, 2549) โดยกล้วยไม้จะแสดงอาการหลังการเก็บเกี่ยวในระหว่างการขนส่ง เชื้อราสาเหตุโรคดอก
สนิมมีพืชอาศัยหลายชนิดเช่น หญ้าตีนนก หญ้าขน ข้าว ข้าวโพด เป็นต้น สามารถอยู่ข้ามฤดูในหญ้าและ
เข้าทำลายพืชในฤดูปลูกถัดไปได้ (เลขาและคณะ, 2544) ช่วงอุณหภูมิที่เชื้อรา *C. eragrostidis*
เจริญเติบโตได้ 10-40 องศาเซลเซียส pH 2-11 แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28 องศาเซลเซียส pH 6
(Zunzhi Zhu และ Sheng Qaing, 2011) โรคนี้แพร่ระบาดได้ดีในช่วงฤดูฝนที่มีความชื้นสูงหรือต้นฤดู
หนาวสภาพที่มีน้ำค้างลงจัด ประมาณเดือนตุลาคม-ธันวาคม (นิยมรัฐ, 2543 และ พิบูลย์, 2549) และ
สามารถแพร่ระบาดติดต่อกันอย่างรวดเร็วทั่วแปลงกล้วยไม้และบริเวณใกล้เคียง ดังนั้นจึงศึกษา
ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อการเกิดโรคดอกจุดสนิมในกล้วยไม้และความรุนแรงของโรค
หลังการเก็บเกี่ยวเพื่อเป็นข้อมูลแนวทางในการหาวิธีป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดเชื้อราสาเหตุโรค
ดอกจุดสนิมกล้วยไม้ต่อไปได้

ระเบียบวิธีการวิจัย

การทดลองที่ 1.1 ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* และความสามารถในการสร้างสารพิษในผลิตภัณฑ์

-ระยะเวลาที่ดำเนินการ ปีที่เริ่มต้น 2557 ปีที่สิ้นสุด 2558

-แผนการปฏิบัติงาน (Action plan)

1. เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์มาแยกเชื้อราสาเหตุโรคที่ต้องการศึกษาโดยวิธี Direct plate method
2. คัดเลือกราก *A. niger* นำมาแยกเลี้ยงให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. จัดทำกล่องอุปกรณ์ที่ใช้ในการควบคุมสภาพอากาศ และทดสอบปริมาณน้ำอิสระ (water activity) ในสูตรอาหารที่ใช้กับการจำลองสภาพอากาศ (ภาพที่ 1)
4. การทดสอบอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการสร้างสารพิษภายใต้การจำลองสภาพอากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อ
 - 4.1 ปลูกเชื้อ *A. niger* ที่แยกได้ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อภายใต้การจำลองสภาพอากาศ
 - 4.2 วัดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* ภายใต้การจำลองสภาพอากาศ
 - 4.3 ทดสอบประสิทธิภาพการสร้างสารพิษของรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. การทดสอบการสร้างสารโอคราทอกซิน (Ochratoxin) ในผลิตภัณฑ์ ได้แก่ เมล็ดกาแฟ ภายใต้การจำลองสภาพอากาศ
 - 5.1 คัดเลือกเมล็ดกาแฟที่กะเทาะเปลือกแล้ว บดให้เป็นผงกาแฟหยาบ และฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมาด้วยวิธีการนึ่งที่ 121°C
 - 5.2 หยด spore suspension ของเชื้อรา *A. niger* (เข้มข้น 10^6 ต่อมิลลิลิตร) ลงบนกาแฟที่ฆ่าเชื้อแล้ว ผสมให้ทั่ว จากนั้นเก็บรักษาภายใต้การจำลองสภาพอากาศ เป็นเวลา 14 วัน
 - 5.3 ทดสอบความสามารถของ *A. niger* ในการสร้างสารโอคราทอกซิน โดยนำกาแฟจากข้อ 5.2 มาสกัด และวิเคราะห์หาปริมาณสารโอคราทอกซินด้วยวิธี ELISA โดยชุดทดสอบสำเร็จรูป

กรรมวิธีการทดลอง

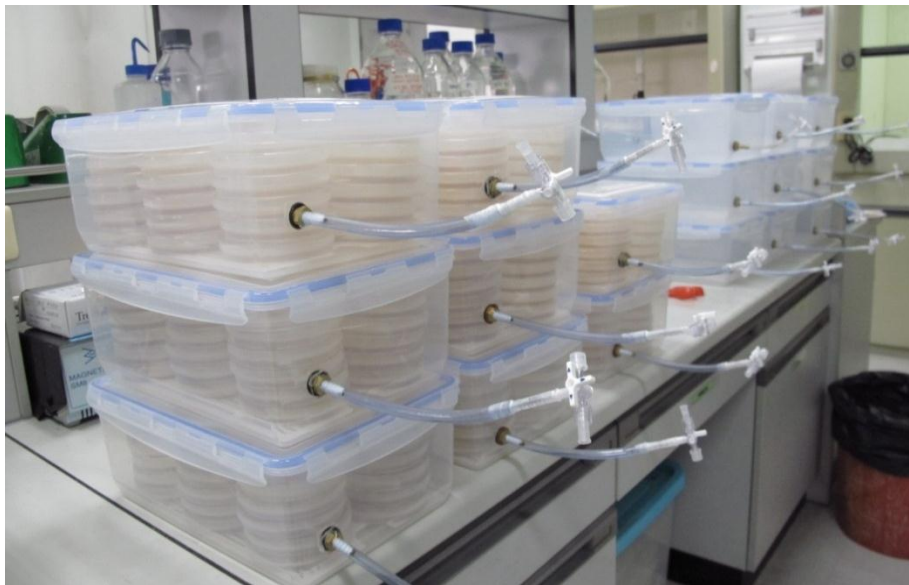
การทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ

วางแผนการทดลองแบบ split plot จำนวน 3 ซ้ำ โดย

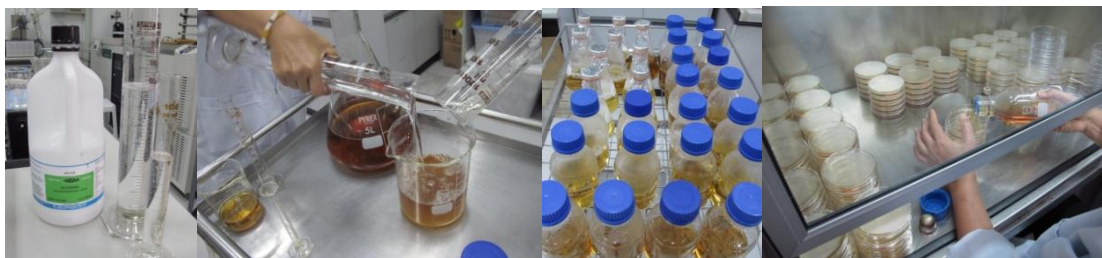
- main plot คือ ความเข้มข้นของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 3 ระดับ ได้แก่ 300, 600, 1000 ppm
- subplot คือ ปริมาณน้ำอิสระ (water activity) 7 ระดับ ได้แก่ 0.75, 0.80, 0.85, 0.90, 0.93, 0.95 และ 0.99

โดยทำการทดลอง 6 ระดับอุณหภูมิ ได้แก่ 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 °C

หยด spore suspension (ความเข้มข้น 10^6 ต่อมิลลิลิตร) 1 หยดปริมาณ 5 ไมโครลิตร (μL) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละหน่วยศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* ที่อุณหภูมิ, water activity และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับต่างๆ (ภาพที่ 2 และ 3) โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อทุก 2 วัน เป็นเวลา 10 วัน ทดสอบความสามารถในการสร้างสปอร์ของเชื้อ *A. niger* ในอาหารวุ้นภายใต้การจำลองสภาพอากาศต่างๆ (ภาพที่ 4) ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี ELISA



ภาพที่ 1 กล่องสำหรับดัดแปลงสภาพบรรยากาศในการเลี้ยงเชื้อรา *A. niger* *A. flavus* และ *F. moniliforme*



ภาพที่ 2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณน้ำอิสระแตกต่างกันโดยกลีเซอรอลและน้ำกลั่น



ภาพที่ 3 การเติม CO₂ ในกล่องเพื่อตัดแปลงสภาพบรรยากาศในการเลี้ยงเชื้อรา *A. niger* *A. flavus* และ *F. moniliforme*



ภาพที่ 4 เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ

การทดสอบในเมล็ดกาแฟ

วางแผนการทดลองแบบ split plot จำนวน 3 ซ้ำ โดย

- main plot คือ ความเข้มข้นของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 3 ระดับ ได้แก่ 300, 600, 1000 ppm
- subplot คือ ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ 3 ระดับ ได้แก่ 60 70 80%

โดยทำการทดลอง 6 ระดับอุณหภูมิ ได้แก่ 15, 20, 25, 30, 35 และ 40°C

หยด spore suspension ของเชื้อรา *A. niger* (ความเข้มข้น 10^6 ต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร (μL) ลงบนกาแฟสารบดหยาบที่เตรียมไว้ และเก็บในสภาพที่อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับต่างๆ (ภาพที่ 5) เป็นเวลา 14 วัน ทดสอบความสามารถในการสร้างสาร โอคราทอกซินของเชื้อ *A. niger* ในกาแฟบดภายใต้การจำลองสภาพอากาศต่างๆ ในวันที่ 14 ของการ เลี้ยงเชื้อด้วยวิธี ELISA



ภาพที่ 5 หยด spore suspension ของ *A. niger* ลงบนกาแฟดิบบด และเก็บรักษาภายใต้สภาพ อากาศต่างๆ

การทดลองที่ 1.2 ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ ความสามารถในการสร้างสารพิษในธัญพืช

-ระยะเวลาที่ดำเนินการ ปีที่เริ่มต้น 2557 ปีที่สิ้นสุด 2558

-แผนการปฏิบัติงาน (Action plan)

1. เก็บตัวอย่างผลิตผลเกษตรมาแยกเชื้อราสาเหตุโรคที่ต้องการศึกษาโดยวิธี Direct plate method
2. คัดเลือกราก *A. flavus* นำมาแยกเลี้ยงให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

3. จัดทำกล่องอุปกรณ์ที่ใช้ในการควบคุมสภาพอากาศ และทดสอบปริมาณน้ำอิสระ (water activity) ในสูตรอาหารที่ใช้กับการจำลองสภาพอากาศ (ภาพที่ 1)
4. การทดสอบอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการสร้างสารพิษภายใต้การจำลองสภาพอากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อ
 - 4.1 ปลูกเชื้อ *A. flavus* ที่แยกได้ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อภายใต้การจำลองสภาพอากาศ
 - 4.2 วัดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* ภายใต้การจำลองสภาพอากาศ
 - 4.3 ทดสอบประสิทธิภาพการสร้างสารพิษของรา *A. flavus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีวิเคราะห์ด้วย HPLC
5. การทดสอบการสร้างสารแอฟลาทอกซิน (aflatoxin) ในผลิตภัณฑ์ได้แก่ เมล็ดถั่วลิสง ภายใต้การจำลองสภาพอากาศ
 - 5.1 นำถั่วลิสงที่บดแล้ว ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมาด้วยวิธีการนึ่งที่ 121 °C
 - 5.2 หยด spore suspension ของเชื้อรา *A. flavus* (เข้มข้น 10⁶ ต่อมิลลิลิตร) ลงบนถั่วลิสงบดที่ฆ่าเชื้อแล้ว ผสมให้ทั่ว จากนั้นเก็บรักษาภายใต้การจำลองสภาพอากาศ เป็นเวลา 14 วัน
 - 5.3 ทดสอบความสามารถของ *A. flavus* ในการสร้างสารแอฟลาทอกซิน โดยนำถั่วลิสงจากข้อ 5.2 มาสกัด และวิเคราะห์หาปริมาณสารแอฟลาทอกซินด้วยวิธี ELISA โดยชุดทดสอบสำเร็จรูป

- กรรมวิธีการทดลอง

การทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ

วางแผนการทดลองแบบ split plot จำนวน 3 ซ้ำ โดย

- main plot คือ ความเข้มข้นของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 3 ระดับ ได้แก่ 300, 600, 1000 ppm
- subplot คือ ปริมาณน้ำอิสระ (water activity) 7 ระดับ ได้แก่ 0.75, 0.80, 0.85, 0.90, 0.93, 0.95 และ 0.99

โดยทำการทดลอง 6 ระดับอุณหภูมิ ได้แก่ 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 °C

หยด spore suspension (ความเข้มข้น 10⁶ ต่อมิลลิลิตร) 1 หยดปริมาณ 5 ไมโครลิตร (µL) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละหน่วยศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* ที่อุณหภูมิ water activity และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับต่างๆ (ภาพที่ 2 และ 3) โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ

เชื้อทุก 2 วัน เป็นเวลา 10 วัน ทดสอบความสามารถในการสร้างสารพิษของเชื้อ *A. flavus* ในอาหารรุ้น ภายใต้การจำลองสภาพอากาศต่างๆ (ภาพที่ 4) ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี HPLC

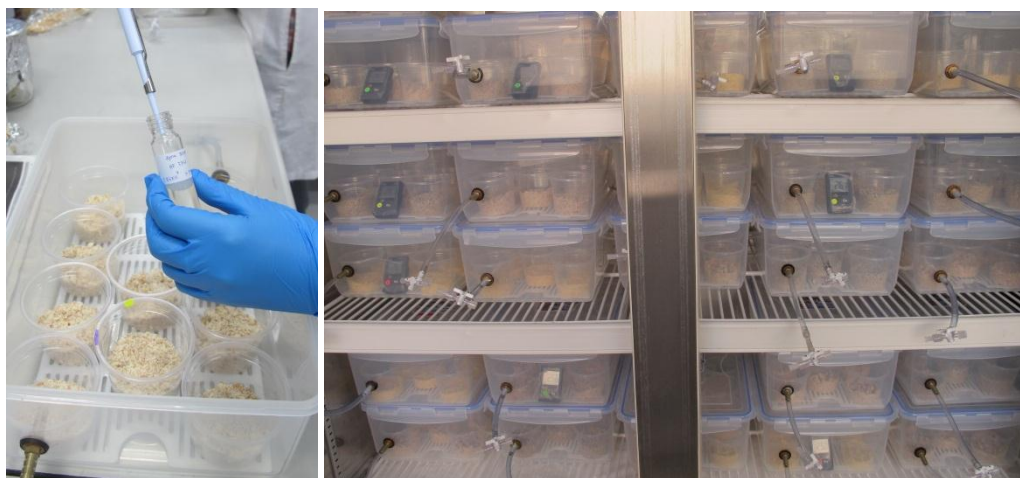
การทดสอบในเมล็ดถั่วลิสง

วางแผนการทดลองแบบ split plot จำนวน 3 ซ้ำ โดย

- main plot คือ ความเข้มข้นของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 3 ระดับ ได้แก่ 300, 600, 1000 ppm
- subplot คือ ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ 3 ระดับ ได้แก่ 60 70 80%

โดยทำการทดลอง 6 ระดับอุณหภูมิ ได้แก่ 15, 20, 25, 30, 35 และ 40°C

หยด spore suspension ของเชื้อรา *A. flavus* (ความเข้มข้น 10^6 ต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร (μL) ลงบนผลิตภัณฑ์เกษตรที่เตรียมไว้ และเก็บในสภาพที่อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับต่างๆ (ภาพที่ 6) เป็นเวลา 14 วัน ทดสอบความสามารถในการสร้างสารแอฟลาทอกซินของเชื้อ *A. flavus* ในถั่วลิสงบดภายใต้การจำลองสภาพอากาศต่างๆ ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี ELISA



ภาพที่ 6 หยด spore suspension ของ *A. flavus* ลงบนถั่วลิสงบด และเก็บรักษาภายใต้สภาพอากาศต่างๆ

- KPIs

ได้เชื้อรา *A. flavus* ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เกษตรสำหรับการทดลอง และได้ข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อราและการสร้างสารพิษในการจำลองสภาพอากาศ

การทดลองที่ 1.3 ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* และความสามารถในการสร้างสารพิษในธัญพืช

-ระยะเวลาที่ดำเนินการ ปีที่เริ่มต้น 2557 ปีที่สิ้นสุด 2558

-แผนการปฏิบัติงาน (Action plan)

1. เก็บตัวอย่างผลิตผลเกษตรมาแยกเชื้อราสาเหตุโรคที่ต้องการศึกษาโดยวิธี Direct plate method
2. คัดเลือกราก *F. moniliforme* นำมาแยกเลี้ยงให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. จัดทำกล่องอุปกรณ์ที่ใช้ในการควบคุมสภาพอากาศ และทดสอบปริมาณน้ำอิสระ (water activity) ในสูตรอาหารที่ใช้กับการจำลองสภาพอากาศ (ภาพที่ 1)
4. การทดสอบอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการสร้างสารพิษภายใต้การจำลองสภาพอากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อ
 - 4.1 ปลูกเชื้อ *F. moniliforme* ที่แยกได้ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อภายใต้การจำลองสภาพอากาศ
 - 4.2 วัดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. moniliforme* ภายใต้การจำลองสภาพอากาศ
 - 4.3 ทดสอบประสิทธิภาพการสร้างสารพิษของรา *F. moniliforme* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. การทดสอบการสร้างสารฟูโมนิซิน (Fumonixin) ในผลิตผลเกษตร ได้แก่ เมล็ดข้าวโพด ภายใต้การจำลองสภาพอากาศ
 - 5.1 คัดเลือกเมล็ดข้าวโพด บดให้เป็นผงหยาบ และฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมาด้วยวิธีการนึ่งที่ 121 °C
 - 5.2 หยด spore suspension ของเชื้อรา *F. moniliforme* (เข้มข้น 10⁶ ต่อมิลลิลิตร) ลงบนเมล็ดข้าวโพดที่ฆ่าเชื้อแล้ว ผสมให้ทั่ว จากนั้นเก็บรักษาภายใต้การจำลองสภาพอากาศเป็นเวลา 14 วัน
 - 5.3 ทดสอบความสามารถของ *F. moniliforme* ในการสร้างสารฟูโมนิซิน โดยนำข้าวโพดจากข้อ 5.2 มาสกัด และวิเคราะห์หาปริมาณสารฟูโมนิซิน ด้วยวิธี ELISA โดยชุดทดสอบสำเร็จรูป

- กรรมวิธีการทดลอง

การทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ

วางแผนการทดลองแบบ split plot จำนวน 3 ซ้ำ โดย

- main plot คือ ความเข้มข้นของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 3 ระดับ ได้แก่ 300, 600, 1000 ppm
- subplot คือ ปริมาณน้ำอิสระ (water activity) 7 ระดับ ได้แก่ 0.75, 0.80, 0.85, 0.90, 0.93, 0.95 และ 0.99

โดยทำการทดลอง 6 ระดับอุณหภูมิ ได้แก่ 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 °C

หยด spore suspension (ความเข้มข้น 10^6 ต่อมิลลิลิตร) 1 หยดปริมาณ 5 ไมโครลิตร (μL) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละหน่วยศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. moniliforme* ที่อุณหภูมิ water activity และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับต่างๆ (ภาพที่ 2) โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อทุก 2 วัน เป็นเวลา 10 วัน ทดสอบความสามารถในการสร้างสปอร์ของเชื้อ *F. moniliforme* ในอาหารวุ้นภายใต้การจำลองสภาพอากาศต่างๆ ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี ELISA

การทดสอบในเมล็ดข้าวโพด

วางแผนการทดลองแบบ split plot จำนวน 3 ซ้ำ โดย

- main plot คือ ความเข้มข้นของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 3 ระดับ ได้แก่ 300, 600, 1000 ppm
- subplot คือ ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ 3 ระดับ ได้แก่ 60 70 80%

โดยทำการทดลอง 6 ระดับอุณหภูมิ ได้แก่ 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 °C

หยด spore suspension ของเชื้อรา *F. moniliforme* (ความเข้มข้น 10^6 ต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร (μL) ลงบนผลิตภัณฑ์เกษตรที่เตรียมไว้ และเก็บในสภาพที่อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับต่างๆ (ภาพที่ 7) เป็นเวลา 14 วัน ทดสอบความสามารถในการสร้างสปอร์โมนิซินของเชื้อ *F. moniliforme* ในข้าวโพดบดภายใต้การจำลองสภาพอากาศต่างๆ ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี ELISA



ภาพที่ 7 หยด spore suspension ของ *F. moniliforme* ลงบนข้าวโพดบด และเก็บรักษาภายใต้สภาพอากาศต่างๆ

- KPIs

ได้เชื้อรา *F. moniliforme* ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เกษตรสำหรับการทดลอง และได้ข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อราและการสร้างสารพิษในการจำลองสภาพอากาศ

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาอุณหภูมิต่อการเกิดโรคดอกจุดสนิมในกล้วยไม้สกุลหวายหลังเก็บเกี่ยว

Effects of temperature on rusty spots disease in cut Dendrobium Hybrid orchid

1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นในสภาพแปลงปลูกต่างๆ ต่อการเกิดโรคดอกจุดสนิมกล้วยไม้สกุลหวาย

เก็บข้อมูลเบื้องต้นจากแปลงปลูกกล้วยไม้เพื่อส่งออกจากจังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร กรุงเทพฯ และราชบุรี ในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึง เดือนกันยายน เนื่องจากมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคดอกจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้ โดยเก็บอุณหภูมิ ความชื้น ความเข้มแสง pH ของน้ำ และสภาพแวดล้อมอื่นๆ ที่มีผลทำให้เกิดโรคดอกจุดสนิม และเก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ปริมาณเชื้อสาเหตุโรคจากแปลงปลูกกล้วยไม้เพื่อดูการกระจายของเชื้อ และการสูญเสียที่เกิดขึ้นจากโรคดอกจุดสนิม และสุ่มเก็บดอกกล้วยไม้มาทดลองต่อไป

2. จำแนกเชื้อราสาเหตุโรคดอกจุดสนิม (*Curvularia eragrostidis*) ในห้องปฏิบัติการ

นำดอกกล้วยไม้ที่เก็บมาจากแปลงปลูกกล้วยไม้เพื่อส่งออกจากจังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร กรุงเทพฯ และราชบุรี มาแยกเชื้อรา *C. eragrostidis* สาเหตุโรคดอกจุดสนิมกล้วยไม้ ด้วยวิธี tissue transplanting บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) และพิสูจน์โรคตามวิธี Koch's postulation บนดอกกล้วยไม้ และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในอาหาร slant PDA เพื่อใช้ทดลองต่อไป

3. ศึกษาอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุ *C. eragrostidis* และการเกิดโรคดอกจุดสนิม

3.1. ทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. eragrostidis* บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 5 15 25 35 และ 45 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 5 plate บันทึกผลการทดลองโดยวัดการเจริญเติบโตของเชื้อทุกวันตั้งแต่ 0 - 14 วันหรือจนกว่าเชื้อราจะเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ(เส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร) เพื่อหาความสัมพันธ์ของอุณหภูมิต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. eragrostidis* เพื่อใช้ทดลองต่อไป

3.2 ทดสอบความรุนแรงของการเกิดโรคดอกจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้ 2 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1. ทำบาดแผลบนดอกกล้วยไม้

กรรมวิธีที่ 2. ไม่ทำบาดแผลบนดอกกล้วยไม้

ทั้ง 2 กรรมวิธีทดสอบที่อุณหภูมิ 5 15 25 35 และ 45 องศาเซลเซียสวางแผนการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ดอก บันทึกผลการทดลองโดยวัดความรุนแรงการเกิดโรคทุกวันตั้งแต่ 0 ถึง 7 วัน เพื่อดูความสัมพันธ์ของอาการความรุนแรงของโรคบนดอกที่อุณหภูมิต่างๆและหาวิธีการควบคุมป้องกันในต่อไป

4. ศึกษาการควบคุมโรคดอกจุดสนิมด้วยน้ำอุณหภูมิต่างๆ วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ซอ ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 แช่น้ำอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 นาที
- กรรมวิธีที่ 2 แช่น้ำอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 นาที
- กรรมวิธีที่ 3 แช่น้ำอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 นาที
- กรรมวิธีที่ 4 แช่น้ำอุณหภูมิห้อง ระยะเวลา 4 นาที (กรรมวิธีควบคุม)

4.1 เตรียมเชื้อรา *C. eragrostidis* โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน ตัดเส้นใยเชื้อราขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร

4.2 เตรียมดอกกล้วยไม้สกุลหวายโดยคัดขนาดข้อให้มีดอกบาน 3 ใน 4 ของช่อดอก ฉีดพ่นด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อผึ้งให้แห้ง

4.3 เตรียมสารละลายสปอร์เชื้อรา *C. eragrostidis* ความเข้มข้น 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร มาสเปอร์บบนกลีบดอกกล้วยไม้นำไปบ่มในถุงพลาสติกที่ให้ความชื้น เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.4 นำดอกกล้วยไม้ที่ได้มาแช่ในน้ำอุณหภูมิต่างๆ ตามกรรมวิธีข้างต้น เป็นเวลา 4 นาทีแล้วนำไปแช่ในน้ำกลั่นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสทันที ผึ่งพดลมให้แห้ง เก็บที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

4.5 บันทึกผลการทดลองวันที่ 5 และ 10 วัน การเกิดโรค การเปลี่ยนสีกลีบ การดูต้น การสูญเสียน้ำหนัก และอายุการปักแจกัน

เวลาและสถานที่

ปีที่เริ่มต้น 2557 ปีที่สิ้นสุด 2558 ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

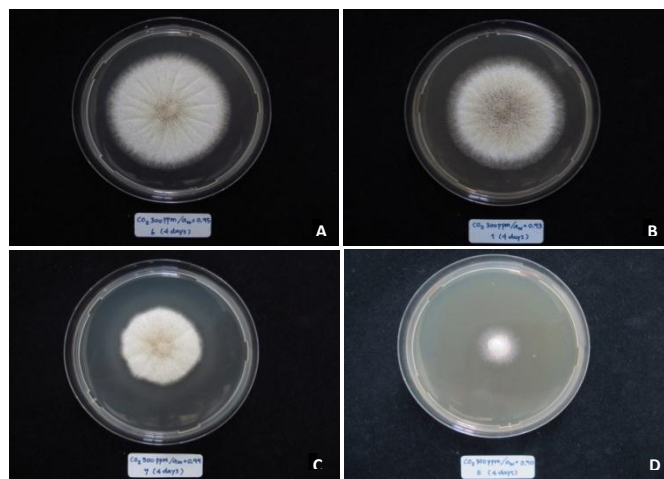
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ได้เชื้อรา *A. niger* ปริสุทธิ์สำหรับการทดลองในสภาพอากาศต่างๆ ซึ่งแยกเชื้อราได้จากเมล็ดกาแฟดิบ (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 เชื้อรา *Aspergillus niger* ที่เจริญบนกาแฟสดนำมาทดสอบการปนเปื้อน

ทำการทดสอบสูตรอาหาร Yeast Extract Sucrose agar (YES agar) ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเชื้อราในการสร้างสาร secondary metabolites ให้มีปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ตามกรรมวิธีที่ได้กำหนดไว้ โดยการใช้กลีเซอรอล และน้ำในการปรับสูตรอาหารให้มี a_w 7 ระดับ คือ 0.75, 0.80, 0.85, 0.90, 0.93, 0.95 และ 0.99 และจากการทดลองที่อุณหภูมิ 25°C ปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 300 ppm พบว่าที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.93, 0.95 และ 0.99 ที่ระยะ 2 วัน *A. niger* เริ่มสร้างเส้นใย ขนาดโคโลนีบนอาหารมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.93-2.54 เซนติเมตร โดย *A. niger* จะเจริญได้ดีที่ a_w 0.93, 0.95 และ 0.99 โดยมีขนาดโคโลนีเฉลี่ย 2.41, 2.38 และ 1.96 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.75, 0.80, 0.85, 0.90 ยังไม่พบการเจริญของเชื้อรา แต่ที่ระยะ 4 วัน ปริมาณน้ำอิสระ 0.90 เชื้อราจึงเริ่มการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ย 1.84 เซนติเมตร และที่ a_w 0.95 เชื้อรา *A. niger* มีอัตราการเจริญสูงกว่าที่ a_w 0.93 และ 0.99 โดยมีขนาดโคโลนีเฉลี่ย 6.52, 6.21 และ 4.16 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 เชื้อรา *Aspergillus niger* ที่เจริญบนอาหาร YES agar ที่อุณหภูมิ 25°C ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 300 ppm ระยะ 4 วัน โดยมีปริมาณน้ำอิสระที่ระดับแตกต่างกัน (A) a_w 0.95, (B) a_w 0.93, (C) a_w 0.99 และ (D) a_w 0.90

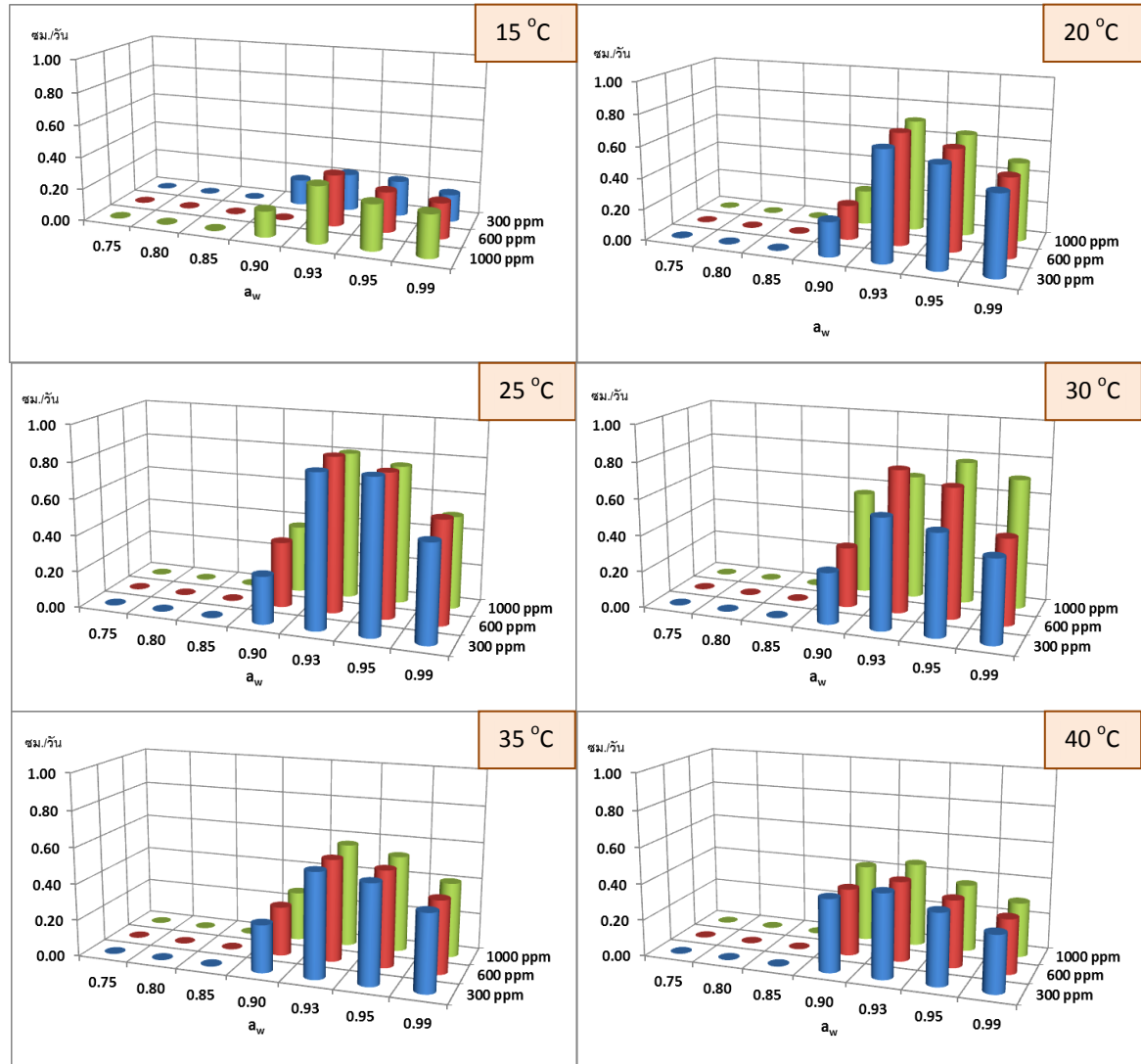
ในส่วนของการทดสอบที่อุณหภูมิ 25 °C ปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 1,000 ppm ที่ระยะ 2 วัน พบว่าที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.93, 0.95, 0.99 และ 0.90 เชื้อรา *A. niger* สร้างเส้นใยและเจริญได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 300 ppm โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 2.98, 2.73, 2.29 และ 1.05 เซนติเมตร ตามลำดับ และที่ระยะ 6 วัน เชื้อรา *A. niger* มีอัตราการเจริญสูงเฉลี่ย 7.55, 7.29, 4.65 และ 3.45 เซนติเมตร ที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.93, 0.95, 0.99 และ 0.90 ตามลำดับ (ภาพที่ 10)



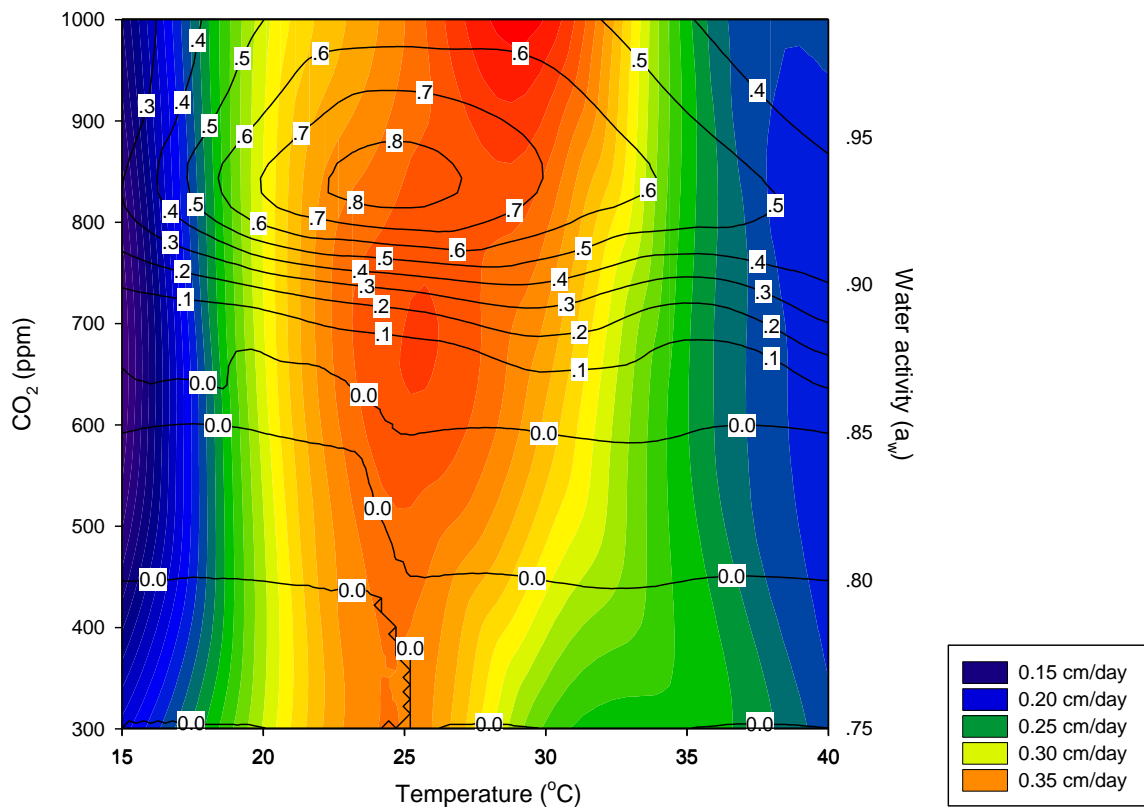
ภาพที่ 10 การสร้างเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนอาหาร YES agar ที่อุณหภูมิ 25°C ปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 1,000 ppm ที่ระยะ 6 วัน ปริมาณน้ำอิสระ (A) 0.93, (B) 0.90, (C) 0.95 และ (D) 0.99

อัตราการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในสภาพบรรยากาศต่างๆ พบว่า เชื้อรา *A. niger* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25°C ที่ระดับปริมาณน้ำอิสระ 0.93, 0.95, 0.99 และ 0.90 ใน ทุกระดับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (300, 600 และ 1,000 ppm) มีอัตราการเจริญของเส้นใยสูงสุดเฉลี่ย 0.83, 0.79, 0.54 และ 0.33 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ โดยเชื้อรา *A. niger* จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 20-40°C ปริมาณน้ำอิสระ 0.90-0.99 และที่ระดับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 300, 600 และ 1,000 ppm โดยภาพรวมของอัตราการเจริญของเชื้อราพบว่า *A. niger* จะเจริญได้ดีที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.93, 0.95, 0.99 และ 0.90 ตามลำดับ ในช่วงปริมาณน้ำอิสระ 0.75-0.85 เชื้อรา *A. niger* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ และที่อุณหภูมิ 15°C เชื้อรามีอัตราการเจริญต่ำสุดเฉลี่ย 0.1-0.3 เซนติเมตรต่อวัน (ภาพที่ 11) และเมื่อนำข้อมูลที่ทำได้ทำ contour map เพื่อดูอิทธิพลผลของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *A. niger* พบว่า เชื้อราจะเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 17-38°C ปริมาณน้ำอิสระ 0.87-0.99 ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 300-1000 ppm และเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 24-32°C ปริมาณน้ำอิสระ 0.89-0.99

ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 800-1000 ppm โดยมีอัตราการเจริญของเชื้อรา *A. niger* บนอาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่า 0.3 เซนติเมตรต่อวัน (ภาพที่ 12)

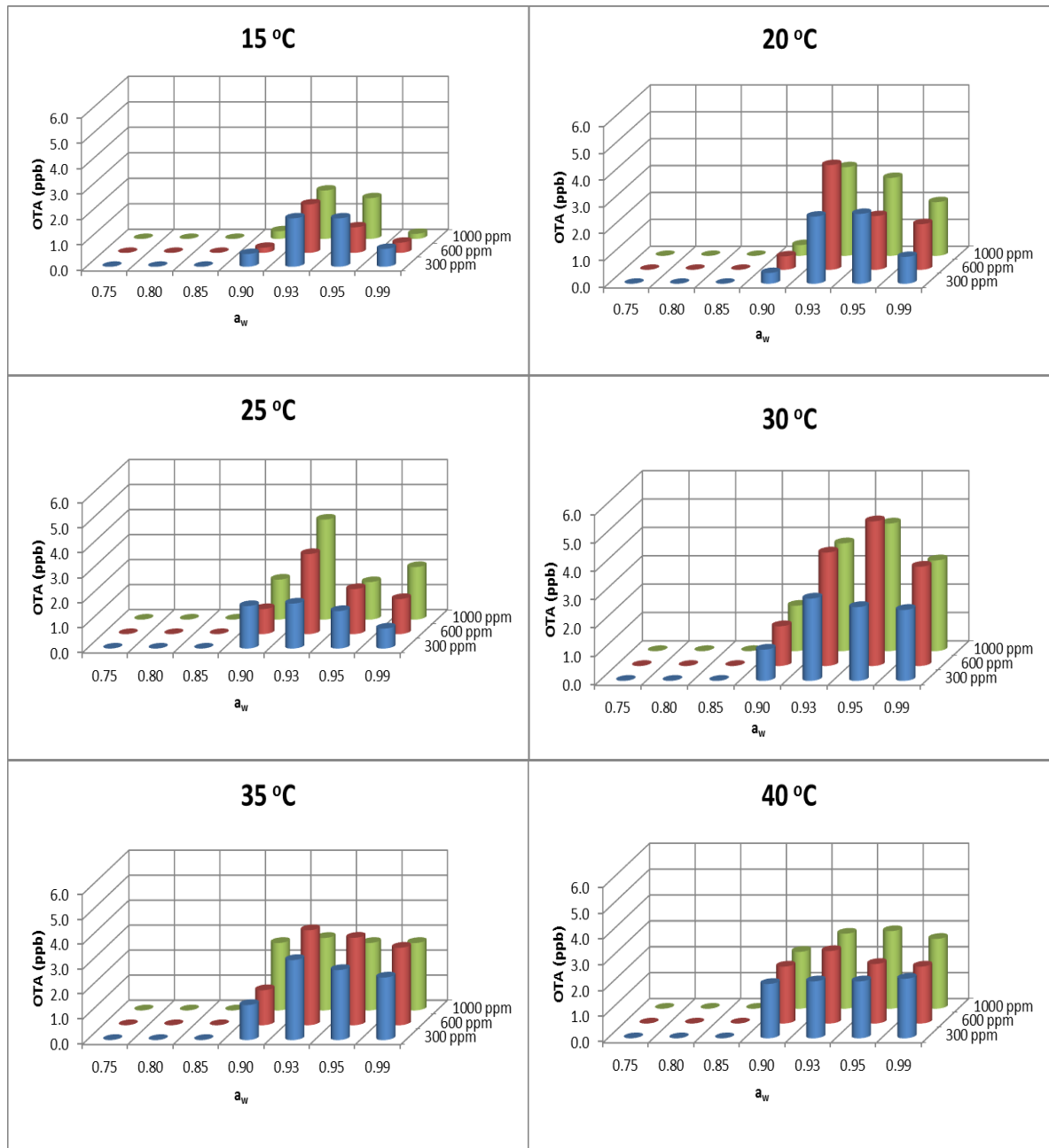


ภาพที่ 11 อัตราการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* (เซนติเมตรต่อวัน) ที่สภาพบรรยากาศ (ปริมาณน้ำอิสระ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ และอุณหภูมิ) แตกต่างกัน

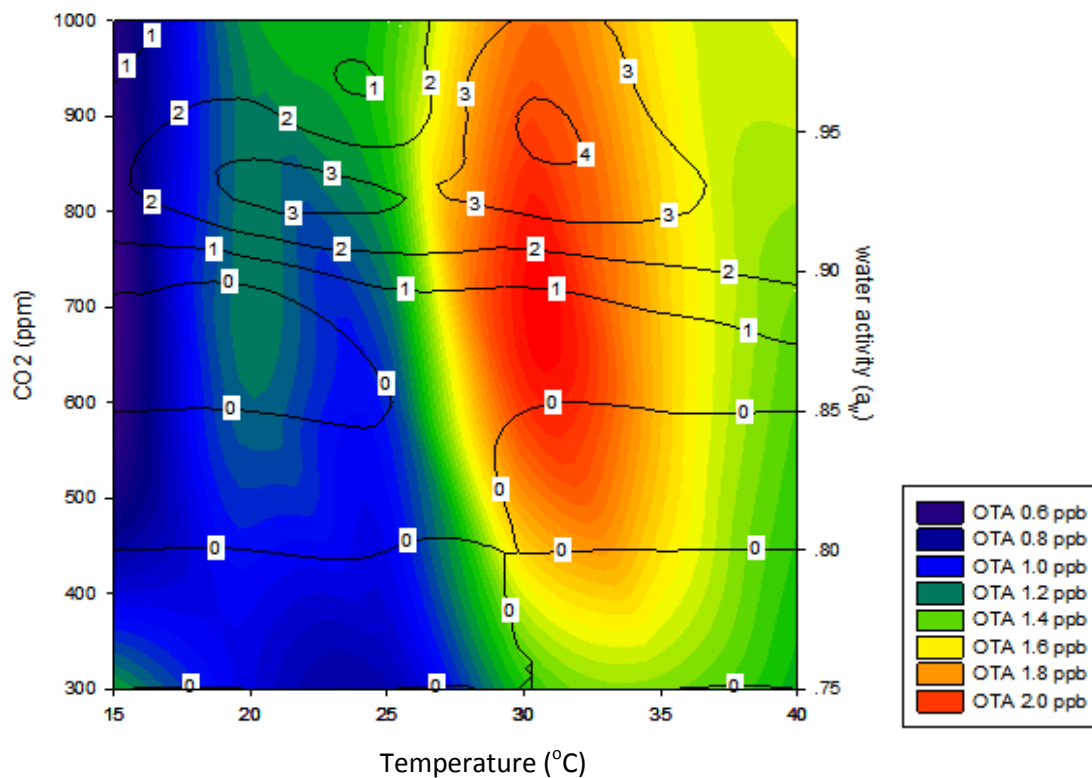


ภาพที่ 12 อิทธิพลของอุณหภูมิ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ และปริมาณน้ำอิสระ ที่มีผลต่ออัตราการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* (เซนติเมตรต่อวัน)

จากการทดสอบปริมาณสารไอคราทอกซิน เอ ที่เชื้อรา *A. niger* สร้างในอาหาร YES agar ที่สภาพบรรยากาศแตกต่างกัน พบว่า *A. niger* สามารถสร้างสารไอคราทอกซิน เอ ได้ทุกช่วงอุณหภูมิ (15-40°C) โดยจะสร้างสารไอคราทอกซิน เอ สูงที่อุณหภูมิ 30°C ปริมาณน้ำอิสระมีผลต่อการสร้างสารพิษของเชื้อรา พบว่าในทุกระดับอุณหภูมิ และทุกระดับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ทดสอบ เชื้อรา *A. niger* สร้างสารพิษได้ที่ระดับปริมาณน้ำอิสระ 0.90-0.99 โดยสร้างสารพิษเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.2-5.1 ppb ในส่วนของปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์พบว่า ที่ 600 และ 1,000 ppm ที่ช่วงอุณหภูมิ 25-40°C เชื้อรา *A. niger* สร้างสารไอคราทอกซิน เอ เฉลี่ยสูงกว่าที่ระดับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 300 ppm (ภาพที่ 13) และเมื่อพิจารณาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสารไอคราทอกซิน เอ ของเชื้อรา *A. niger* พบว่า เชื้อรา มีการสร้างสารพิษได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30-37°C ระดับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 800-1000 ppm และ ระดับปริมาณน้ำอิสระ 0.90-0.99 โดยสร้างสารไอคราทอกซิน เอ มากกว่า 2 ppb (ภาพที่ 14)

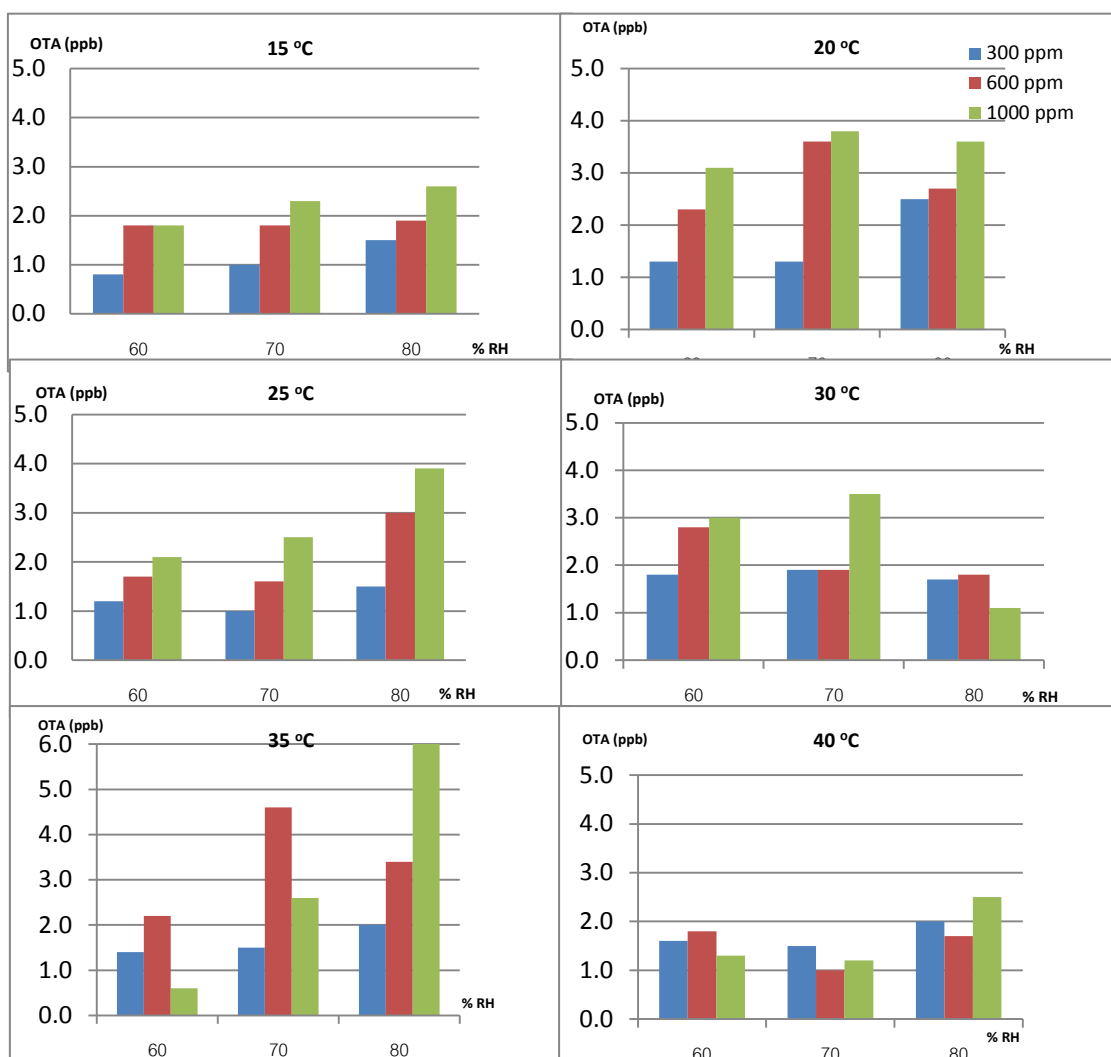


ภาพที่ 13 ปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ ที่สร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus niger* ที่สภาพบรรยากาศ (ปริมาณน้ำอิสระ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ และอุณหภูมิ) แตกต่างกัน



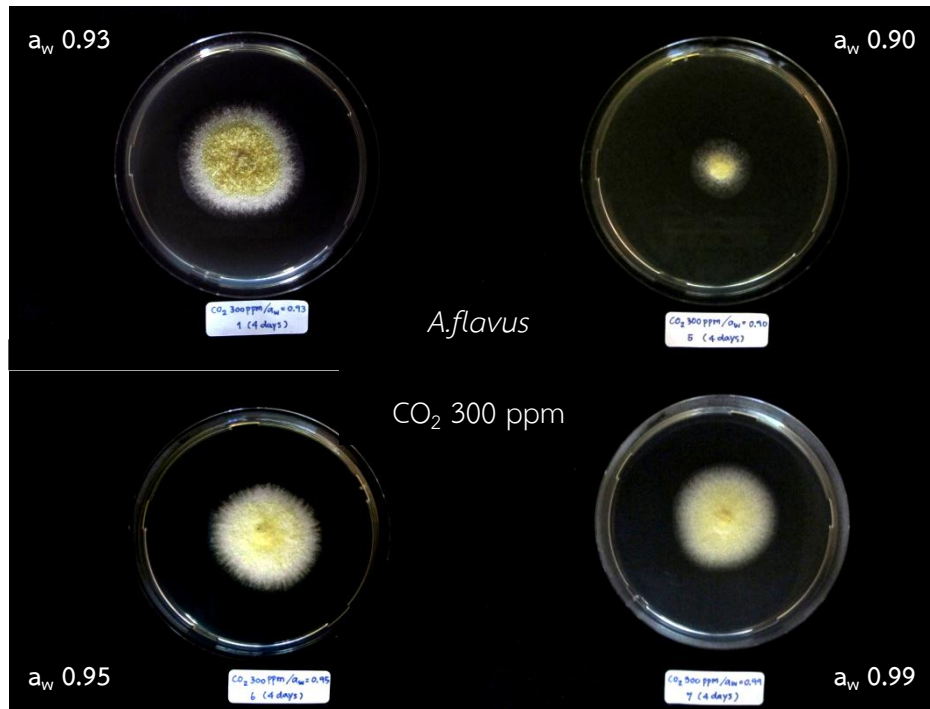
ภาพที่ 14 อิทธิพลของอุณหภูมิ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ และปริมาณน้ำอิสระ ที่มีผลต่อการสร้างสารโอคราทอกซิน เอ ของเชื้อรา *Aspergillus niger*

การทดสอบการสร้างสารโอคราทอกซิน เอ ของเชื้อรา *A. niger* ในกาแฟสาร (ความชื้นเมล็ด 6.22%) ที่สภาพบรรยากาศแตกต่างกันพบว่า เชื้อรา *A. niger* สร้างสารโอคราทอกซิน เอ ในกาแฟสารได้ในช่วงอุณหภูมิ 15-40°C โดยสร้างสารพิษในระดับต่ำที่อุณหภูมิ 15 และ 40°C ระดับความชื้นสัมพัทธ์ที่ 70 และ 80% ส่วนใหญ่เชื้อราจะสร้างสารพิษได้ดีกว่าที่ความชื้นสัมพัทธ์ 60% และ ในสภาพบรรยากาศที่มีช่วงอุณหภูมิ 15-40°C ระดับความชื้นสัมพัทธ์ 60-80% ระดับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 300, 600 และ 1000 ppm *A. niger* สร้างสารโอคราทอกซิน เอ อยู่ระหว่าง 0.6-7.2 ppb ในภาพรวมพบว่าสภาพบรรยากาศที่มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 600 และ 1000 ppm *A. niger* สร้างสารโอคราทอกซิน เอ ได้มากกว่าที่ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ 300 ppm (ภาพที่ 15)

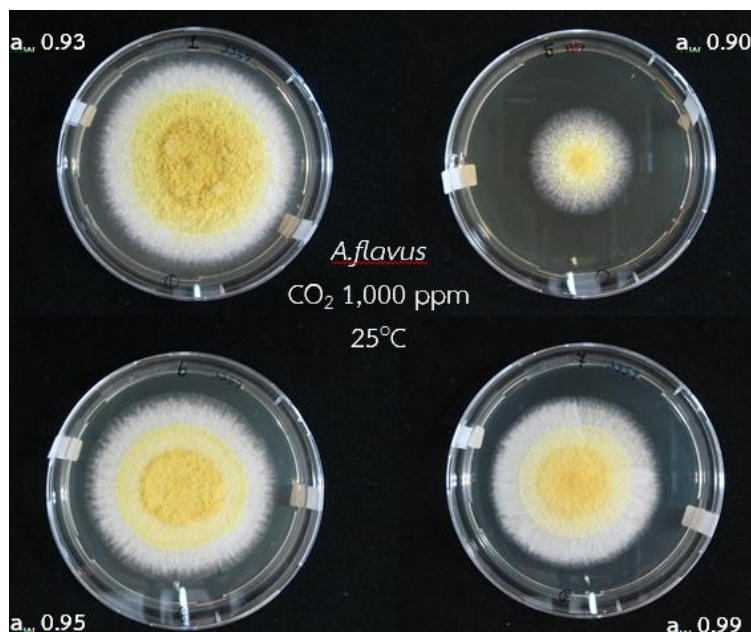


ภาพที่ 15 ปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ ที่สร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus niger* ในกาแฟ ที่สภาพบรรยากาศ (ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ และอุณหภูมิ) แตกต่างกัน

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญและผลิตสารแอฟลาทอกซิน ปี1 ของเชื้อรา *A. flavus* จากการทดลองที่อุณหภูมิ 25°C ปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 300 และ 1,000 ppm พบว่าที่ a_w 0.90, 0.93, 0.95 และ 0.99 ที่ระยะ 6 วัน เชื้อราเริ่มสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ขนาดโคโลนีของเชื้อราในอาหาร a_w 0.93 0.95 และ 0.99 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใกล้เคียงกัน แต่พบเส้นใยที่ a_w 0.93 มีความยาวกว่าที่ a_w 0.95 และ 0.99 ตามลำดับ (ภาพที่ 16) ในขณะที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.75, 0.80, 0.85 ยังไม่พบการเจริญของเชื้อรา อย่างไรก็ตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราที่ 1,000 ppm (ภาพที่ 17) มีขนาดใหญ่กว่าเชื้อราที่เลี้ยงใน a_w เดียวกันในสภาพที่มี CO₂ 300 ppm



ภาพที่ 16 ขนาดและลักษณะของเชื้อ *Aspergillus flavus* อายุ 6 วัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Sucrose Agar (YES) ที่ระดับปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ที่ 0.93 0.90 0.95 และ 0.99 ในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 300 ppm และอุณหภูมิ 25°C



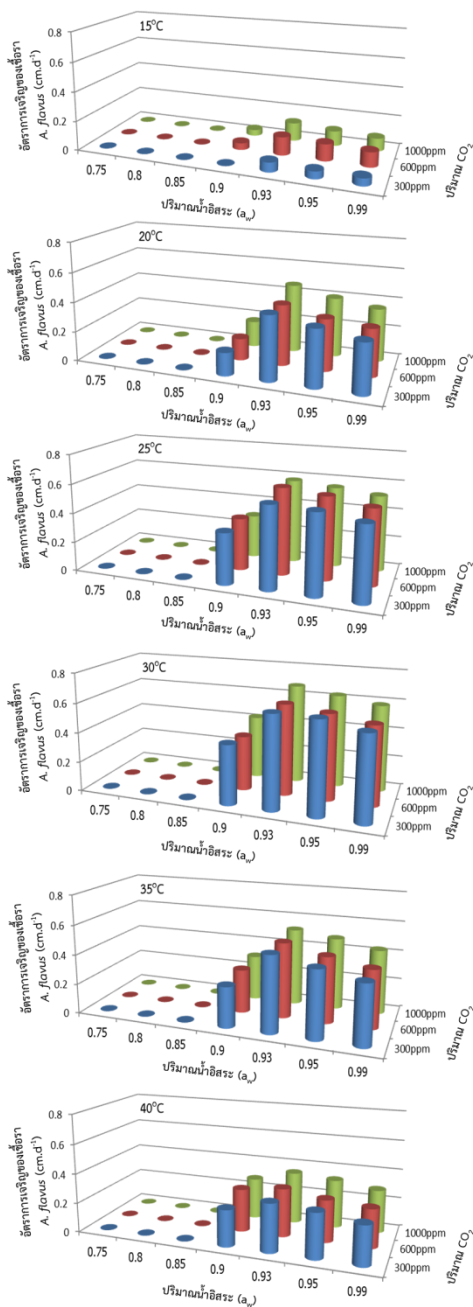
ภาพที่ 17 ขนาดและลักษณะของเชื้อ *Aspergillus flavus* อายุ 6 วัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Sucrose Agar (YES) ที่ระดับปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ที่ 0.93 0.90 0.95 และ 0.99 ในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 1,000 ppm และอุณหภูมิ 25°C

ปริมาณน้ำอิสระที่ต่ำกว่า 0.90 (a_w 0.75-0.85) ทำให้เชื้อรา *A. flavus* ไม่เจริญเติบโตและไม่สร้างสารพิษ ถึงแม้ว่าเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารที่มี a_w ตั้งแต่ 0.95 มีขนาดรศมีใกล้เคียงกับเชื้อราที่เลี้ยงใน 0.93-0.95 แต่เชื้อราที่เจริญในอาหาร a_w สูงกว่า 0.95 มีเส้นใยบางและจำนวนน้อยกว่า สำหรับการผลิตสารพิษพบว่าเชื้อราที่ปริมาณน้ำอิสระที่ 0.93-0.95 ในทุกอุณหภูมิมีการสร้างสารแอฟลาทอกซินสูงกว่าปริมาณน้ำอิสระระดับอื่น สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญและสร้างสารพิษของ *A. flavus* คือ 25-35°C (ภาพที่ 18) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Abdel-Hadi *et al.* (2012) ที่รายงานว่าเชื้อรา *A. flavus* เจริญได้ดีตั้งแต่อุณหภูมิ 25°C และลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 35°C นอกจากนี้ Abdel-Hadi ยังพบว่าเชื้อราในอาหารที่มีปริมาณน้ำอิสระสูงกว่ามีอัตราการเจริญดีกว่าในอาหารที่มีปริมาณน้ำอิสระต่ำ

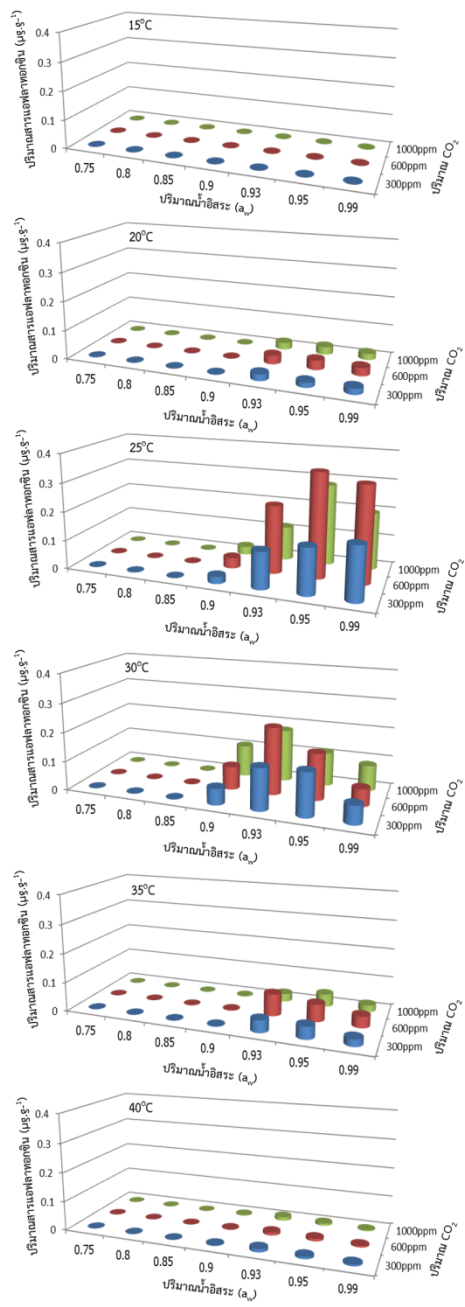
อย่างไรก็ตาม Abdel-Hadi พบว่าปริมาณสารแอฟลาทอกซิน ปี1 ในอาหารที่มีปริมาณน้ำอิสระ 0.99 มีค่ามากกว่าระดับอื่น ซึ่งไม่เป็นไปตามผลการทดลองที่ได้ในการทดลองนี้ ทั้งนี้อาจเป็นผลจากอาหารที่มีปริมาณน้ำอิสระสูงมาก ทำให้เชื้อราที่มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกัน มีจำนวนเส้นใยน้อย ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไป อาจส่งผลต่อการสร้างสารพิษที่น้อยลงของเชื้อราในการทดลองนี้

ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไม่มีผลต่อการเจริญ แต่มีผลต่อปริมาณสารแอฟลาทอกซินของเชื้อ *A. flavus* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Medina *et al.* (2014) ที่เลี้ยง *A. flavus* ในอาหารและเก็บในภาชนะปิดที่มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 350 650 และ 1,000 ppm พบว่า *A. flavus* ในแต่ละระดับ CO₂ สร้างสารแอฟลาทอกซินแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งอธิบายว่าปริมาณ CO₂ ที่สูงขึ้นร่วมกับระดับของอุณหภูมิและปริมาณน้ำอิสระมีผลต่อการแสดงออกของยีนสำคัญ 2 ตัวในกระบวนการสร้างสารแอฟลาทอกซิน ได้แก่ aflD และ aflR

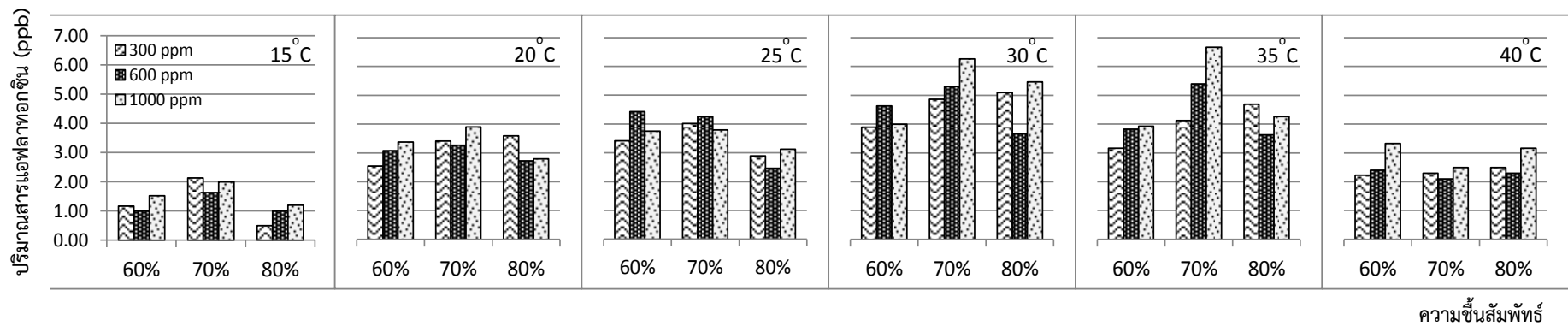
อัตราการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* (ชม./วัน)



ปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่สร้างโดย *A. flavus*



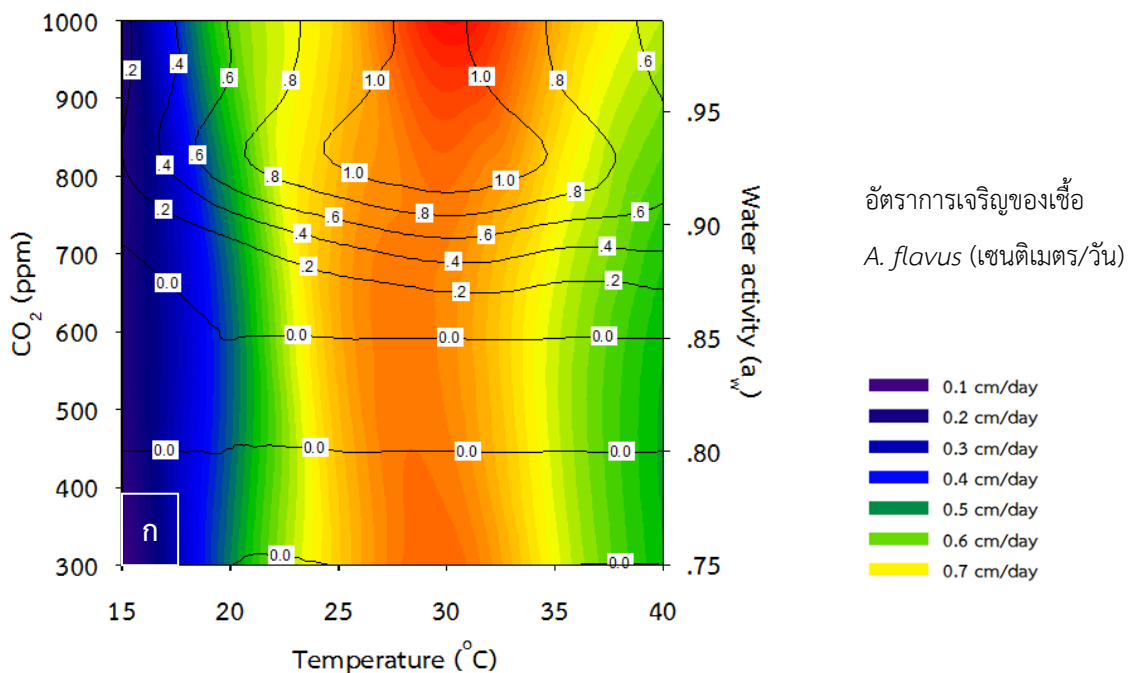
ภาพที่ 18 อัตราการเจริญของเชื้อ *A. flavus* (เซนติเมตรต่อวัน) และปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่เชื้อราสร้างในสภาพที่มีปริมาณน้ำอิสระ ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และอุณหภูมิต่างๆ

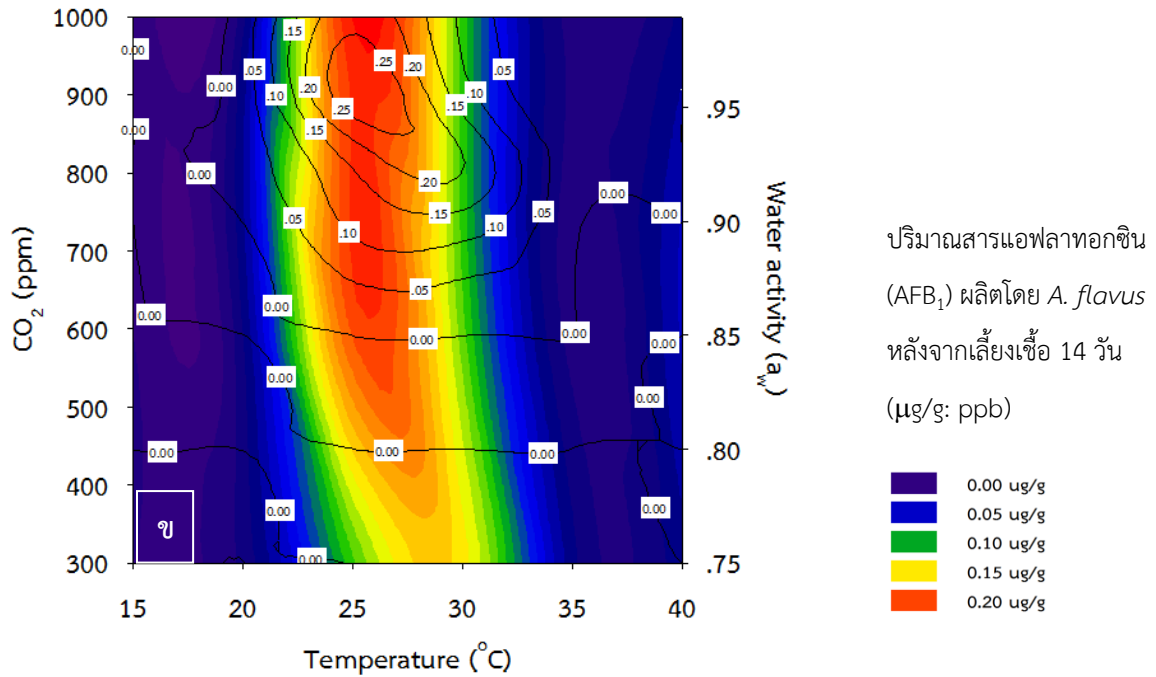


ภาพที่ 19 ปริมาณสารแอฟลาทอกซินในถั่วลิสงที่มีเชื้อรา *A. flavus* ปนเปื้อน ณ อุณหภูมิ 15 20 25 30 35 และ 40°C โดยแต่ละอุณหภูมิมีความชื้นสัมพัทธ์ 60 70 และ 80%RH และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 300 600 และ 1,000 ppm

การทดสอบการสร้างสารแอฟลาทอกซิน ของเชื้อรา *A. flavus* ในถั่วลิสง (ความชื้นเมล็ด 5.62%) ที่เก็บรักษาในสภาพบรรยากาศแตกต่างกัน พบว่า ถั่วลิสงที่มีเชื้อ *A. flavus* ปนเปื้อนและเก็บที่อุณหภูมิ 25-35°C มีปริมาณสารแอฟลาทอกซินสูงกว่าอุณหภูมิ อื่น โดยที่ 30°C มีปริมาณสารแอฟลาทอกซินสูงที่สุด สำหรับความชื้นสัมพัทธ์พบว่า มีผลต่อการสร้างสารแอฟลาทอกซิน โดยถั่วลิสงปนเปื้อนรา *A. flavus* เก็บรักษาที่ 70 %RH มีปริมาณสารแอฟลาทอกซินสูงที่สุด ตามด้วย 80 และ 60 %RH นอกจากนี้พบว่าปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้มข้น 0.03 0.06 และ 0.10% ไม่มีผลต่อการสร้างสารแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* ในถั่วลิสง (ภาพที่ 17)

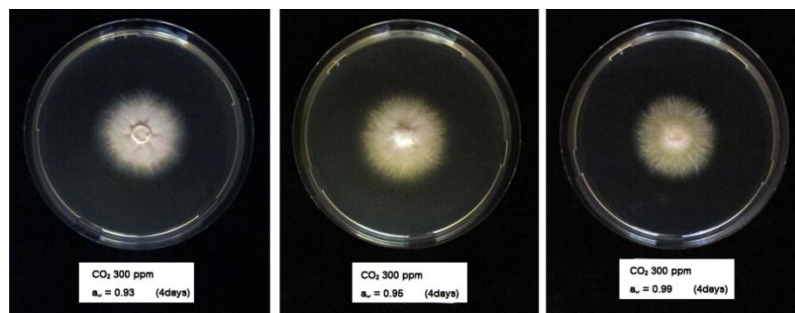
หลังจากนั้นนำผลการทดลองจัดทำแผนภาพ Contour เพื่อแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงระดับอุณหภูมิ ปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ต่อการเจริญและการสร้างสารแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* (ภาพที่ 19) โดยสรุปได้ว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 23-35°C ปริมาณน้ำอิสระ 0.90-0.93 และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นถึง 0.01% ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ เชื้อราয়เจริญได้ตามปกติ (ภาพที่ 20ก) แต่เมื่อศึกษาอิทธิพลของปัจจัย 3 ปัจจัยข้างต้นต่อปริมาณสารแอฟลาทอกซิน พบว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสารแอฟลาทอกซินอยู่ในช่วง 25-30°C ปริมาณน้ำอิสระ 0.93-0.98 และปริมาณสาร แอฟลาทอกซินมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อปริมาณ CO₂ เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 20ข) โดย Medina *et al.* (2014) พบว่าอิทธิพลร่วมของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ water stress และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อ gene expression (aflD, aflR) และการผลิตสารพิษของเชื้อรา *A. flavus* โดยเชื้อที่เลี้ยงที่ 37°C / a_w 0.92-0.95 / CO₂ 650 -1,000 ppm ผลิตสารพิษมากกว่าที่ a_w 0.99 / CO₂ 350 ppm



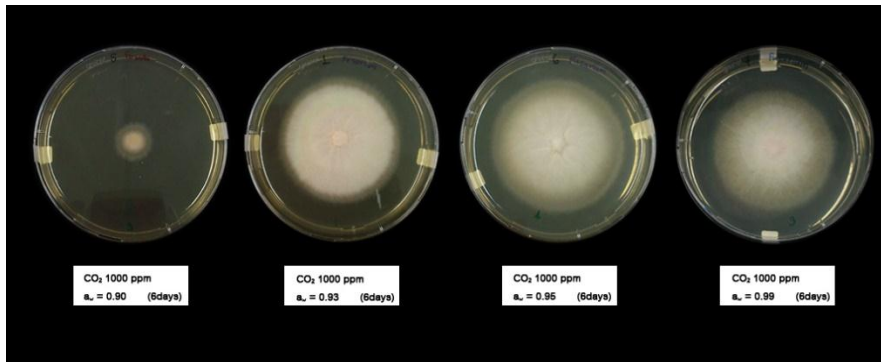


ภาพที่ 20 อิทธิพลของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำอิสระ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ต่อการเจริญของเชื้อ *Aspergillus flavus* (ก) และการปริมาณสารแอฟลาทอกซิน บี1 (ข) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Sucrose Agar (YES) เป็นเวลา 14 วัน

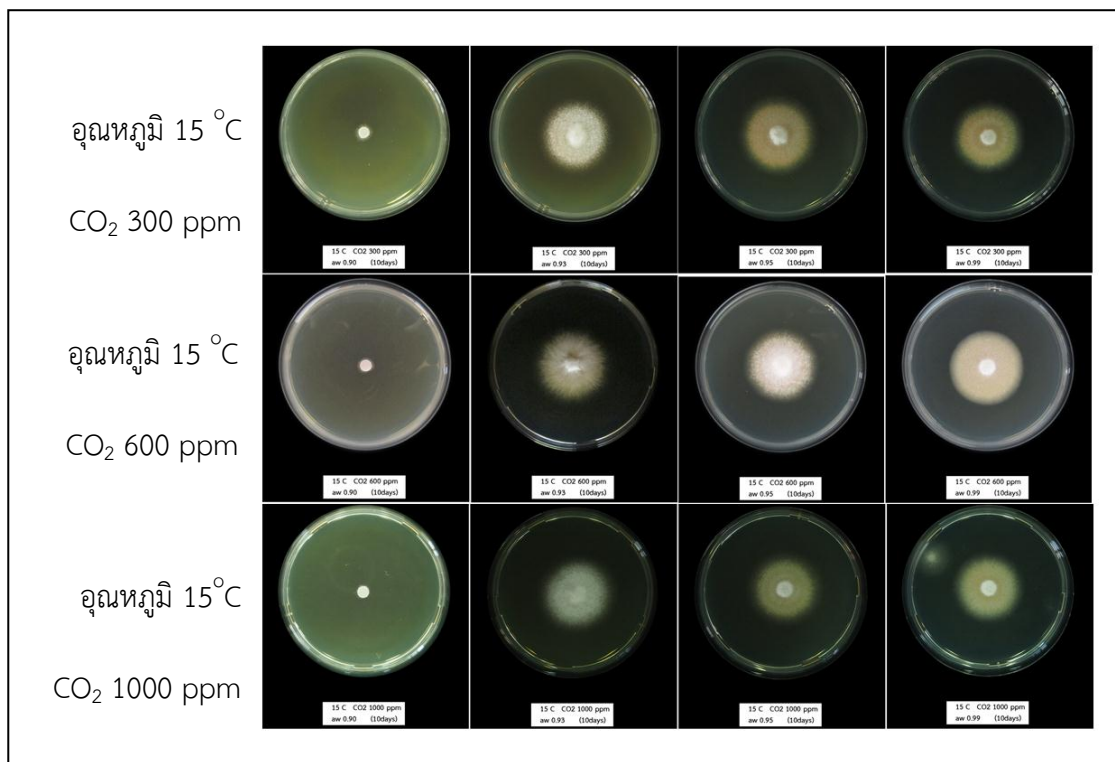
ในการทดลองที่ 1.3 ทำการทดสอบสูตรอาหารให้มีปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ตามกรรมวิธีที่ได้กำหนดไว้ โดยการใช้กลีเซอรอล และน้ำในการปรับสูตรอาหาร และจากการทดลองที่อุณหภูมิ 25°C ปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 300 และ 1,000 ppm พบว่าที่ระยะ 2 วัน ปริมาณน้ำอิสระ 0.93, 0.95 และ 0.99 เชื้อราจะเริ่มสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และระยะ 4 วัน ที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.90 เชื้อราเริ่มสร้างเส้นใย (ภาพที่ 21) ระยะ 6 วัน ที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.95 เชื้อราสามารถเจริญได้ดีที่สุด (ภาพที่ 22) ในขณะที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.75, 0.80 และ 0.85 ไม่พบการเจริญของเชื้อรา



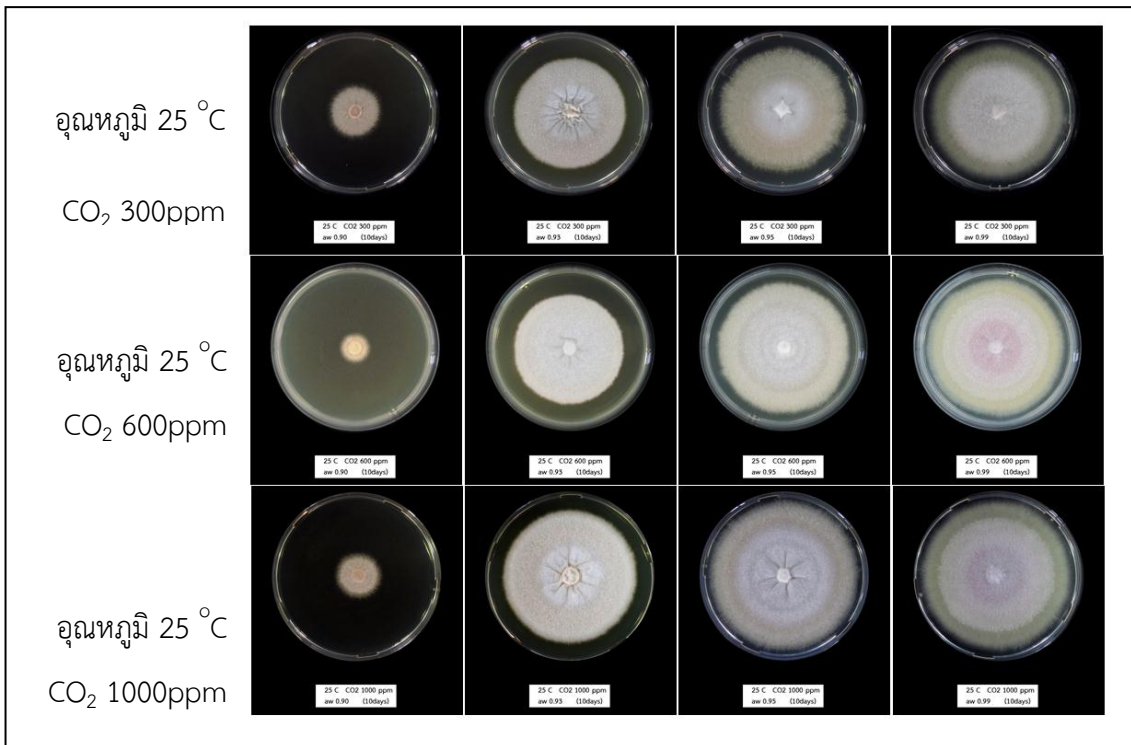
ภาพที่ 21 การเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ที่อุณหภูมิ 25°C ความเข้มข้นของ CO₂ 300 ppm ระยะเวลา 4 วัน



ภาพที่ 22 การเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ที่อุณหภูมิ 25°C ความเข้มข้นของ CO₂ 1,000 ppm ระยะเวลา 6 วัน



ภาพที่ 23 การเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* ที่อุณหภูมิ 15°C ระยะเวลา 10 วัน

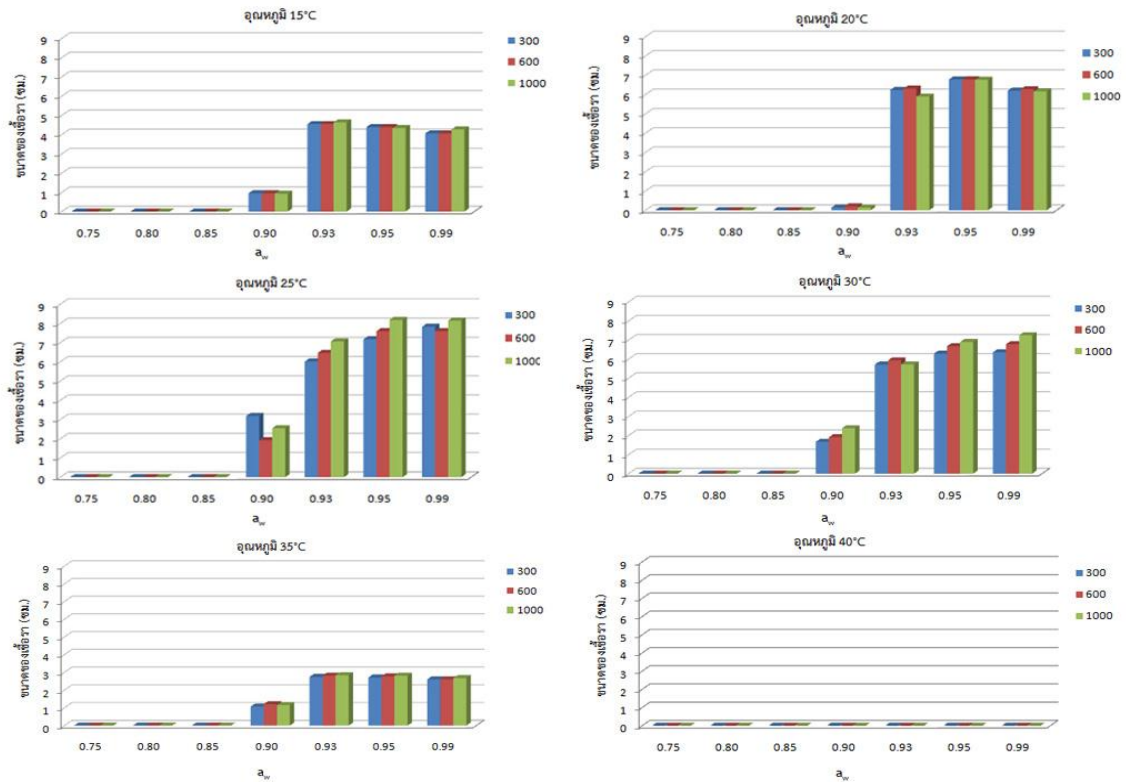


ภาพที่ 24 การเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* ที่อุณหภูมิ 25°C ระยะเวลา 10 วัน

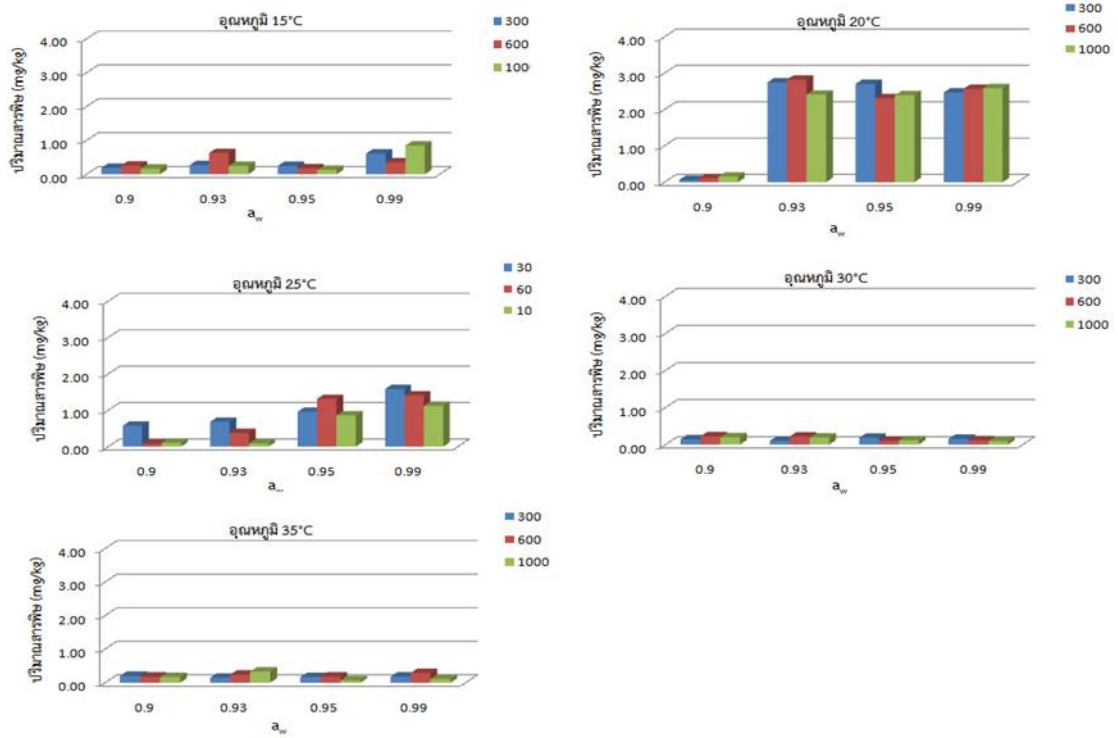
การเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. moniliforme* ที่ระยะเวลา 10 วัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Sucrose Agar (YES) ภายใต้อุณหภูมิต่างๆ พบว่า เชื้อรามีอัตราการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25 20 30 และ 15°C ตามลำดับ ขณะที่อุณหภูมิ 35°C เชื้อราเจริญได้น้อย และที่อุณหภูมิ 40°C ไม่พบการเจริญของเชื้อรา ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ในระดับ 0.75-0.85 ทำให้เชื้อรา *F. moniliforme* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ โดยพบว่า เชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ในระดับ a_w 0.90-0.99 และเจริญเติบโตได้ดีที่ a_w 0.99 0.95 0.93 และ 0.90 ตามลำดับ ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 1000 ppm ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราสูงกว่าที่ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 600 และ 300 ppm (ภาพที่ 23, 24 และ 25)

การสร้างสารพิษของเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า เชื้อราสร้างสารพิษได้ดีที่อุณหภูมิ 20°C ขณะที่อุณหภูมิ 30°C ขึ้นไป เชื้อราสร้างสารพิษน้อยลง ปริมาณน้ำอิสระต่อการสร้างสารพิษของเชื้อรา พบว่า เชื้อราสร้างสารพิษได้ดีที่ a_w 0.99 0.95 0.93 และ 0.90 ตามลำดับ ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการสร้างสารพิษของเชื้อราที่อุณหภูมิ 20°C พบว่าที่ a_w 0.99 ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่แตกต่างกันทำให้การสร้างสารพิษไม่แตกต่างกัน ที่ a_w 0.95 ปริมาณก๊าซ

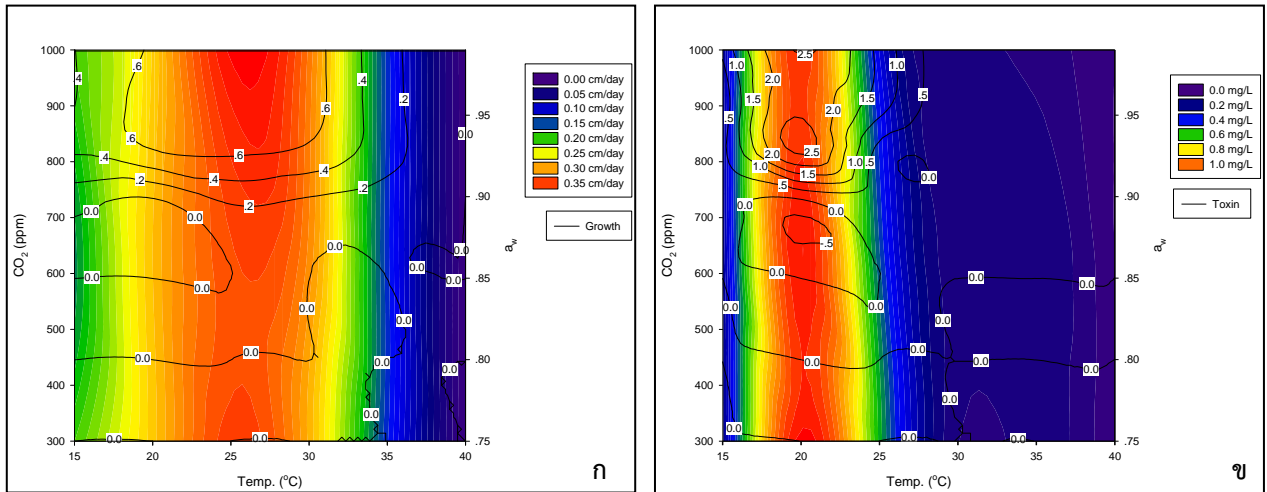
คาร์บอนไดออกไซด์ 300 ppm เชื้อราสามารถสร้างสารพิษได้สูงสุด และที่ a_w 0.93 ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 600 ppm เชื้อราสามารถสร้างสารพิษได้สูงสุด (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 25 การเจริญเติบโตของเชื้อราที่ระยะเวลา 10 วัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Sucrose Agar (YES) ภายใต้อุณหภูมิ ปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณ CO₂ ต่างกัน



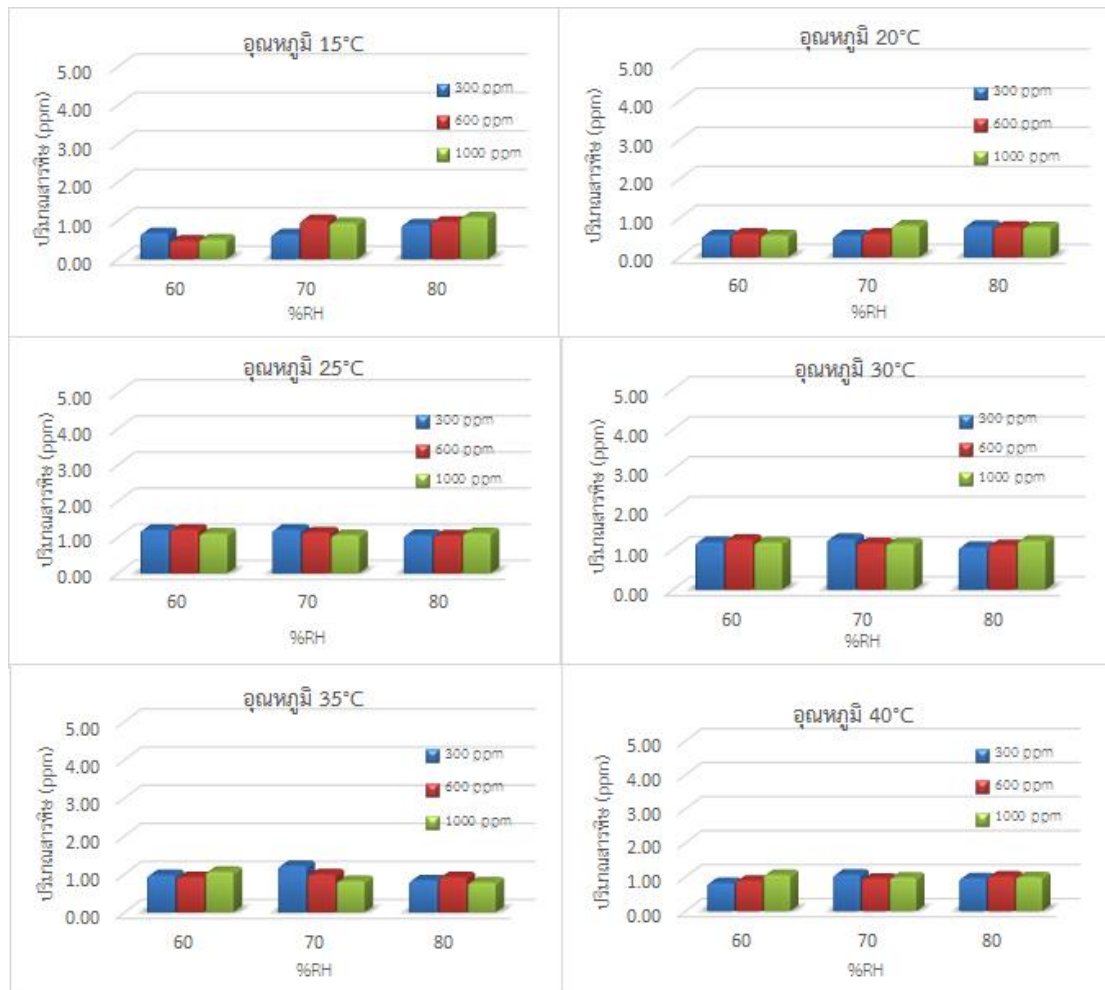
ภาพที่ 26 การสร้างสารพิษของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Sucrose Agar (YES) ภายใต้อุณหภูมิ ปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณ CO₂ ต่างกัน



ภาพที่ 27 อิทธิพลของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. moniliforme* (ก) และการสร้างสารพิษฟูโมนิซิน (ข) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Sucrose Agar (YES)

เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาจัดทำแผนภาพแบบโครงร่าง (contour graph) เพื่อแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ ปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. moniliforme* และการสร้างสารพิษฟูโมนิซิน (ภาพที่ 27) สรุปได้ว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 18 – 32°C ปริมาณน้ำอิสระ 0.90 – 0.99 และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 300 – 1,000 ppm เชื้อรามีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 27ก) สำหรับผลต่อการสร้างสารพิษฟูโมนิซิน พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสารพิษอยู่ในช่วง 17- 24°C ปริมาณน้ำอิสระ 0.91 – 0.99 และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อการสร้างสารพิษฟูโมนิซิน (ภาพที่ 27ข)

สำหรับการสร้างสารพิษของเชื้อราในเมล็ดข้าวโพดบด (ความชื้นเมล็ด 7.08%) ภายใต้ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แตกต่างกัน พบว่า ที่อุณหภูมิ 15°C เชื้อรามีการสร้างสารพิษในปริมาณมากขึ้นเมื่อความชื้นสูงขึ้น และที่อุณหภูมิ 25 และ 30°C พบการสร้างสารพิษในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 28 การสร้างสารพิษของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ในเมล็ดข้าวโพดบด ภายใต้ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณ CO₂ ต่างกัน

สำหรับการศึกษาโรคจุดสนิมในกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก มีผลการวิจัยดังนี้

1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นในแปลงเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้ส่งออก

เก็บข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้น pH น้ำ และดอกกล้วยไม้สกุลหวายจากแปลงเกษตรกรปลูกกล้วยไม้เพื่อส่งออก ในจังหวัดนครปฐม อ.ศาลายา และ อ.สามพราน จังหวัดสมุทรสาคร อ.กระทุ่มแบน และ อ.บ้านแพ้ว จังหวัดราชบุรี อ.บ้านโป่ง และ อ.บางแพ รวมจำนวน 6 สวน ราชบุรี ในช่วงเดือน มกราคม มีนาคม และสิงหาคม พ.ศ. 2557 นำมาแยกเชื้อราสาเหตุโรคดอกจุดสนิม พบว่า อุณหภูมิในแปลงอยู่ระหว่าง 29.7-35.9 °C ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศในแปลงอยู่ระหว่าง 41.30-61.70% และค่า pH ของน้ำที่ใช้รดกล้วยไม้อยู่ระหว่าง 7.05-7.45

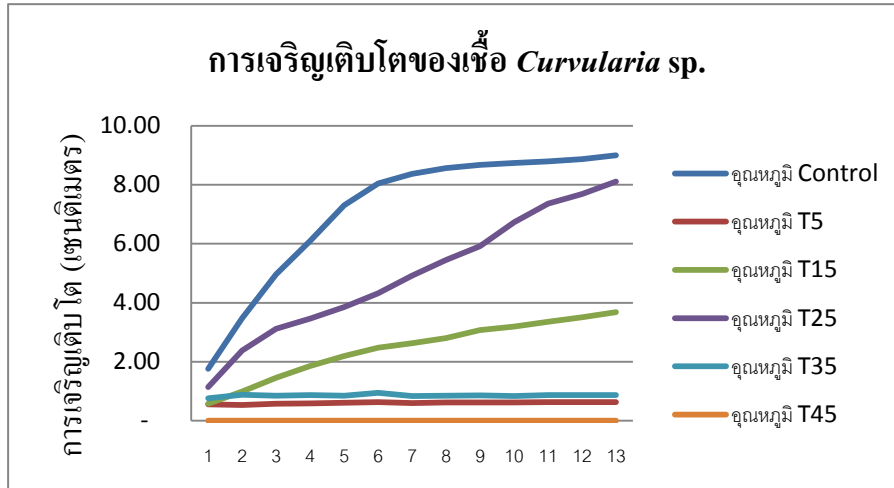
2. จำแนกเชื้อราสาเหตุโรคดอกจูดสนิม *Curvularia eragrostidis*

2.1 นำดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนานจากแปลงเกษตรกร 3 จังหวัด จำนวน 6 สวนมาแยกเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting จากส่วนต่างๆ ที่แสดงอาการของโรค ได้แก่ ก้านดอก กลีบดอก เกสร และก้านช่อดอก พบเชื้อราสาเหตุโรคดอกจูดสนิม *C. eragrostidis* ในส่วนกลีบดอกและก้านดอกมากที่สุดจากแปลงจังหวัดสมุทรสาคร อ. บ้านแพ้ว จังหวัดนครปฐม อ.สามพรานปริมาณที่พบคิดเป็นร้อยละ 33.33 และส่วนเกสรและก้านช่อดอกพบเชื้อราอื่นๆ เช่น *Fusarium* sp. *Colletotrichum* sp. *Alternaria* sp. *Glomerella cingolata* *Nigrospora* sp. และเชื้อแบคทีเรีย รวมคิดเป็นเฉลี่ยร้อยละ 66.67

2.2 พิสูจน์การเกิดโรคดอกจูดสนิม ตามวิธี Koch's postulation บนดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน พบว่าดอกกล้วยไม้แสดงอาการของโรคดอกจูดสนิมที่ดอกเกิดจากเชื้อรา *Curvularia eragrostidis*

3. ศึกษาอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Curvularia eragrostidis* สาเหตุโรคดอกจูดสนิม ที่อุณหภูมิต่างๆ

3.1 ตัดเส้นใยเชื้อรา *C. eragrostidis* ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร PDA 7 วัน ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 25°C มาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 5 15 25 35 และ 45°C วางแผนการทดลองแบบ CRD 6 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 plate เป็นเวลา 14 วัน บันทึกผลการทดลองทุกวันหรือจนเชื้อเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อของชุดควบคุม พบว่า ชุดควบคุมเชื้อรา *C. eragrostidis* เจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ 9.0 เซนติเมตร ที่ 13 วัน ซึ่งอุณหภูมิ 25 15 35 5 และ 45°C มีการเจริญเติบโต 8.10 3.68 0.87 0.63 และ 0 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 29



ภาพที่ 29 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. eragrostidis* สาเหตุโรคบนดอกกล้วยไม้ในสภาพอุณหภูมิต่างๆ
 3.2 ทดสอบผลของอุณหภูมิเก็บรักษาต่อความรุนแรงของโรคดอกจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้ โดยปลูกเชื้อรา *C. eragrostidis* สาเหตุโรคบนดอกกล้วยไม้ ก่อนนำไปเก็บรักษาตามวิธีปฏิบัติที่ผู้ประกอบการใช้ในการผลิตเพื่อการส่งออก

พบว่ากรรมวิธีทำแผลที่ 7 วัน เกิดโรคดอกจุดสนิมร้อยละ 81.73 79.00 62.47 51.60 และ 50.47 อุณหภูมิ 15 5 25 35 และ 30°C ตามลำดับ ซึ่งชุดควบคุมมีดัชนีการเกิดโรคน้อยที่สุดคือ 50.47 เปอร์เซ็นต์ ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคดอกจุดสนิมกล้วยไม้มีความแตกต่างกันระหว่างอุณหภูมิ โดยเกิดโรคระดับปานกลางถึงมาก ส่วนที่ 14 วัน เกิดโรคดอกจุดสนิมร้อยละ 86.53 76.07 67.67 62.87 และ 60.67 อุณหภูมิ 15 25 5 30 และ 35°C ตามลำดับ มีดัชนีการเกิดโรคร้อยละ 86.53 76.07 67.67 และ 60.67 ตามลำดับ ชุดควบคุมแบบไม่ทำแผลมีดัชนีการเกิดโรค 62.87% ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคปานกลางถึงมาก

กรรมวิธีไม่ทำแผลที่ 7 วัน เกิดโรคดอกจุดสนิมร้อยละ 29.40 28.00 26.07 24.07 และ 20.20 ที่อุณหภูมิ 25 35 15 5 และ 30°C ตามลำดับ มีดัชนีการเกิดโรคร้อยละ 24.07 26.07 29.40 28.00 และ 20.20 ตามลำดับ มีระดับความรุนแรงของการเกิดโรคดอกจุดสนิมกล้วยไม้ปานกลางถึงมาก เช่นเดียวกับที่ 14 วัน หลังปลูกเชื้อ ส่วนที่ 14 วัน เกิดโรคดอกจุดสนิมร้อยละ 35.20 33.48 31.80 29.60 และ 29.40 ที่อุณหภูมิ 35 25 15 5 และ 30°C ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ดัชนีการเกิดโรคดอกจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ขาวสนาน (%) ระดับความรุนแรงของการเกิดโรค ซึ่งเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 5 15 25 35 และ 30 (ควบคุม) องศาเซลเซียส วิธีทำแผลและไม่ทำแผล หลังปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วันและ 14 วัน

อุณหภูมิเชื้อ (องศาเซลเซียส)	ดัชนีการเกิดโรค (%)				ความรุนแรงของการเกิดโรค
	ทำแผล		ไม่ทำแผล		
	หลังปลูกเชื้อ 7 วัน	หลังปลูกเชื้อ 14 วัน	หลังปลูกเชื้อ 7 วัน	หลังปลูกเชื้อ 14 วัน	
5	79.00 a ^{1/}	67.67 c	24.07 a	29.60	ระดับมากถึงปานกลาง
15	81.73 a	86.53 a	26.07 a	31.80	ระดับมากถึงปานกลาง
25	62.47 b	76.07 b	29.40 a	33.48	ระดับมากถึงปานกลาง
35	51.60 c	60.67 c	28.00 a	35.20	ระดับมากถึงปานกลาง
30(ชุดควบคุม)	50.47 c	62.87 c	20.20 b	29.40	ระดับมากถึงปานกลาง
c.v.	10.67	12.92	23.02	23.34	
F-test	**	**	**	ns	

^{1/}ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ DMRT ($P \leq 0.05$)

** = significant < 0.01

ns = non-significant

4. ศึกษาการควบคุมโรคดอกจุดสนิมด้วยน้ำอุณหภูมิต่างๆ

4.1 นำสารละลายเชื้อรา *C. eragrostidis* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน ความเข้มข้น 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร มาสเปรย์บนกลีบดอกกล้วยไม้หวายพันธุ์ขาวสนาน นำไปบ่มในถุงพลาสติกที่ให้ความชื้น เก็บที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.2 นำดอกกล้วยไม้พันธุ์ขาวสนานที่ได้จากข้างต้นมาทดสอบในน้ำอุณหภูมิต่างๆ ตามกรรมวิธีข้างต้น เป็นเวลา 4 นาที แล้วนำไปแช่ในน้ำกลั่นอุณหภูมิ 25°C ทันที ผึ่งพดลมให้แห้ง เก็บที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 10 วัน บันทึกผลการทดลองวันที่ 5 และ 10 วัน พบว่า ที่ 5 วัน ที่อุณหภูมิ 25°C เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคดอกจุดสนิมน้อยที่สุดร้อยละ 1.23 น้อยกว่าชุดควบคุมซึ่งเกิดโรคดอกจุดสนิมร้อยละ 3.00 เช่นเดียวกันกับวันที่ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 25°C มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคดอกจุดสนิมน้อยที่สุดร้อยละ

ละ 2.33 ซึ่งชุดควบคุมเกิดโรคร้อยละ 3.43 และกลีบดอกสีซีดและเหี่ยวเล็กน้อยของดอกที่อยู่ด้านล่างของช่อ (ตารางที่2)

ตารางที่ 2 เปอร์เซนต์การเกิดโรคดอกจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ชาวสวนานด้วยน้ำอุณหภูมิ 25 35 45 และ30 (ควบคุม)องศาเซลเซียส หลังปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 5 วัน และ 10 วัน

อุณหภูมิ (°C)	การเกิดโรค (%)	
	5 วัน	10 วัน
25	1.23	2.33
35	2.67	4.43
45	3.00	4.00
30 (control)	3.00	3.43

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

Aspergillus niger: สภาพอากาศที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 15°C, ปริมาณ a_w น้อยกว่า 0.85 และ ปริมาณ CO₂ ต่ำกว่า 300 ppm ทำให้ *A. niger* มีอัตราการเจริญต่ำ แต่เมื่ออุณหภูมิ, a_w และ CO₂ เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ *A. niger* มีการเจริญเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดที่อุณหภูมิประมาณ 28°C a_w 0.93 และ CO₂ 700 ppm และการเจริญของเชื้อรานี้มีแนวโน้มลดลง เมื่ออุณหภูมิ ปริมาณน้ำอิสระ และ CO₂ เพิ่มขึ้น ขณะที่ *A. niger* ที่อยู่ภายใต้สภาพอากาศเย็น (<25°C) ปริมาณน้ำอิสระน้อยกว่า 0.93 และ CO₂ ต่ำกว่า 600 ppm ความสามารถในการผลิตสารโอคราทอกซิน (OTA) อยู่ในระดับต่ำ แต่เมื่อระดับอุณหภูมิ ปริมาณน้ำอิสระ และ CO₂ เพิ่มขึ้น ทำให้มีการผลิตสาร OTA เพิ่มมากขึ้น เมื่อนำข้อมูลนี้ไปทดสอบเก็บรักษาเมล็ดกาแฟพบว่าสภาพอากาศที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดกาแฟควรอยู่ที่ ≤15°C ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 60% และมีปริมาณ CO₂ ไม่เกิน 300 ppm

Aspergillus flavus: สภาพอากาศที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 20°C, ปริมาณ a_w น้อยกว่า 0.85 และ ปริมาณ CO₂ ต่ำกว่า 700 ppm ทำให้ *A. flavus* มีอัตราการเจริญต่ำ แต่เมื่ออุณหภูมิ, a_w และ CO₂ เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ *A. flavus* มีการเจริญเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดที่อุณหภูมิประมาณ 30°C และมีแนวโน้มลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ขณะที่ *A. flavus* สามารถเจริญได้ดีเมื่อมีปริมาณ และ CO₂ เพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม *A. flavus* ที่อยู่ภายใต้สภาพอากาศเย็น (<25°C) ปริมาณน้ำอิสระน้อยกว่า 0.90 และ CO₂ ต่ำกว่า 500 ppm สามารถสาร แอฟลาทอกซิน (AFB1) อยู่ในระดับต่ำ แต่เมื่อปริมาณน้ำอิสระ และ CO₂

เพิ่มขึ้น ทำให้มีการผลิตสาร AFB1 เพิ่มมากขึ้น เมื่อนำข้อมูลนี้ไปทดสอบเก็บรักษาเมล็ดถั่วลิสงพบว่า สภาพอากาศที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดถั่วลิสงควรอยู่ที่ $\leq 15^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 60% และมีปริมาณ CO_2 ไม่เกิน 300 ppm

Fusarium moniliforme: สภาพอากาศที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 20°C , ปริมาณ a_w น้อยกว่า 0.90 และปริมาณ CO_2 ต่ำกว่า 700 ppm ทำให้ *F. moniliforme* มีอัตราการเจริญต่ำ แต่เมื่ออุณหภูมิ, a_w และ CO_2 เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ *A. flavus* มีการเจริญเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดที่อุณหภูมิประมาณ 25°C และมีแนวโน้มลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 30°C ขณะที่ *F. moniliforme* สามารถเจริญได้ดีเมื่อมีปริมาณ และ CO_2 เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อเก็บเชื้อรานี้ภายใต้สภาพอากาศเย็น ($< 15^{\circ}\text{C}$) ปริมาณน้ำอิสระน้อยกว่า 0.90 มีการผลิตสารฟูโมนิซินอยู่ในระดับต่ำ แต่จะผลิตสารพิษได้ดีขึ้นเมื่อปริมาณน้ำอิสระและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น (แต่ไม่เกิน 24°C) เมื่อนำข้อมูลนี้ไปทดสอบเก็บรักษาเมล็ดถั่วลิสงพบว่าสภาพอากาศที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดถั่วลิสงควรอยู่ที่ $\leq 15^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 60% และมีปริมาณ CO_2 ไม่เกิน 300 ppm

สำหรับโครงการที่ 2 ได้ข้อมูลเบื้องต้นจากแปลงปลูกถั่วลิสงกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อส่งออก จ.นครปฐม อ.ศาลายา และ อ.สามพราน จ.สมุทรสาคร อ.กระทุ่มแบน และ อ.บ้านแพ้ว จ.ราชบุรี อ.บ้านโป่ง และ อ.บางแพ ในช่วงเดือนมกราคม มีนาคม และ สิงหาคม พ.ศ. 2557 อุณหภูมิ อยู่ระหว่าง 29.7 – 35.9 องศาเซลเซียส ความชื้น pH น้ำที่ใช้รดกล้วยไม้ 7.05-7.45 ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศในแปลงอยู่ระหว่าง 41.30-61.70 เปอร์เซ็นต์ และพบเชื้อรา *C. eragrostidis* สาเหตุโรคดอกจุดสนิมในส่วนกลีบดอกและก้านดอกมากที่สุดจากแปลงจังหวัดสมุทรสาคร อ. บ้านแพ้ว จังหวัดนครปฐม อ.สามพรานปริมาณที่พบคิดเป็นร้อยละ 33.33 และเชื้อรา *C. eragrostidis* เจริญเติบโตบนอาหาร PDA ได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 13 วัน มีการเจริญเติบโต 8.10 เซนติเมตร ใกล้เคียงกับชุดควบคุม 9 เซนติเมตร ทดสอบอุณหภูมิเก็บรักษาต่อความรุนแรงของโรคดอกจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้กรรมวิธีทำผลที่ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสเกิดโรคดอกจุดสนิมมากที่สุดร้อยละ 81.73 ในขณะที่ชุดควบคุมเกิดโรค 50.47 ซึ่งผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับที่ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสเกิดโรคดอกจุดสนิมมากที่สุดร้อยละ 86.53 และกรรมวิธีไม่ทำผลที่ 7 วัน เกิดโรคดอกจุดสนิมมากที่สุดร้อยละ 29.40 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส การควบคุมโรคดอกจุดสนิมด้วยน้ำอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคดอกจุดสนิมน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุมซึ่งเกิดโรคดอกจุดสนิมร้อยละ 1.23 และ 3.00 ตามลำดับ

การศึกษาสามารถนำไปใช้เป็นสมมติฐานพื้นฐาน (baseline assumption) เพื่อใช้ศึกษาและวางแผนการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตผลเกษตร นักวิจัยหรือเกษตรกรที่สนใจสามารถนำไปพัฒนาต่อได้

บรรณานุกรม

- Abdel-Hadi A., Schmidt-Heydt M., Parra R., Geisen R., Magan N. (2012). A systems approach to model the relationship between aflatoxin gene cluster expression, environmental factors, growth and toxin production by *Aspergillus flavus*. *Journal of The Royal Society Interface*, 9: 757–767.
- Chauhan Y. S., Wright G. C., Rachaputi R. C. N., Holzworth D., Broome A., Krosch S., et al. 2010. Application of a model to assess aflatoxin risk in peanuts. *Journal of Agricultural Science*, 148: 341–351.
- Chauhan Y.S., Wright G.C. and Rachaputi, N.C. 2008. Modelling climatic risks of aflatoxin contamination in maize. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48: 358–366.
- Ghosh S.K., Desai M.R., Pandya, G.L. and Venkaiah, K. 1997. Airborne aflatoxin in the grain processing industries in India. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 58(8): 583-586.
- Groopman, J.D., Kensler, T.W. and Wild, C.P. 2008. Protective interventions to prevent aflatoxin-induced carcinogenesis in developing countries. *Annual Review of Public Health*, 29: 187–203.
- Havelaar, A. H., Brul, S., de Jong, A., de Jonge, R., Zwietering, M. H., & ter Kuile, B. H.
- Magan, N., Medina, A. and Aldred, D. 2011. Possible climate change effects on mycotoxin contamination of food crops pre- and post-harvest. *Plant Pathology*, 60: 150–163.
- Medina, A., Rodriguez, A., and Magan, N. 2014. Effect of climate change on *Aspergillus flavus* and aflatoxin B1 production. *Frontiers in Microbiology*, 5: 348.
- National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). Climate Change and Variability. แหล่งที่มา <https://www.ncdc.noaa.gov/climate-information/climate-change-and-variability> เข้าถึงแหล่ง สิงหาคม 2556.
- Paterson, R. and Lima, N. 2011. Further mycotoxin effects from climate change. *Food Research International*, 44: 2555–2566.

- Reddy, K.R.N., Reddy, C.S. and Muralidharan, K. 2009. Potential of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* infecting rice grains. *Food Control*, 20(2): 173-178.
- Roebuck, B.D. and Maxuitenko, Y.Y. 1994. Biochemical mechanisms and biological implications of the toxicity of aflatoxins as related to aflatoxin carcinogenesis. In *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. Eaton, D. L. and Groopman, J. D. (Eds.) Academic Press, San Diego. pp. 27-44.
- Wu, Z., Dijkstra, P., Koch, G.W., Peñuelas, J. and Hungate, B.A. 2011. Responses of terrestrial ecosystems to temperature and precipitation change: A meta-analysis of experimental manipulation. *Global Change Biology*, 17: 927-942.
- Zunzhi Zhu and Sheng Qaing. 2011. *Chinese Journal of Microsurgery* Year 2011, Issue 4, Page 327-328.
- กรมอุตุวิทยา. 2552. ความรู้อุตุวิทยา เรื่อง การเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศ. แหล่งที่มา <http://www.tmd.go.th/info/info.php?FileID=86#q7> เข้าถึงแหล่ง 2 สิงหาคม 2556.
- นิยมรัฐ ไตรศรี. 2543. โรคของกล้วยไม้และการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 61 หน้า.
- พิบูลย์ มงคลสุข. 2549. ลักษณะอาการของโรคดอกจุดสนิมของหวายมาตาม ปอมปาดัวร์และหวายลูกผสม. วารสารรามคำแหง 23(2): 85-94.
- เลขา มาโนช กัญญา เจริญไทย คะนิงนิจ บุศราคำ พรพิมล อธิปัญญาคม อภิรัตน์ สมฤทธิ์ และ อรุมา เจียมจิตต์. 2544. เชื้อราโรคพืช ราเอนโดไฟท์ และราดินในประเทศไทย. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39. หน้า 502-510.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554. สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศ ปี 2554. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 135 หน้า.