6.83620

รายงานฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัย
การคัดแยกเชื้อยีสต์บนผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย (*Litchi chinensis* Sonn.) ในพื้นที่เขตจังหวัดเชียงราย

(Isolation of yeasts from skin of litchi(*Litchi chinensis* Sonn.) peel in Chiengrai region

โดย
นางสาวนิรมล ปัญญ์บุศยกุล
อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร
สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร

ทุนอุดหนุนโครงการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2544
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
จังหวัดเชียงราย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนโครงการวิจัย มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ นิพนธ์ วิสารทานนท์ อาจารย์ประจำภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ ที่ให้คำปรึกษาในฐานะที่ปรึกษาโครงการวิจัยเป็นอย่างสูง ขอบคุณ คุณสุรชาติ คูอาริยะกุล ฝ่ายวิจัย ศูนย์วิจัยพืชสวน จังหวัดเชียงราย ที่สนับสนุนสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์ ในระยะแรกของการวิจัย รวมทั้งให้คำปรึกษา และคำแนะนำในการทำการวิจัย รวมทั้งขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงทุกท่านที่ได้อำนวยความสะดวกและช่วยจัดเตรียมอุปกรณ์ในการทำการวิจัย และที่สำคัญอย่างยิ่ง ขอขอบคุณเจ้าของสวนลิ้นจี่สวนบุญส่ง และสวนตาเริง ที่ให้การสะดวกในการเข้าเก็บตัวอย่างในสวน ตั้งแต่เริ่มทำเครื่องหมายดอกลิ้นจี่จนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลลิ้นจี่ในระยะสุดท้ายเพื่อทำการวิจัย

นิรมล ปัญญ์บุศยกุล
หัวหน้าโครงการวิจัย

บทคัดย่อภาษาไทย

งานวิจัยนี้ศึกษาการคัดแยกเชื้อยีสต์บนผิวเปลือกของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ในพื้นที่เขตจังหวัดเชียงราย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อจะทำเอาเชื้อยีสต์ดังกล่าวไปใช้ในการศึกษากระบวนการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีต่อไป ในการทดลองพบว่าสามารถคัดแยกเชื้อยีสต์ได้เพียง 12 สายพันธุ์ ซึ่งมีลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่คล้ายคลึงกัน คือ มีลักษณะรี กลม หรือ ยาวรี ที่มีขนาดต่าง ๆ กัน และมีการเจริญพันธุ์แบบแตกหน่อ และแบ่งเซลล์เป็นสอง เมื่อเจริญบนอาหารแข็ง YM เชื้อยีสต์ที่ได้มีการสร้างรงควัตถุได้แตกต่างกันไป

Abstract

This work was conducted for the main purpose of isolating yeasts from skin of the peel of Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) in Chiangrai province of Thailand, which will useful for further study in biocontrol. The results showed that there are only 12 isolates of yeast from the litchee skin. They are all has a similar shape which are round, oval and long oval with a variety of sizes. Moreover, they reproduce by budding and binary fission and can produce a variety of pigments when grow on the YM agar.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
สารบัญ	ข
สารบัญตาราง	ค
สารบัญรูป	จ
บทคัดย่อภาษาไทย	ฉ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	
บทที่ 2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 การปลูกและการเน่าเสียของลิ้นจี่	
2.2 ยีสต์และการใช้ประโยชน์	
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	12
3.1 อุปกรณ์ และสารเคมี	
3.2 วิธีทดลอง	
บทที่ 4 ผลการทดลอง	14
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์	23
บทที่ 6 เอกสารอ้างอิง	24

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ปริมาณและมูลค่าการส่งออกลิ้นจี่สด และลิ้นจี่กระป๋อง ปี 2538-2542	5
4.1	ขนาดกว้าง* ยาว (มิลลิเมตร) ของเชื้อยีสต์บนอาหารแข็ง YM ที่คัดแยกได้จากผิวของผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยในพื้นที่เขตจังหวัดเชียงราย	14

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ลักษณะผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย	4
4.1 รูปร่าง สี และลักษณะของโคโลนีเชื้อยีสต์ L1, L2, L3 และ L4 ที่คัดแยกได้บนอาหารแข็ง YM agar	16
4.2 รูปร่าง สี และลักษณะของโคโลนีเชื้อยีสต์ L5, L6, L7 และ L8 ที่คัดแยกได้บนอาหารแข็ง YM agar	17
4.3 รูปร่าง สี และลักษณะของโคโลนีเชื้อยีสต์ L9, L10, L11 และ L12 ที่คัดแยกได้บนอาหารแข็ง YM agar	18
4.6 ลักษณะของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จากผิวเปลือกลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย สายพันธุ์ L1, L2, L3 และ L4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า	19
4.7 ลักษณะของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จากผิวเปลือกลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย สายพันธุ์ L5, L6, L7 และ L8 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า	20
4.9 ลักษณะของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จากผิวเปลือกลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย สายพันธุ์ L9, L10, L11 และ L12 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า	20
4.10 การทดสอบการเกิดโรคโดยใช้เชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้บนผลลิ้นจี่	21
4.11 ลักษณะแผลของลิ้นจี่หลังใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่มีเชื้อยีสต์กดลงบนผิวเปลือก	21
4.12 รอยแผลบนผลลิ้นจี่หลังการบ่ม	22

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ลิ้นจี่เป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่ทำรายได้ให้กับประเทศไทยโดยเฉพาะพื้นที่ทางภาคเหนือ ลิ้นจี่ (*Litchi chinensis* Sonn.) เป็นพืชที่อยู่ในสกุล Nephelium วงศ์ Sapindaceae และผลไม้ที่จัดในตระกูลลิ้นจี่ ได้แก่ เงาะ ลำไย และ คอแลน เป็นไม้ผลที่มีแหล่งปลูกดั้งเดิมทางภาคใต้ของประเทศจีน แถบมณฑลกวางเจา มณฑลเสฉวน และมณฑลยูนนาน ปัจจุบันมีการปลูกลิ้นจี่กันแพร่หลายในหลายประเทศ ได้แก่ อินเดีย ฮ่องกง ศรีลังกา ไต้หวัน อเมริกาใต้ ออสเตรเลีย และสหรัฐอเมริกา รวมทั้งประเทศไทย (สำนักงานเกษตรเชียงราย, 2543) ซึ่งมีการปลูกมากในภาคเหนือและภาคกลาง ลิ้นจี่พันธุ์ที่ปลูกกันนิยมกันอย่างแพร่หลายในแถบภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ พันธุ์ฮงฮวย พันธุ์โอเฮี๊ยะ พันธุ์จุดบี้ และพันธุ์หน่อมีจือ ในจังหวัดเชียงรายมีการปลูกลิ้นจี่กระจายกันเกือบทุกอำเภอโดยมีพื้นที่ปลูกลิ้นจี่รวมทั้งสิ้น 36,020 ไร่ โดยได้ผลผลิตรวมทั้งหมดเป็น 18,634 ตัน พื้นที่ของจังหวัดเชียงรายที่ปลูกลิ้นจี่มากที่สุดคือ อำเภอแม่สรวย (8,812 ไร่) รองลงมาคือ อำเภอเมือง (8,085 ไร่) อำเภอแม่จัน(4,221 ไร่) และอำเภอแม่สาย (3,471 ไร่) ตามลำดับ (สำนักงานเกษตรจังหวัดเชียงราย, 2543) พันธุ์ที่นิยมปลูกมากที่สุดคือ พันธุ์ฮงฮวย เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่มีผลขนาดใหญ่ และการติดผลดี (ศรีมูล,2528)

เนื่องจากลิ้นจี่เป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่เกิดการเน่าเสียได้ง่าย ส่งผลให้เกิดการเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมาก สาเหตุของการเน่าเสียของลิ้นจี่ ส่วนใหญ่เกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ เชื่อรา เชื้อยีสต์ เชื้อแบคทีเรีย (นิพนธ์, 2544) งานการทดลองนี้ได้ศึกษา การคัดแยกเชื้อยีสต์บนผิวเปลือกของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยในพื้นที่จังหวัดเชียงราย และเก็บเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ทำให้ลิ้นจี่เน่าเสีย และ กลุ่มที่ไม่ทำให้ผลลิ้นจี่เกิดการเน่าเสีย เพื่อสำหรับเป็นแนวทางในการควบคุมและการป้องกันการเน่าเสียดังกล่าว ซึ่งจะสามารถลดการสูญเสียทางเศรษฐกิจได้มากได้อีกทางหนึ่ง นอกจากนี้ยังใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่อาจนำไปสู่การผลิตผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่ใช้ยีสต์ ได้แก่ การทำไวน์ผลไม้ เป็นต้น

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) คัดแยกเชื้อยีสต์จากผิวเปลือกของผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยวของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย
2) ทดสอบความสามารถของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้ในการก่อให้เกิดโรคในผลลิ้นจี่
3) เก็บรวบรวมสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์ทั้งที่ก่อให้เกิดโรค และไม่ก่อให้เกิดโรคไว้เพื่อจำแนกสายพันธุ์ และศึกษาความเป็นได้ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อโรคชนิดอื่นๆ หรือนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆต่อไป เช่น ด้านอุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถจัดทำแหล่งรวบรวมสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์บนผิวเปลือกของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ในพื้นที่จังหวัดเชียงราย
2) ทราบประชากรเชื้อยีสต์บนผลลิ้นจี่ และกลไกในการเข้าทำลายเนื้อเยื่อของเชื้อยีสต์
3) ทราบความสัมพันธ์ของเชื้อยีสต์ที่แยกได้กับการควบคุมการเน่าเสียของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย และลิ้นจี่พันธุ์อื่นๆได้
4) สามารถช่วยลดการสูญเสียทางเศรษฐกิจเนื่องจากการเน่าเสียของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย และพันธุ์อื่นๆ
5) เป็นแนวทางสำหรับพ่อค้าส่งออกลิ้นจี่ในการลดความสูญเสียเนื่องจากการเน่าเสียได้
6) อาจใช้ยีสต์ที่คัดแยกได้สำหรับการควบคุมการเกิดโรคเน่าจากเชื้อชนิดอื่นๆในลิ้นจี่ได้หรือผลไม้ชนิดอื่นๆ

บทที่ 2

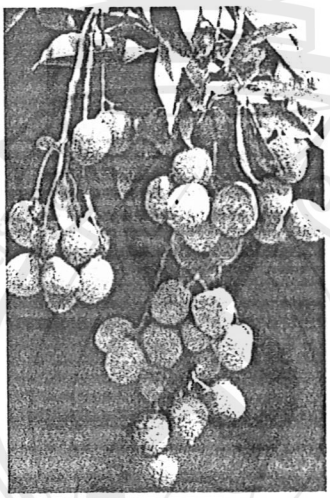
ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การปลูกและการเน่าเสียของลิ้นจี่

ลิ้นจี่เป็นไม้ผลกึ่งเมืองร้อน ลำต้นเป็นทรงพุ่มแผ่กว้าง เมื่อเจริญเต็มที่ลำต้นสูงประมาณ 10 - 12 เมตร เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของภาคเหนือ เจริญเติบโตได้ดีในสภาพภูมิอากาศหนาว ชอบดินร่วนซุย ความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ระหว่าง 5 - 6 มีการระบายน้ำดี และควรมีระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลมากกว่า 400 เมตร ต้องการอากาศหนาวในช่วงออกดอก คือ ต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส ไม่น้อยกว่า 250 ชั่วโมง หรือ ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส ไม่น้อยกว่า 50 ชั่วโมง แต่มีลิ้นจี่บางพันธุ์ซึ่งเป็นลิ้นจี่ที่ปลูกในเขตภาคกลาง ได้แก่ พันธุ์ค่อม สามารถออกดอกติดผลได้ในสภาพอากาศ ภาคกลาง ปริมาณน้ำฝนที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 1,000 - 1,500 มิลลิเมตรต่อปี ความชื้นสัมพัทธ์ในระยะก่อนออกดอกควรต่ำกว่า 80% และในระยะติดผลอยู่ในช่วง 80 - 100% ลิ้นจี่อายุประมาณ 3 ปี ถ้ามีการดูแลรักษาและการตัดแต่งที่ดี ลิ้นจี่จะให้ผลผลิตได้ดีมากกว่า 30 ปี ระยะเวลาตั้งแต่ออกดอกถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตประมาณ 4 เดือน ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 200 กิโลกรัม ต่อ ต้น ขนาดผลลิ้นจี่อยู่ระหว่าง 60 -90 ผลต่อกิโลกรัม ฤดูกาลเก็บเกี่ยวผลผลิตระหว่างกลางเดือนเมษายนถึงเดือนพฤษภาคม พื้นที่เหมาะสมเชิงธุรกิจ และพื้นที่ปลูกลิ้นจี่ที่สำคัญอยู่ทางภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา และภาคตะวันตก เช่น สมุทรสงครามเป็นต้น ด้วยในอนาคตศักยภาพการผลิตในอนาคต ลิ้นจี่เป็นพืชทีมีการปลูกได้เฉพาะที่ โดยเฉพาะเขตที่มีอากาศหนาวเย็นเพื่อชักนำการออกดอก ทำให้มีพื้นที่เพาะปลูกน้อยทำให้มีความต้องการทางการตลาดมากขึ้น ส่วนเรื่องคู่แข่งด้านการตลาดได้แก่ ประเทศจีน และเวียดนาม แต่ผลผลิตออกมาช่วงเวลาแตกต่างกัน (http://www.doae.go.th/plant/ lychee.html)

ในงานทดลองนี้ได้เลือกศึกษาลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย เนื่องจากลิ้นจี่พันธุ์ดังกล่าวเป็นที่นิยมปลูกกันมากในจังหวัดเชียงราย ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยมีแหล่งกำเนิดมาจากประเทศจีน คำว่า “ฮง” แปลว่า ช่อ หรือพวงใหญ่ “ฮวย” แปลว่า ดอก ฮงฮวย จึงแปลว่า ช่อดอกไม้ใหญ่ ลิ้นจี่จะออกดอกประมาณเดือนมกราคม และดอกบานประมาณกลางเดือนกุมภาพันธ์ ช่วงระยะเวลาที่ต้นลิ้นจี่แตกช่อดอกจนถึงดอกบานใช้เวลาประมาณ 2 เดือน ดอกบานครั้งแรกเป็นดอกตัวผู้ โดยจะบาน 8 ช่วง ช่วงละ 3

วัน คาบเกี่ยวกัน พบว่าโอกาสของดอกลิ้นจี่พันธุ์นี้ที่จะผสมพันธุ์กันมีมากกว่าพันธุ์อื่น ๆ จึงให้ผลดก ติดผลดีสม่ำเสมอ (ศรีมูล, 2528) ผลจะแก่เก็บเกี่ยวได้ในปลายเดือนพฤษภาคมจนถึงต้นเดือนมิถุนายน ต้นจะมีลักษณะเป็นทรงพุ่มใหญ่ ลำต้นมีสีน้ำตาลอมเทา ช่วงข้อบนกิ่งห่าง ใบหนาและมีสีเขียว ขอบใบบิดเป็นคลื่น ปลายใบไม่ค่อยแหลม ใบมี 3-4 คู่ ยอดมีสีเหลืองอ่อนปนเขียว ให้ผลดก ติดผลดีสม่ำเสมอ ผลมีรูปทรงยาวลีคล้าย รูปไข่ เปลือกบาง ผิวสีเหลือง จนถึงแดงปนชมพู ช้ำง่าย เนื้อหนาปานกลาง สีเนื้อขาวขุ่น รสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย มีกลิ่นหอม เมล็ดใหญ่ยาวสีน้ำตาล ผลโตปานกลาง คือ 30-40 ผล ต่อหนึ่งกิโลกรัม ขั้วผลมักหลุดร่วงง่าย (ศรีมูล, 2528; กรมส่งเสริมการเกษตร, 2540) พันธุ์ฮงฮวย แบ่งออกได้หลายสายพันธุ์ คือ ฮงฮวยไหล่กว้าง ฮงฮวยเชียงราย และฮงฮวยฝาง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2540) ในรูปที่ 2.1 แสดงลักษณะของผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยที่ติดผลดกเป็นพวงขนาดใหญ่ ผลดกสีแดงม่วง



รูปที่ 2.1 ลักษณะผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย
ที่มา : กรมส่งเสริมการเกษตร, 2540

ลิ้นจี่สามารถจำหน่ายทั้งในรูปผลสด และ ผลิตพันธุ์แปรรูปต่าง เช่น ลิ้นจี่กระป๋อง เป็นต้น จากการรายงานของกรมศุลกากร (2543) พบว่า ลิ้นจี่กระป๋องมีตลาดรับผลผลิตถึงร้อยละ 60 ของปริมาณผลผลิตรวมทั้งประเทศ โดยเป็นการผลิตเพื่อส่งออกร้อยละ 80 และบริโภคภายในประเทศร้อยละ20 ปริมาณส่งออกลิ้นจี่กระป๋องเพิ่มขึ้นจากเดิมประมาณ 8,808 ตัน มูลค่า 297 ล้านบาท ในปี 2538 เป็น 12,885 ตัน มูลค่า 576 ล้านบาท ในปี2542 (ตารางที่ 2.1) สำหรับการส่งออกลิ้นจี่ผลสดนั้นประมาณ 20 % ของปริมาณผลผลิตรวม ปริมาณการส่งออกลิ้นจี่สดเพิ่มขึ้นจากประมาณ 3,256 ตัน มูลค่า 118 ล้านบาทในปี 2538 เป็น 12,496 ตัน มูลค่า 372 ล้านบาท ในปี 2542 (ตารางที่2.1)

สำหรับตลาดส่งออกสำคัญของลิ้นจี่ผลสด คือ ฮ่องกง (70%) และสิงคโปร์ (10%) ส่วนตลาดส่งออกของลิ้นจี่กระป๋องคือมาเลเซีย (30%)

ตารางที่ 2.1 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกลิ้นจี่สด และลิ้นจี่กระป๋อง ปี 2538 - 2542

ปี	ลิ้นจี่สด		ลิ้นจี่กระป๋อง		รวม	
	ปริมาณ(ตัน)	มูลค่า(ล้านบาท)	ปริมาณ(ตัน)	มูลค่า(ล้านบาท)	ปริมาณ(ตัน)	มูลค่า(ล้านบาท)
2538	3,256	118.6	8,808	297.2	12,064	415.8
2539	11,603	336.4	14,084	471.3	25,687	807.7
2540	11,157	327.1	15,525	626.5	26,682	953.6
2541	1,511	72.5	5,269	292.0	6,780	364.5
2542	12,496	372.4	12,885	576.2	25,381	948.6

ที่มา : กรมศุลกากร (2543)

จากตารางที่ 2.1 จะเห็นได้ว่าการส่งออกลิ้นจี่ในรูปผลสด และการแปรรูปเป็นลิ้นจี่บรรจุกระป๋อง มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นเป็นลำดับจากอดีตจนถึงปี 2542 แต่เนื่องจากประสบปัญหาด้านการเกิดการเน่าเสียซึ่งเป็นอุปสรรคสำคัญสำหรับการส่งออกดังกล่าว การเน่าเสียที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากการที่ พืชเป็นโรค หรือ diseased plants ซึ่งในที่นี้จะหมายถึง พืชที่แสดงอาการที่ผิดปกติไป ทั้งในด้านสัณฐานวิทยา (morphology) และสรีรวิทยา (physiology) ที่สามารถแพร่ระบาดจากสิ่งแวดล้อมรอบ ๆ ได้แก่ ดิน เศษซากพืชที่เป็นโรค หรือสปอร์ในอากาศ ไปยังพืชปกติได้ โดยมีสาเหตุมาจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เชื้อราสาเหตุของโรคดังกล่าว เชื้อแบคทีเรีย ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช เชื้อไวรัส เป็นต้น ปกติสาเหตุของการเน่าเสียของพืชนั้นมักจะเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านั้นมีลักษณะการเข้าทำลายเนื้อเยื่อ 3 ลักษณะ คือ 1) เชื้อจุลินทรีย์เข้าทำลายเนื้อเยื่อพืชได้โดยอาศัยความสามารถสร้างเอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส หรือเพคติน ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์พืช (active spoilage) ได้ ซึ่งการเน่าเสียดังกล่าวเป็นการเน่าเสียที่มีสาเหตุโดยตรงจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อที่ก่อโรค (true plant phathogen) 2) เชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่เป็นเชื้อฉวยโอกาสในขณะที่ต้นพืชเกิดการอ่อนแอ หรือ opportunistic microorganism เข้าทำลายเนื้อเยื่อด้านในของพืชทางเนื้อเยื่อด้านนอก ที่ถูกทำลาย เช่น การขูดขีดระหว่างการเก็บเกี่ยว ระหว่างการขนส่ง ระหว่างกระบวนการแปรรูป และการเก็บรักษา (wound-induce spoilage) และ 3) passive spoilage ที่เกิดจากการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ชนิด opportunistic microorganism เช่นเดียวกัน แต่

เชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวจะเข้าทำลายตรงรอยเปิดของพืชที่มีเองตามธรรมชาติ เช่น lenticle, stomata หรือ hydrathode (Doyle et al., 1997) สาเหตุการเน่าเสียของลิ้นจี่มักพบเชื้อราเป็นสาเหตุที่สำคัญ Prasad (1986) อธิบายว่ามีเชื้อราจำนวน 11 ชนิดที่ทำให้เกิดโรคกับผลลิ้นจี่ในประเทศอินเดีย ในจำนวนนี้มีเชื้อราจำนวน 9 ชนิดที่ทำให้เกิดความรุนแรงต่อลิ้นจี่ (*Aspergillus* spp., *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cylindrocarpon tonkinense* และ *Pestalotiopsis* sp.) และที่ทำให้เกิดโรคไม่รุนแรงจำนวน 2 ชนิด (*Penicillium lilacinum* และ *Fusarium* sp.) นอกจากนี้ยังมีเชื้อราชนิดอื่นๆที่แยกได้จากผลลิ้นจี่ที่เป็นโรค ได้แก่ *Geotrichum candidum* (Tandon และ Tandon , 1975), *Stemphylium* และ *Fusarium* spp. (Tongdee และคณะ, 1982; Roth, 1963) ต่อมา Fitzell และ Coates (1995) รายงานว่ามีเชื้อราหลายชนิดที่เป็นสาเหตุของโรคภายหลังการเก็บเกี่ยวของลิ้นจี่ในประเทศออสเตรเลีย ได้แก่ *Alternaria alternata* , *Colletotrichum* spp. และ *Phomopsis* spp. ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากเสมอจากผลลิ้นจี่ที่เป็นโรค นอกจากนี้ยังพบเชื้อรา *Phoma* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Fusariun* sp. และ *Curvularia* sp. อีกด้วย

การเน่าเสียของผลลิ้นจี่จะทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก ถึงแม้ว่าองค์ประกอบของลิ้นจี่จะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ พื้นที่ที่ปลูก และฤดูกาลในการเก็บเกี่ยว การเน่าเสียของลิ้นจี่ในแต่ละสายพันธุ์นั้นก็มีแนวโน้มว่าจะเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันด้วย เนื่องจากโครงสร้างของผนังเซลล์พืชถึงแม้จะต่างสายพันธุ์กัน แต่มีลักษณะและองค์ประกอบเหมือนกันคือ ประกอบด้วย เซลลูโลสและเพคติน (Salunkhe และ Deshpande, 1991) จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของผลลิ้นจี่ส่วนใหญ่ จึงต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีสมบัติในการย่อยสลายเซลลูโลส และเพคตินได้ ซึ่งส่วนใหญ่ก็คือ เชื้อราและเชื้อยีสต์ ส่วนใหญ่แล้วโรคลิ้นจี่มักจะเกิดจากเชื้อรา เช่น *Peronophythora litchii* เป็นสาเหตุของโรคผลเน่า (fruit rot) *Oidium sp.* ทำให้เกิดโรคราแป้ง (powdery mildew) และสาเหตุโรคของผลลิ้นจี่ในระยะหลังการเก็บเกี่ยวเกิดจากเชื้อราหลายชนิด ได้แก่ *Aspergillus flavus* ตัวอย่างเช่น *A. niger, Lasiodiplodia theobromae* เป็นต้น (ปราณี, 2544) จากรายงานการตรวจสอบสาเหตุการเน่าเสียของผลลิ้นจี่ พบว่า มียีสต์บางสายพันธุ์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของลิ้นจี่ที่มีการปลูกทางแถบอเมริกาใต้ด้วย (Prasad, 1986)

การลดการเน่าเสียของลิ้นจี่ หรือผลไม้ต่างๆนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การห่อผลตั้งแต่หลังการผสมเกสร การใช้สารเคมีฉีดพ่นผลลิ้นจี่อย่างต่อเนื่อง การควบคุมดูแลผลลิ้นจี่ภายหลังการเก็บเกี่ยวให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสม เช่น การห่อผลลิ้นจี่เพื่อลดปริมาณเชื้อก่อโรคที่เข้า

ทำลายผลลิ้นจี่ภายหลังการเก็บเกี่ยว (สุรชาติ และวิชชา, 2543) แต่วิธีที่ควบคุมการเน่าเสียของผลไม้ได้ดีที่สุด และนิยมใช้กันมากที่สุด คือ การใช้สารเคมีฉีดพ่นผลไม้อย่างต่อเนื่อง ตั้งแต่ออกดอกจนกระทั่งผลแก่พร้อมเก็บเกี่ยวไปจำหน่าย แต่วิธีการดังกล่าวจะทำให้สารพิษตกค้างบนผิวผลไม้ ทำลายระบบนิเวศน์วิทยา ซึ่งรวมไปถึงแมลงที่เป็นประโยชน์ เช่น ตัวเบียน เกิดปัญหากับผู้ใช้ฉับพลันเมื่อสัมผัสกับสารพิษ (acute effect) หรือเกิดการสะสมสารพิษในร่างกายและทำให้เกิดเป็นโรคในภายหลัง (chronic effect) และเมื่อสารพิษตกค้างในผลลิ้นจี่จะส่งผลให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดมลพิษในอากาศ ดิน และน้ำบริเวณรอบแปลงอีกด้วย ทำให้มีนักวิจัยหลายท่านพยายามคิดค้นหาวิธีการทางกายภาพ และทางชีวภาพ หรือวิธีร่วมระหว่างกายภาพและชีวภาพ สำหรับเพื่อกำจัดหรือลดปัญหาดังกล่าวซึ่งหนึ่งในบรรดาวิธีนี้ คือ การใช้จุลินทรีย์ทั้ง ยีสต์ รา หรือ แบคทีเรีย ที่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ที่พบในธรรมชาติสำหรับใช้ควบคุมจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสีย ซึ่งวิธีดังกล่าวเรียกว่า การควบคุมจุลินทรีย์สาเหตุการเน่าเสียโดยใช้ชีววิธี (biocontrol) ซึ่งผลที่ได้จากงานวิจัยนี้มีศักยภาพอย่างมากที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการควบคุมการเน่าเสียของผลลิ้นจี่ โดยอาจนำจุลินทรีย์ดังกล่าวฉีดพ่นในปริมาณมาก ๆ (mass) เพื่อให้ไปยับยั้งการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ก่อโรคของลิ้นจี่ได้ เป็นต้น

2.2 ยีสต์และการใช้ประโยชน์

จากที่กล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่ายีสต์เป็น fungi ชนิดหนึ่งที่เจริญได้เป็นเซลล์เดี่ยวๆ และสร้างเซลล์ใหม่ (daughter cells) ได้โดยการแตกหน่อ (budding yeasts) หรือการแบ่งตัวเป็นสอง (binary fission) ที่เรียกว่า fission yeast ต่างจาก fungi ส่วนใหญ่ คือ ไม่สามารถสร้างเส้นใยได้ แต่บางสายพันธุ์ของfungi อาจมีสภาพเป็นได้ทั้ง 2 เฟส คือ ทั้งสภาพเส้นใย และเป็นเซลล์เดียวกันกับสภาพแวดล้อม ที่เรียกว่า dimorphic shape ยีสต์มักจะเจริญได้ในสภาพที่มีความชื้นที่มีแหล่งของสารอาหารที่มีโครงสร้างง่ายๆ ละลายได้ เช่น น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และกรดอะมิโน ด้วยเหตุนี้จึงพบเชื้อยีสต์อยู่ได้ทั้งบนผิวใบ และผลไม้ บนรากไม้ และอาหารหลายชนิดที่มีสารอาหารดังกล่าวเป็นองค์ประกอบ ยีสต์ส่วนใหญ่ไม่สามารถสลายสารโมเลกุลใหญ่ ๆ หรือพอลิเมอร์ได้ เช่น สตาร์ช เซลลูโลส เป็นต้น แตกต่างจากเชื้อราที่มีเส้นใยซึ่งสามารถย่อยสารประกอบที่เป็นโมเลกุลใหญ่ ๆ เหล่านั้นได้ (http://www.helios.bto.ed.ac.uk/bto /microbes/yeast.html) และยีสต์คือจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผักและผลไม้ ที่มีสภาพพีเอชเหมาะสมกับการเจริญของยีสต์ ตั้งแต่สมัยโบราณได้นำยีสต์ไปใช้ประโยชน์หลายๆด้าน เช่น เป็นจุลินทรีย์สำหรับการผลิตไวน์ ซึ่งเดิมเป็นยีสต์จากธรรมชาติ ต่อมาภายหลังได้คัดแยกยีสต์จากธรรมชาติ และนำมา

ทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ดังกล่าวสามารถนำมาผลิตไวน์ได้ไวน์ที่มีความคงตัว มีกลิ่น และรสเฉพาะตัวสำหรับยีสต์แต่ละสายพันธุ์

นอกจากนี้ยีสต์ยังเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญที่ทำให้เกิดโครงสร้างในขนมปัง โดยจะใช้น้ำตาลและส่วนประกอบอื่นๆ ในส่วนผสมของขนมปัง และนำไปสร้างเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดันโครงสร้างของโปรตีนให้ขยายตัวขึ้น ซึ่งจะคงสภาพเช่นนั้นเป็นโครงสร้างแข็งหลังจากผ่านกระบวนการอบแล้ว และในด้านโภชนาการถือว่ายีสต์มีประโยชน์นอกจากประโยชน์ทั้งสองข้อดังกล่าวแล้ว คือตัวยีสต์เองมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์และสัตว์ ในปัจจุบันได้นำยีสต์มาเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ เพื่อประโยชน์ 2 ทางด้วยกัน คือ เป็นแหล่งโปรตีนในรูปของโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein) และอีกแง่หนึ่งคือเป็นตัวช่วยเสริมสุขภาพสัตว์ที่เรียกว่าโปรไบโอติก (probiotic) ซึ่งทำให้สัตว์แข็งแรง และมีภูมิต้านทานโรคที่สูงขึ้น เชื้อยีสต์ดังกล่าวอาจมีประโยชน์กับอุตสาหกรรมอาหาร เช่น นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไวน์จากลิ้นจี่พันธุ์ดังกล่าว ซึ่งมีข้อดี คือ สามารถทนสภาพแวดล้อมในประเทศไทยได้ และอาจมีความสำคัญต่อกระบวนการหมักไวน์ (ประดิษฐ์, 2543) โดยมักจะพบยีสต์บางชนิดที่พบในผลไม้ ในลำดับแรกของการหมักให้เกิดแอลกอฮอลล์ (Rosini et al., 1982) และอาจจะเป็น สายพันธุ์ที่ให้กลิ่นรสที่ดีกว่าเชื้อยีสต์ที่มีสายพันธุ์จากต่างประเทศได้

จากปัญหาการเกิดโรคของลิ้นจี่ และการป้องกันกำจัดดังกล่าว จึงมีนักวิจัยหลายท่านเริ่มมองเห็นการใช้การควบคุมการเน่าเสียของผลไม้โดยใช้ชีววิธี แทนการฉีดพ่นด้วยสารเคมีซึ่งเกิดผลเสียอย่างมากมายดังกล่าวข้างต้น โดยพยายามนำเอาเชื้อจุลินทรีย์จากธรรมชาติหรือที่พบอยู่บนผลไม้เอง สำหรับใช้ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในพืชทั้งประเภทไม้ผล ไม้ใบ และไม้ดอก โดยเฉพาะอย่างยิ่งยีสต์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเนื่องจาก 1) ยีสต์ส่วนใหญ่เป็นจุลินทีย์ที่ไม่ก่อโรค (non-pathogen) และไม่ผลิตสารพิษ (mycotoxin) หรือ สปอร์ชนิดอัลเลอจีนิก (allergenic spores) และนอกจากนี้ยีสต์ยังเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถใช้สารอาหารได้หลายชนิด รวมทั้งสามารถเจริญสภาวะที่มีความชื้น และปริมาณออกซิเจนต่ำได้ (Fredlund, et al., 2002) ด้วยเหตุดังกล่าวยีสต์จึงเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่นักวิจัยหลายท่านสนใจ เช่น Wilson and Chalutz, 1969 ได้ทำการศึกษาถึงการใช้เชื้อยีสต์ 2 ชนิด คือ *Pichia guilliermondii* และ *Aureobasidium pulluans* ที่คัดแยกจากผิวผลไม้ สำหรับยับยั้งโรคเน่าเสียของผลไม้ (friut rot) พบว่า เชื้อ *P. guilliermondii* สามารถยับยั้งโรคเน่าเสียจากผลไม้ชนิดต่างๆ คือ diapodia rot, sour rot, green และ mold bluemold บนผลไม้ตระกูลส้มได้

นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้ง เชื้อ *Penicillium* และ *Botrytis* rot ในแอบเปิ้ล *Rhizopus*, *Alternaria* และ gray mold ในมะเขือเทศ รวมทั้งสามารถใช้ควบคุมโรค *Rhizpus* และ*Botytis* บนผลองุ่นได้อีกด้วย โดยเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวจะใช้อาหารบนผิวผลไม้อย่างรวดเร็วเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ ซึ่งสามารถกำจัดเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุของการเกิดโรคได้ ด้วยการฟอร์มตัวเกิดเป็นโคโลนีปกคลุมผิวของผักผลไม้ชนิดนั้นๆได้เป็นเวลานาน

ในผลไม้พบว่าปัญหาหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเน่าเสียที่เรียกว่า brown rot หรือโรคเน่าสีน้ำตาล ซึ่งมีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Monilinia fructicoia* ซึ่งทำให้ผลมีลักษณะช้ำ เซลล์ตายเป็นสีน้ำตาล ผลเน่า หลังการเก็บเกี่ยวไม่นานนัก โดยเชื้อดังกล่าวจะเข้าทำลายเนื้อเยื่อพืชตั้งแต่บนต้นและแสดงอาการในระยะของการสุก (ripening) ซึ่งทำให้เกิดการสูญเสียแก่ชาวสวนได้มากถึง 10-30 เปอร์เซ็นต์ Bley (1999) จึงได้มีการใช้วิธี pink mucoid yeast ร่วมกับสารอินทรีย์ต่าง ๆ หลายชนิดในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลในผลของพืช เพื่อลดการปนเปื้อนของสารพิษในธรรมชาติซึ่งจะลดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม เกษตรกร และผู้บริโภคมากกว่าการใช้สารเคมี ฉีดพ่น จากงานวิจัยดังกล่าวพบว่า ถ้าใช้สารอินทรีย์ที่เป็นสารสกัดจากใบชาอย่างเดียวจะได้ผลผลิตประมาณ 21 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมื่อใช้สารสกัดดังกล่าวร่วมกับยีสต์ชนิดนี้จะสามารถเพิ่มผลผลิตได้อย่างเห็นได้ชัด

ส่วนอรรณพ (2532) ได้ศึกษาถึงการใช้เชื้อยีสต์ *Candida* sp. และ *Torulopsis candida* ควบคุมเชื้อรา *Aspergillus fluvus* ที่ผลิตสารพิษ อะฟลาทอกซินในข้าวโพด พบว่าทั้ง *Candida* sp. และ *T. candida* สามารถควบคุมเชื้อรา และยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลา-ทอกซินได้ดี แต่ *Candida* sp. สามารถควบคุมเชื้อราดังกล่าวได้ดีกว่า จะเห็นได้ว่าเชื้อยีสต์ที่สามารถนำมาควบคุมเชื้อโรคได้นั้น นอกจากจะอยู่ทั่วไปตามธรรมชาติ คือ ในน้ำ ดิน อากาศแล้ว ยังพบเชื้อยีสต์ที่ได้ตามส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบพืชได้ โดย วรรณวิไล และ จิรเดช (2543)ได้คัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จากใบคะน้า และใบมะขาม พบว่ามีทั้งแบคทีเรียและยีสต์ เมื่อนำไปทดสอบการยับยั้งโรคใบจุด ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา พบว่าทั้งเชื้อยีสต์ และแบคทีเรียสามารถควบคุมการเจริญของเส้นใย และการสร้างสปอร์ของราบางชนิดได้ นอกจากนี้ มณฑาทิพย์ (2540) ยังรายงานว่า *Pichia membranefaciens* ซึ่งเป็นเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จากเปลือกมะม่วง สามารถควบคุมโรคขั้วผลเน่าของมะม่วงเอง และโรคขั้วผลเน่าในกล้วยหอมได้ดี รวมทั้งเชื้อยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวยังสามารถควบคุมโรคเน่าจากเชื้อ *Rhizopus sp.* (*Rhizopus* rot) ในผล Nectarine ระยะหลังการเก็บเกี่ยวได้อีกด้วย (Qing and Shiping, 2000) และหลังการตรวจสอบสายพันธุ์พบว่า เชื้อยีสต์ที่สามารถใช้ในการ

ควบคุมโรคขั้วผลเน่าบนกล้วยหอมได้ คือ *Candida tropicalis, Hansenula saturnus* และ *Saccharomyces cerevisiae* (มณฑาทิพย์, 2540) ในรายงานดังกล่าวยังได้รายงานถึงการใช้ยีสต์ *C. tropicalis* ร่วมกับการดัดแปลงบรรยากาศ (modified atmosphere, MA) โดยจัดผลมะม่วงในถาดโฟม และหุ้มด้วยแผ่นพลาสติก M wrap บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถลดการเกิดโรคขั้วผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* ได้ถึง 26.69 % ซึ่งเป็นประโยชน์มากสำหรับการส่งออกผลไม้ ไปยังต่างประเทศ

Cheah และ Tran (2003) ได้ศึกษาถึงการควบคุมทางชีวภาพหลังการเก็บเกี่ยวของเลมอนที่เป็นโรค *Penicillium* rot โดยใช้ยีสต์จากอุตสาหกรรมโดยโรคดังกล่าวเกิดจากเชื้อรา *Penicillium digitaturn* Sacc. ที่ทำให้เลมอนเกิดการเน่าเสียหลังการเก็บเกี่ยว เป็นสาเหตุของการสูญเสียของเศรษฐกิจซึ่งเป็นปัญหาที่พบมากในนิวซีแลนด์ และเป็นสายพันธุ์ที่ทนต่อสารฆ่าเชื้อรา Wilson and Chalutz (1989) จึงได้นำแนวทางของ Cheah และ Tran (2003) มาคัดแยกเชื้อยีสต์จากพืชเพื่อนำมาควบคุมโรคในเลมอนได้มาใช้ แต่เป็นการคัดแยกเชื้อยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปในอาหาร ได้แก่ *Saccharomyces* sp., *Kluyveromyces* sp., *Hansenula sp.* เป็นต้น ซึ่งพบว่า *S. cerevisiae* และ *Kluyveromyces* spp. สามารถควบคุม *Penicillium* rot ในเลมอนได้ นอกจากนี้ในปี 2001 Qing และ Tian รายงานว่าเชื้อยีสต์ *Cryptococcus albidus* (Saito) ซึ่งเป็นแอนตาโกนีส (antagonis) ที่คัดแยกจากเปลือกของผลพีช สามารถใช้ควบคุมการเน่าเสียของแอปเปิลฟูจิ หลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Botrytis cinerea* และ *Penicillium expansum* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vero, et al., 2002 ซึ่งรายงานว่าเชื้อยีสต์ *Cryptococcus* sp. สายพันธุ์ *C.laurentii* ที่คัดแยกจากผิวแอปเปิ้ลเอง สามารถควบคุมการเน่าเสียเนื่องจาก เชื้อรา *P.expansum* ที่เป็นสาเหตุของผลแอปเปิ้ลพันธุ์เดียวกันกับที่คัดแยกเชื้อยีสต์ได้เช่นเดียวกัน

นอกจากนี้อาจใช้ชีววิธีสำหรับการควบคุมโรคพืชแล้ว ในปัจจุบันยังมีการใช้วิธีทางชีววิธีร่วมกับวิธีทางกายภาพ เช่นการลวกในน้ำร้อนอุณหภูมิสูงเป็นเวลาสั้นๆ หรือ การใช้ร่วมกับการควบคุมบรรยากาศ สำหรับเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการควบคุมโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวได้อีกด้วย ดังรายงานการวิจัยของ Kalabulut, et al. (2003) ซึ่งรายงานว่าการลวกผลพีช และ nectarine ด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ ประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลาไม่เกิน 20 วินาที สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาภายหลังการเก็บเกี่ยวได้มากขึ้นอีกเมื่อแช่ผลไม้ดังกล่าวในสารละลายเชื้อยีสต์ *Candida* sp. หลังการลวกน้ำร้อน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wszelaki และ Mitcham (2003) ซึ่งนำเอาผลสตรอเบอรี่ไปขัดล้างในน้ำร้อนอุณหภูมิ 63 องศา-

เซลเซียส และจุ่มลงในสารละลายเชื้อยีสต์ *Pichia guillermondii* Wickerham ร่วมกับการเก็บไว้ภายใต้สภาพควบคุมบรรยากาศอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ในบรรยากาศของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ 15 กิโลปาสคาล ซึ่งงานวิจัยทั้งสองงานเป็นงานที่สามารถยืนยันว่า การใช้วิธีทางชีววิธี ร่วมกับวิธีทางกายภาพอื่น ๆ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว หรือสามารถลดการเน่าเสียหลังการเก็บเกี่ยวได้ดีกว่าการใช้วิธีใดวิธีหนึ่งเพียงอย่างเดียว

จากงานวิจัยดังกล่าวทั้งหมดจึงเป็นไปได้ว่ายีสต์ที่คัดแยกได้ในผลลิ้นจี่เอง อาจสามารถใช้ควบคุมการเน่าเสียของลิ้นจี่ได้ซึ่งจะสามารถลดปัญหาการเน่าเสียของลิ้นจี่โดยไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและเกษตรกรได้ งานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยที่ทำขึ้นเพื่อคัดแยกเชื้อยีสต์จากผิวเปลือกลิ้นจี่สำหรับใช้เป็นแอนตาโกนิสของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทั้งในลิ้นจี่เอง และผลไม้ชนิดอื่น ๆ ได้ต่อไป

บทที่ 3
วิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์ และสารเคมี

1) YM. agar (Difco)
2) Low temperature incubator (Termaks 6000, Norway)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การทำเครื่องหมายดอกลิ้นจี่ และเก็บตัวอย่าง

1) ทำเครื่องหมายดอกลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยที่ผ่านการผสมติด โดยสุ่มตัวอย่างครอบคลุมทั้งสวน ทั้งส่วนที่ติดถนน ใกล้บริเวณบ้าน และด้านหลัง โดยสถานที่ในการศึกษาจะอยู่ในพื้นที่ของจังหวัดเชียงราย คือ สวนบุญส่ง และสวนตาเริง อำเภอแม่จัน จังหวัดเชียงราย
2) เมื่อลิ้นจี่แก่เต็มที่ หรือมีอายุประมาณ 100 วัน จึงเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาใช้สำหรับการทำการทดลอง โดยการตัดเอาลิ้นจี่ที่ทำเครื่องหมายไว้บรรจุลงในถุงพลาสติก และปิดฝาถุงให้สนิททันที เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อ จุลินทรีย์อื่นภายนอกปนเปื้อน
3) นำผลลิ้นจี่ดังกล่าวมาเพื่อคัดแยกเชื้อยีสต์ที่ผิวเปลือกทันที

3.2.2 การคัดแยกเชื้อยีสต์จากผลลิ้นจี่บนผิวเปลือก

1) เตรียมน้ำกลั่นที่มีส่วนผสมของ 1% tween 80 1-2 หยด ที่ผ่านการสเตอริไรด์แล้วในขวดฝาเกลียว เพื่อใช้เป็นสารละลายใช้ล้างเชื้อจากผิวเปลือกลิ้นจี่ โดยจะใช้ตัวอย่างลิ้นจี่ที่เก็บมา ในประมาณ 25 กรัม ต่อ สารละลายดังกล่าว 250 มิลลิลิตร
2) นำสารละลายในขวดที่ได้จากข้อ 1) ไปเขย่าบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง
3) หลังจากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางให้มีระดับความเจือจางจนถึงความเจือจาง 10^{-6} ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และนำ

4) นำสาระลายดังกล่าวไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิต่ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน
5) นำแท่งเขี่ยเชื้อเขี่ยเฉพาะเชื้อยีสต์ที่เป็นโคโลนีเดี่ยวลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อจานใหม่ประมาณ 2-3 ครั้งหรือจนกว่าเชื้อที่ได้จะมีโคโลนีเดี่ยว ๆ และบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร ได้แก่ รูปร่างของโคโลนี และถ่ายรูปเชื้อยีสต์ที่เจริญบนอาหารแข็ง วัดขนาดของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วย stage micrometer

3.2.3 ทดสอบความสามารถของเชื้อยีสต์ในการก่อให้เกิดโรคในผลลิ้นจี่

1) ทำสารละลายของเชื้อยีสต์ให้มีจำนวนเซลล์เป็น 10^{-8} เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยนับจำนวนเซลล์ด้วย Haemacytometer
2) นำผลลิ้นจี่มาล้างด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที รอให้แห้ง
3) ใช้เข็มเขี่ยเชื้อเขี่ยเชื้อลงบนผลลิ้นจี่ 5 ผล ผลละ 3 ตำแหน่ง โดยแทงเข็มเขี่ยเชื้อลงไปแค่ทะลุผิวเปลือก
4) บ่มลิ้นจี่ไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-15 วัน สังเกตดูการเปลี่ยนแปลงและบันทึกผล
5) ถ้าลิ้นจี่เกิดการเน่าเสียให้คัดแยกเชื้อตรงบริเวณที่แผลซ้ำอีกครั้งเพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อยีสต์ชนิดดังกล่าวจริง

3.2.4 เก็บเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ทำให้เกิดการเน่าเสียและกลุ่มที่ไม่ทำให้เกิดการเน่าเสียในลิ้นจี่เพื่อทำการศึกษาต่อไป

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 เชื้อยีสต์บนผิวผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยที่คัดแยกได้

จากการคัดแยกเชื้อจากผลลิ้นจี่ พบว่าสามารถคัดแยกเชื้อยีสต์ได้เพียง 12 สายพันธุ์เท่านั้น ซึ่งมีขนาด กว้าง*ยาว ต่างๆ กัน เมื่อวัดขนาดโดยใช้ stage micrometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เนื่องจากเชื้อที่เจริญได้ในอาหารแข็งที่ใช้สำหรับการคัดแยกเชื้อนั้นส่วนใหญ่จะมีแต่เชื้อรา ที่มีการเจริญอย่างรวดเร็วมาก ต้องรีบทำการคัดแยกเชื้อยีสต์ออกมาอย่างรวดเร็ว และในช่วงแรกของการคัดแยกพบว่ามีเชื้อยีสต์มากกว่า 12 สายพันธุ์ที่เหมือนจะมีลักษณะแตกต่างกัน แต่ยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวไม่สามารถเลี้ยงให้เจริญในอาหารแข็งดังกล่าวได้ และตายในที่สุด จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้สำหรับการเก็บรักษาเพื่อใช้ในงานวิจัยด้านการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีต่อไป ในที่สุดจึงได้เชื้อยีสต์เพียง 12 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งพบว่าสามารถแยกเชื้อยีสต์ที่มีลักษณะต่าง ๆ กันได้จำนวน 12 สายพันธุ์ นอกจากนี้เชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้อาจมีจำนวนสายพันธุ์น้อยกว่าเชื้อยีสต์ที่มีเองในธรรมชาติบนผิวเปลือกลิ้นจี่ เนื่องจากเชื้อยีสต์ดังกล่าวอาจตายไปในขั้นตอนของการฉีดยาเพื่อป้องกันการเน่าเสียของผลลิ้นจี่ตั้งแต่ลิ้นจี่ออกดอกจนผลแก่เก็บเกี่ยวได้นั่นเอง

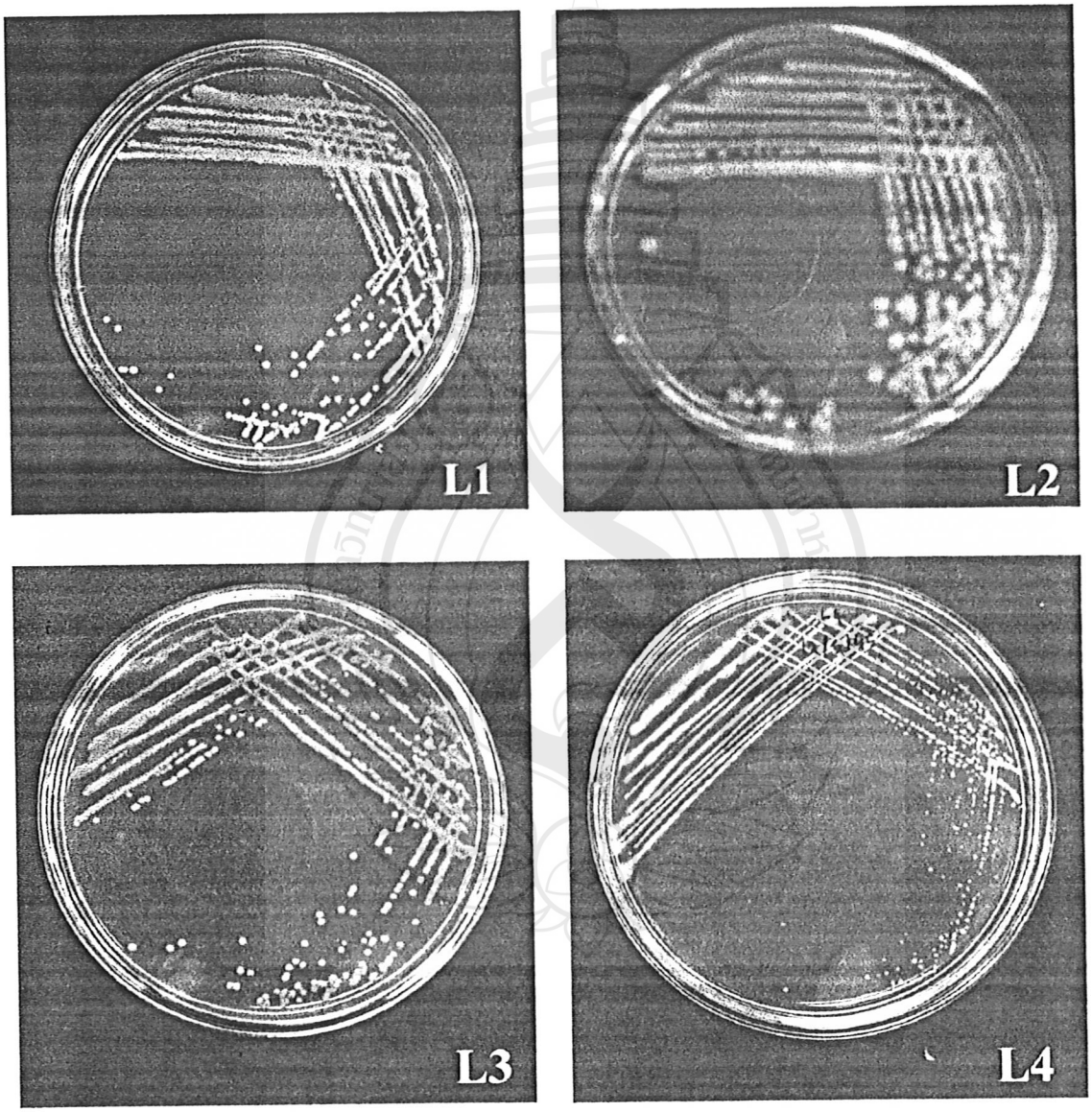
ตารางที่ 4.1 ขนาดกว้าง*ยาว (มิลลิเมตร) ของเชื้อยีสต์บนอาหารแข็ง YM ที่คัดแยกได้ จากผิวของผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยในพื้นที่เขตจังหวัดเชียงราย

ชื่อเชื้อ	สีของ โคโลนี	ลักษณะที่พบ	ขนาด (กำลังขยาย 100x)	
			ยาว (มิลลิเมตร)	กว้าง (มิลลิเมตร)
L1	สีขาวออกเหลือง	เซลล์มีลักษณะเป็นวงรี ขอบเรียบ และอยู่ในช่วงของการ Budding	$3.85*10^{-3}$	$2.31*10^{-3}$
L2	สีขาวขุ่น	เซลล์มีรูปร่างยาวแหลม ขอบเรียบ และอยู่ในช่วงของการBudding	$6.15*10^{-3}$	$2.31*10^{-3}$
L3	สีส้ม	เซลล์มีลักษณะเรียวยาวเหมือนท่อน ขอบเรียบ และอยู่ในช่วงของการ Fission	$6.92*10^{-3}$	$2.31*10^{-3}$

ตารางที่ 4.1 ขนาดกว้าง*ยาว (มิลลิเมตร) ของเชื้อยีสต์บนอาหารแข็ง YM ที่คัดแยกได้ จากผิวของผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยในพื้นที่เขตจังหวัดเชียงราย (ต่อ.....)

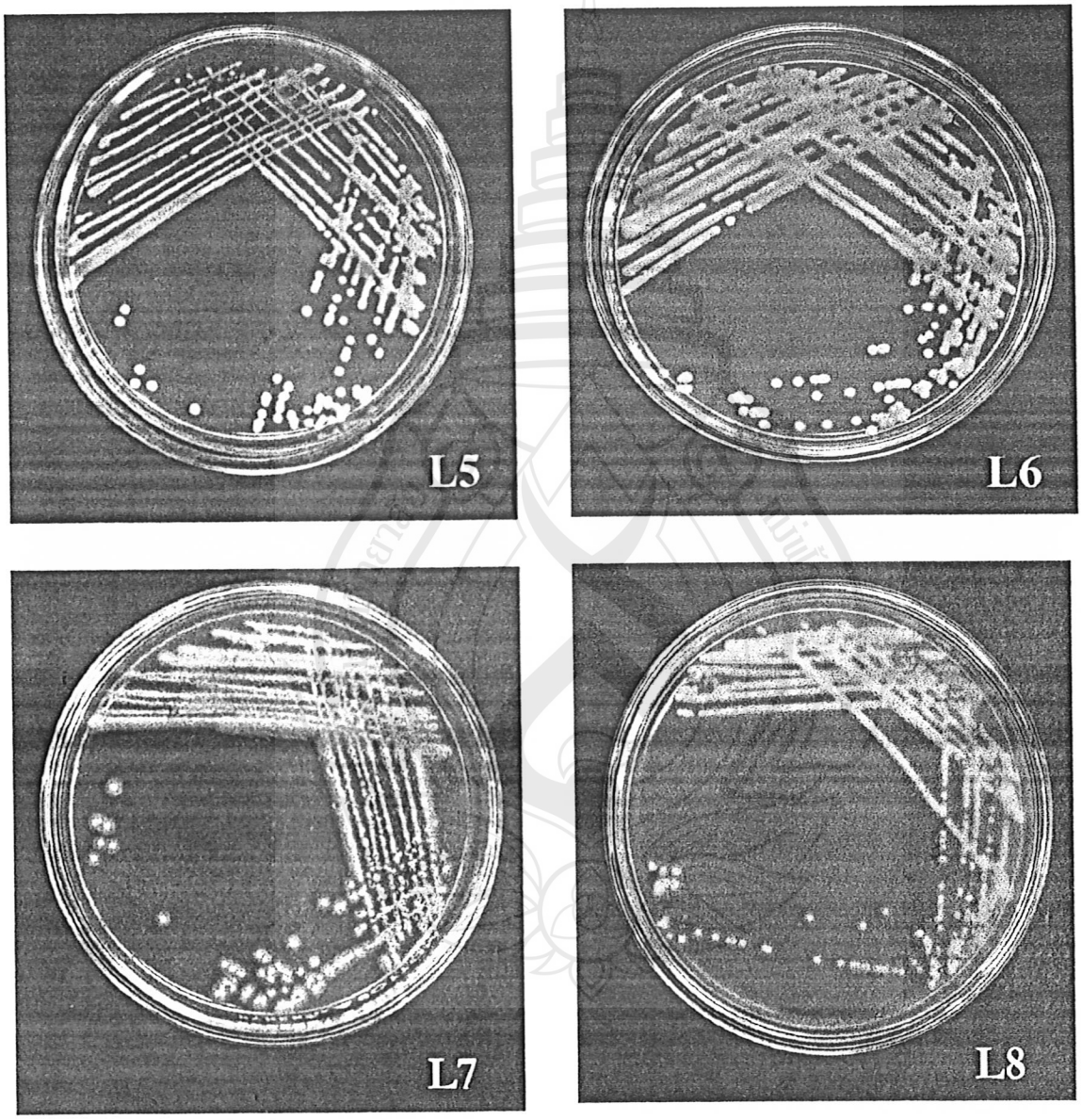
ชื่อเชื้อ	สีของ โคโลนี	ลักษณะที่พบ	ขนาด (กำลังขยาย 100x) ยาว (มิลลิเมตร)	กว้าง (มิลลิเมตร)
L4	สีเหลือง	มีเซลล์ 2ลักษณะเจริญอยู่ด้วยกัน คือ		
		1. เซลล์ที่มีลักษณะกลม	$3.85*10^{-3}$	$3.85*10^{-3}$
		2. เซลล์ที่มีลักษณะเป็นรูปรี	$3.85*10^{-3}$	$2.31*10^{-3}$
L5	สีเหลืองเข้ม	เซลล์มีลักษณะเป็นรูปไข่ ขอบเรียบ และอยู่ในช่วงของการ Budding	$3.85*10^{-3}$	$2.31*10^{-3}$
L6	สีขาวขุ่น	เซลล์มีลักษณะเป็นรูปไข่ ขอบเรียบ และอยู่ในช่วงของการ Budding	$3.85*10^{-3}$	$2.31*10^{-3}$
L7	สีเหลืองเข้ม ออกน้ำตาล	เซลล์มีลักษณะเป็นรูปยาวรีค่อนข้างใหญ่และยาว ขอบเรียบ อยู่ในช่วงของการ Budding	$6.92*10^{-3}$	$3.85*10^{-3}$
L8	สีขาวขุ่น	เซลล์มีลักษณะเป็นรูปไข่ ขอบเรียบ และอยู่ในช่วงของการ Budding	$3.85*10^{-3}$	$2.31*10^{-3}$
L9	สีขาวขุ่น	เซลล์มีลักษณะเป็นรูปไข่ ขอบเรียบ และอยู่ในช่วงของการ Budding	$3.85*10^{-3}$	$2.31*10^{-3}$
L10	สีส้ม	เซลล์มีลักษณะเรียวยาว ขอบเรียบ และอยู่ในช่วงของการ Budding	$5.38*10^{-3}$	$2.31*10^{-3}$
L11	สีขาว	เซลล์มีลักษณะเรียวยาว ขอบเรียบ และอยู่ในช่วงของการ Fission	$5.38*10^{-3}$	$2.31*10^{-3}$
L12	สีขาวขุ่น	เซลล์มีลักษณะเป็นรูปไข่ ขอบเรียบ และอยู่ในช่วงของการ Budding	$3.85*10^{-3}$	$2.31*10^{-3}$

เมื่อได้เชื้อยีสต์บริสุทธิ์ทั้ง 12 สายพันธุ์ แล้ว จึงนำเชื้อดังกล่าวมาแยกเขี่ยลงบนอาหารแข็ง เพื่อดูลักษณะของโคโลนีบนอาหารแข็ง ในรูปที่ 4.1 ถึงรูปที่ 4.3 แสดงรูปร่าง และสีของโคโลนีของยีสต์ที่คัดแยกได้ที่เจริญบนอาหารแข็ง ซึ่งพบว่ามีสีแตกต่างกันไปตั้งแต่สีขาวขุ่น สีครีม สีส้ม และเหลือง รูปร่างมีตั้งแต่เป็นรูปกลม ไข่ ยาว โดยส่วนใหญ่จะมีการสืบพันธุ์แบบแตกหน่อ และมีขนาดใกล้เคียงกันมาก ๆ คือ ประมาณ 2 - 5 *10^{-3} มิลลิเมตร และรูปร่างของเชื้อยีสต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แสดงดังรูปที่ 4.4 ถึงรูปที่ 4.6



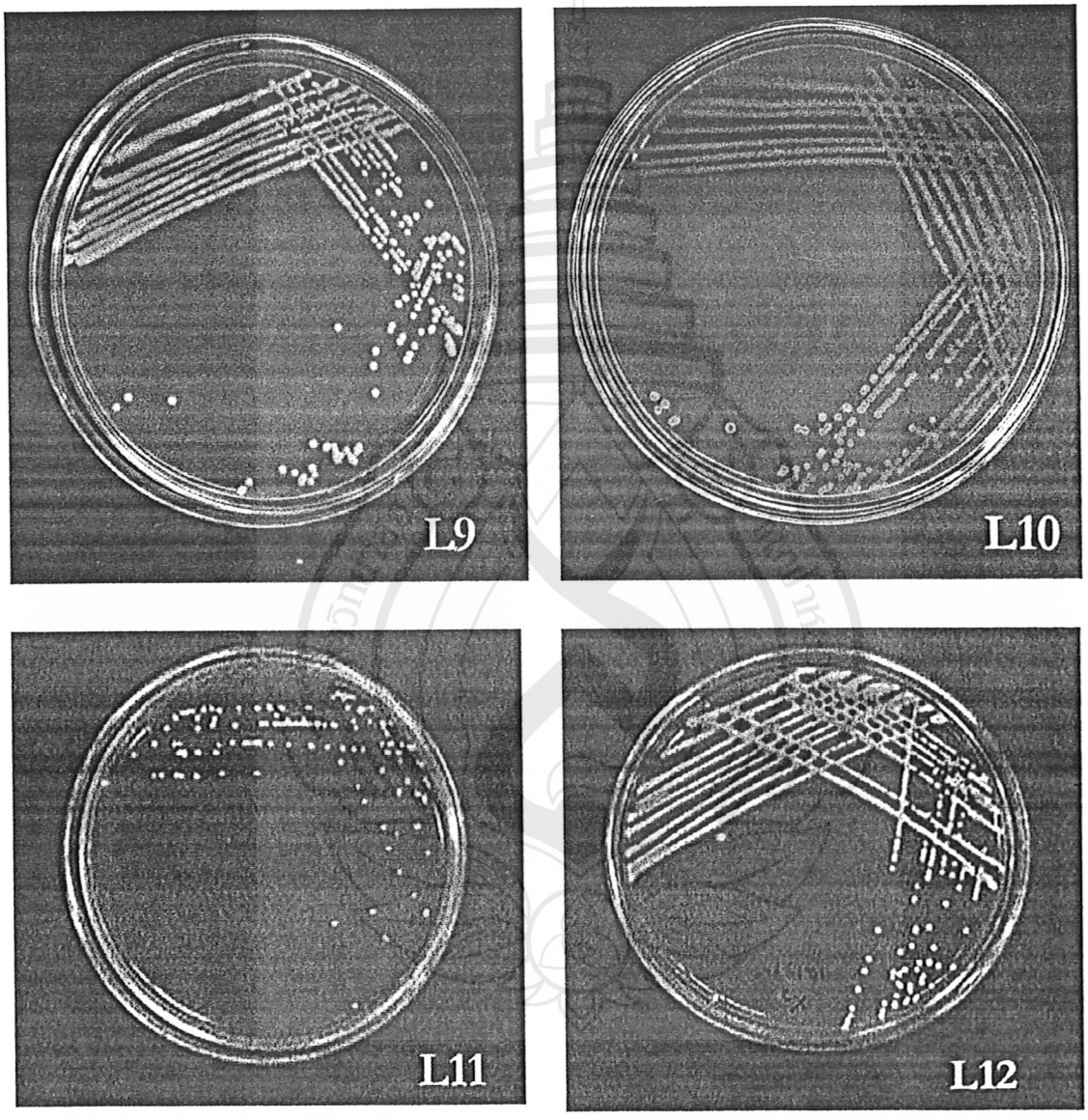
รูปที่ 4.1 รูปร่าง สี และลักษณะของโคโลนีเชื้อยีสต์ L1, L2, L3 และ L4 ที่คัดแยกได้บนอาหารแข็ง YM agar

จากรูปที่ 4.1 ด้านบนเป็นแสดงลักษณะการเจริญของเชื้อบนอาหาร YM Agar โดยเชื้อยีสต์สายพันธุ์ L1 โคโลนีมีสีขาวออกเหลือง มีผิวหน้ามันวาวและขอบเรียบ ในขณะที่สายพันธุ์ L2 โคโลนีมีสีขาวขุ่น มีผิวด้านไม่มันวาว ขอบเรียบ และพบว่าบริเวณกลางของโคโลนีจะนูนและมีสีเข้มกว่าบริเวณขอบ ส่วนสายพันธุ์ L3 โคโลนีมีสีส้ม มีผิวหน้ามันวาวและขอบเรียบ และสายพันธุ์ L4 โคโลนีมีสีเหลือง มีผิวหน้ามันวาว และขอบเรียบ



รูปที่ 4.2 รูปร่าง สี และลักษณะของโคโลนีเชื้อยีสต์ L5, L6 L7 และ L8 ที่คัดแยกได้บนอาหารแข็ง YM agar

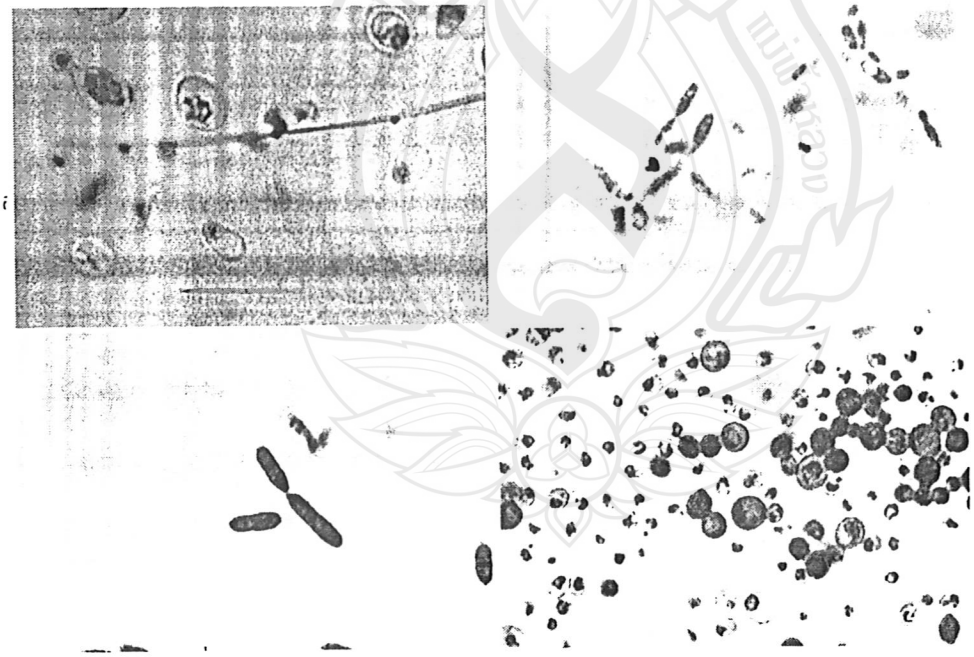
จากรูปที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าเชื้อสายพันธุ์ L5 โคโลนีมีสีเหลืองเข้ม มีผิวหน้ามันวาวและขอบเรียบ ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อสายพันธุ์ L6 และ L8 ซึ่งโคโลนีมีสีขาวขุ่น มีผิวหน้ามันวาวและขอบเรียบเช่นเดียวกัน ส่วนเชื้อสายพันธุ์ L7 นั้นโคโลนีมีสีเหลืองเข้มออกน้ำตาล มีผิวด้านและขอบเรียบ



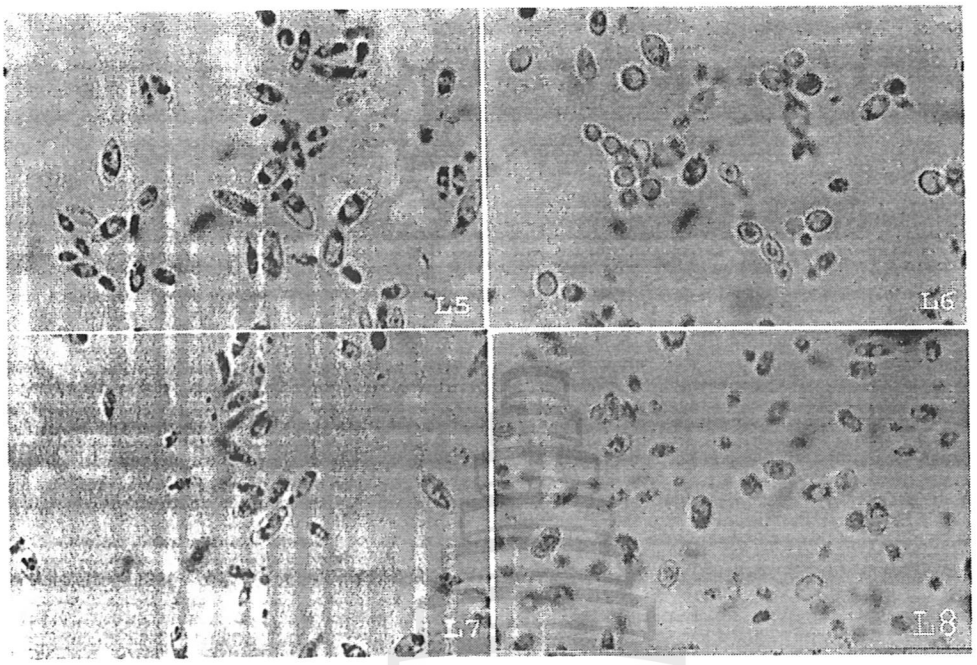
รูปที่ 4.3 รูปร่าง สี และลักษณะของโคโลนีเชื้อยีสต์ L9, L10, L11 และ L12 ที่คัดแยกได้บนอาหารแข็ง YM agar

ในขณะที่เชื้อสายพันธุ์ L9 ก็มีโคโลนีมีสีขาวขุ่น มีผิวหน้ามันวาวและขอบเรียบเช่นเดียวกัน ส่วนเชื้อยีสต์สายพันธุ์ L10 มีโคโลนีสีส้มเข้มจนเกือบเป็นสีแดง มีสีผิวด้านไม่มันวาว มีโคโลนีขรุขระ และขอบมีลักษณะเป็นหยัก ส่วนเชื้อยีสต์สายพันธุ์ L11 นั้นโคโลนีมีสีขาว มีผิวด้านและขอบเรียบ และสายพันธุ์สุดท้ายที่คัดแยกได้คือเชื้อยีสต์สายพันธุ์ L12 โคโลนีมีสีขาวออกน้ำตาล มีผิวหน้ามันวาวและขอบเรียบ (รูปที่ 4.3)

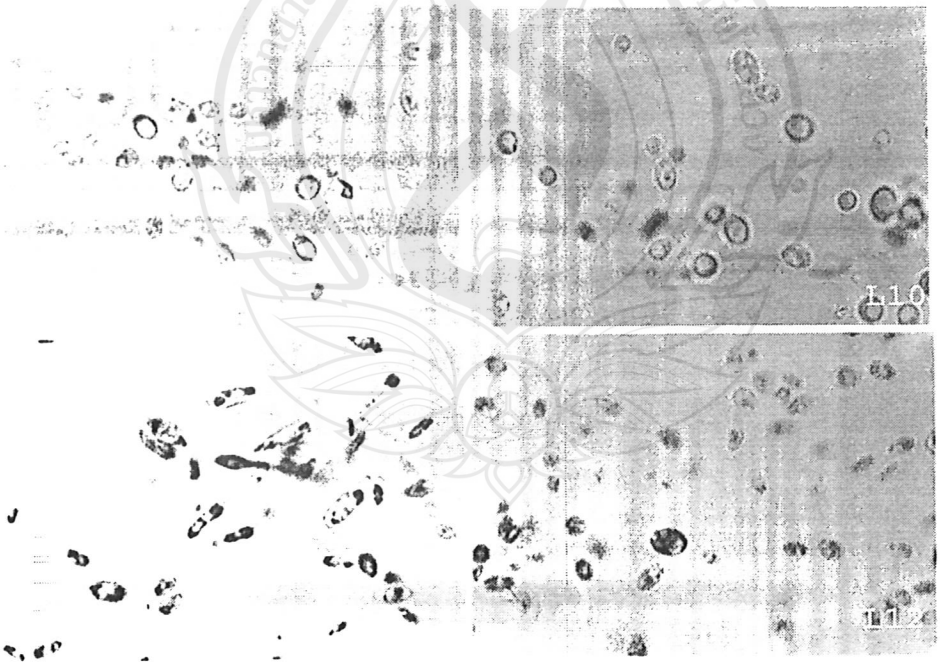
จะเห็นได้ว่าในบรรดาเชื้อยีสต์ทั้ง 12 สายพันธุ์นั้น มีบางสายพันธุ์สามารถสร้างรงควัตถุได้ทำให้โคโลนีมีสีแตกต่างกัน และบางสายพันธุ์รงควัตถุเหล่านั้นยังสามารถซึมผ่านเซลล์ยีสต์ออกมานอกเซลล์ทำให้สีของอาหารแข็งเปลี่ยนแปลงไปอีกด้วย เช่น เชื้อยีสต์สายพันธุ์ L7 และ L12 สามารถสร้างรงควัตถุสีออกเหลือง และแดงตามลำดับ ทำให้อาหารแข็งเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีตามรงควัตถุที่ยีสต์สร้างขึ้น เป็นต้น แต่ในบางสายพันธุ์ ยีสต์สามารถสร้างรงควัตถุได้ แต่รงควัตถุดังกล่าวไม่สามารถซึมผ่านผนังเซลล์ยีสต์ออกมาได้ จึงไม่ทำให้สีของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนแปลง ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์สำหรับการจำแนกเชื้อได้ต่อไป (นงลักษณ์ และปรีชา, 2544)



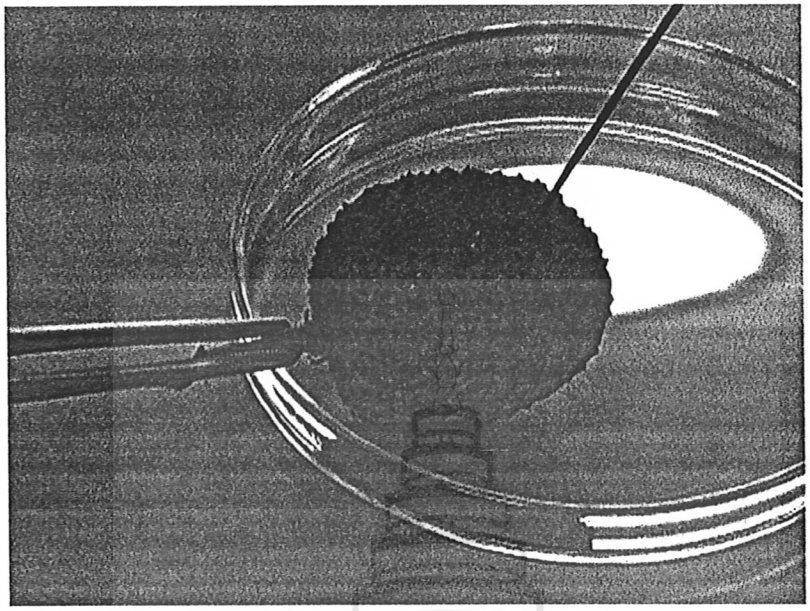
รูปที่ 4.6 ลักษณะของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จากผิวเปลือกลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย สายพันธุ์ L1, L2, L3 และ L4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า



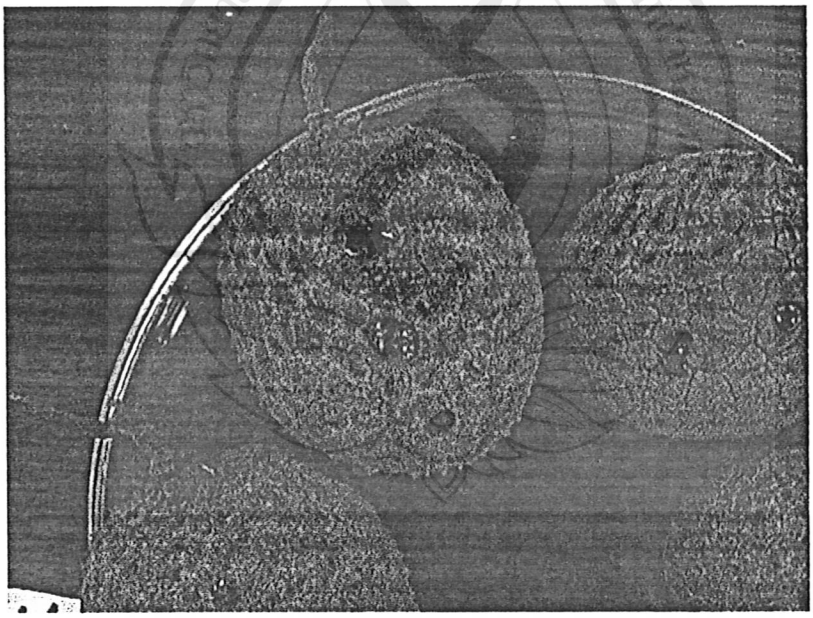
รูปที่ 4.7 ลักษณะของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จากผิวเปลือกลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย สายพันธุ์ L5, L6, L7 และ L8 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า



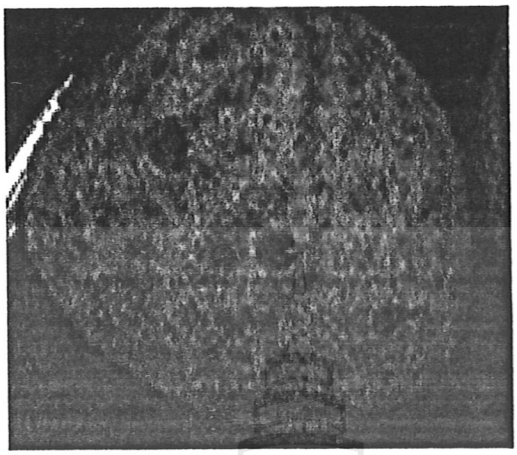
รูปที่ 4.8 ลักษณะของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จากผิวเปลือกลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย สายพันธุ์ L9, L10, L11 และ L12 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า



รูปที่ 4.10 การทดสอบการเกิดโรคโดยใช้เชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้บนผลลิ้นจี่



รูปที่ 4.11 ลักษณะแผลของลิ้นจี่หลังจากใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่มีเชื้อยีสต์กดลงบนผิวเปลือก



รูปที่ 4.12 รอยแผลบนผลลิ้นจี่หลังจากบ่ม

เมื่อนำเชื้อดังกล่าวมาทดสอบการเกิดโรคในผลลิ้นจี่ (รูปที่ 4.7) พบว่าเชื้อทั้งสิบสองชนิดไม่มีผลทำให้เกิดโรคในผลลิ้นจี่ โดยสังเกตจากรอยเข็มเขี่ยเชื้อซึ่งมีลักษณะเปียกเมื่อใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่มีเชื้อยีสต์กดลงบนผิว (รูปที่ 4.8) และหลังจากบ่มที่อุณหภูมิเหมาะสม พบว่าไม่มีการขยายวงกว้างออกไป แต่มีลักษณะแห้งดำ ดังแสดงในรูปที่ 4.9 จากการทดสอบดังกล่าว มีผลให้สามารถเก็บเชื้อยีสต์ทั้งสองชนิดนี้ไว้เพื่อการศึกษาการควบคุมโรคในผลไม้โดยใช้วิธีทางชีววิธีได้ทั้งหมด โดยหลังจากการทดลองนี้ได้เก็บรักษาเชื้อไว้ในสารละลายกลีเซอรัล สำหรับการทำการทดลองเรื่องการควบคุมจุลินทรีย์ โดยใช้วิธีทางชีววิธีและรอการจำแนกสายพันธุ์ต่อไป

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าเชื้อยีสต์ที่คัดแยกจากผลลิ้นจี่นั้นมีเพียง 12 สายพันธุ์เท่านั้น และมีลักษณะที่ใกล้เคียงกัน โดยมีการเจริญพันธ์ส่วนใหญ่โดยวิธีการแตกหน่อ และมีขนาดอยู่ระหว่าง 2-5 $*10^{-3}$ มิลลิเมตร ซึ่งเมื่อนำเชื้อยีสต์ดังกล่าวไปทดสอบโรคกลับในผลลิ้นจี่ พบว่าเชื้อยีสต์ทุกสายพันธุ์ที่คัดแยกได้ไม่สามารถที่จะก่อให้เกิดโรคในผลลิ้นจี่ได้ จึงมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นสายพันธุ์สำหรับการควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีววิธีได้

บทที่ 6

เอกสารอ้างอิง

กรมศุลกากร. 2543. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกลิ้นจี่สดและลิ้นจี่กระป๋อง /538-2542. กรมศุลกากร, กรุงเทพฯ

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2540. ลิ้นจี่. พิมพ์ครั้งที่ 4 ฝ่ายเอกสารคำแนะนำ กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร. 34น.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2544. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 3 สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. 736น.

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2544. โรคไม้ผลเขตกึ่งร้อน: ทับทิม น้อยหน่า ลำไย ลิ้นจี่ ส้ม องุ่น และอะโวกาโด. บริษัท เจ ฟิล์ม โปรเซส จำกัด. กรุงเทพฯ. 144น.

ประดิษฐ์ ครุวัณนา. 2543. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักไวน์. หน้า 21-25. *ใน* เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง เครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผลิตผลเกษตร รุ่นที่ 2 ระหว่างวันที่ 18-20 กันยายน 2543 ณ สภาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 83น.

มณฑาทิพย์ เสาร์ห้า. 2540. การควบคุมโรคขั้วผลเน่าของมะม่วงโดยใช้ยีสต์. วิทยานิพนธ์-วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 65น.

วรรณวิไล อินทนู และจิระเดช แจ่มสว่าง. 2543. การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวของพืชในการควบคุมโรคพืชบนใบโดยชีววิธี. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 18น.

ศรีมูล บุญรัตน์. 2528. การปลูกและการใช้เทคโนโลยีในการทำสวนลิ้นจี่. สถานีทดลองพืชสวนฝาง จังหวัดเชียงใหม่ สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. 27น.

สำนักงานเกษตรจังหวัดเชียงราย. 2543. ข้อมูลพืชเศรษฐกิจ ปี 2543. สำนักงานเกษตรจังหวัดเชียงราย กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 52น.

สุรชาติ คูอาริยะกุล และวิชชา สอาดสุด. 2543. การห่อผลลิ้นจี่เพื่อลดปริมาณโรคภายหลังการเก็บเกี่ยว. โครงการวิจัย ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย กลุ่มงานอารักขาพืช สถาบันวิจัยพืชสวน. 20น.

อรรณพ องค์สกุล. 2532. การคัดเลือกจุลินทรีย์ควบคุมเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link. ที่สร้างอะฟลาทอกซินในข้าวโพด. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 107น.

Bley, C. 1999. Organic solution for controlling peach (*Prunus persica* var. O'Henry) Organic Farming and Research Foundation.Agroecology Group USA (last modified : 01/21/03).

Chalutz, E. and C.C. Wilson. 1990. Postharvest biocontrol of green and blue mold and sour rot of citrus fruit by *Debaryomyces hensenie* Plant Disease. 74: 134-137pp.

Cheah, L.H. and T.B. Tran. 2003. Post harvest Biocontrol of Penicillium rot of lemons with industrial yeast. *Access from* http://www.hortnet.co.nz/publications/ proceedings/95 /95_155html

De matos, A.P. 1983. Chemical and Microbiological factors influencing the infection of lemon by *Geotrichum candidum* and *Penicillium hansenii.* Ph.D. Thesis. University of California, Riverside. CA. 106p. *In* Cheah, L.H. and T.B. Tran. 2003. Post harvest Biocontrol of Penicillium rot of lemons with industrial yeast. *Access from* http://www.hortnet.co.nz/publications/ proceedings/95 /95_155html

Doyle, M.P., L. R. Beachat, and T.J. Montrille. 1997. Food Microbiology : Fundamental and Frontiers. ASM Press, Washington D.C. 768P.

E. Fredlund, U. Druvefors, M.E. Brysen, K.J. Lingsen and J. Schnurer. 2002. Physiology characteristics of the biocontrol yesst *Pichia anamola* J121. FEMS Yeast Research. 2: 395-402pp.

Fitzell, R.D. and L.M. Coates. 1995. Diseases of lychee. 41-42p. *In* Tropical Fruit, Postharvest disease of horticultural produce. Vol. 2. Department of Primary Industries, Queenland, 86p.

http://www. Dcae.go.th/plant/lychee.html

http://www.disc.doa.go.th/publication/publication/pub/scientific_14/scientific_3/hsst/litch. html ,ผลงานวิจัยประจำปี 2543 พืชสวน ,ลิ้นจี่)

http://www.helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/yeast.html

Karabulut, O.A., L. Cohen, B. Wiess, A. Davs, S. Lurie and S. Droby. 2002. Control of brown rot and blue mold of peach and nectarine by short hot water brushing and yeast antagonists. Postharvest Biology and Technology. 24:103-111pp.

Prasad, S.S. 1986. Fungal Diseases of Litchi and Management. pp221-233. *In* Raychaudnuri, S.P. and J.P. Verma. 1986. Review of Tropical Plant Pathology. 2: 221-223.

Qing, F. and T. Shiping. 2000. Postharvest bioligical control of Rhizopus Rot of Nectarine fruits. by *Pichia membranefaciens*. Plant Dis. 84 :1212-1216.

Rosini, G., F. Federici and A. Martini. 1982. Yeast flora of grape berries during ripening. Microb. Ecol., 8:83-89.

Roth, G. 1963, Postharvest decay of lichi fruit. Citrus and Subtropical Fruit Research Institute. Nelspruit. Technical Communication. 11: 1-16pp.

Salunkhe, D.K. and S. S. Deshpande. 1991. Food of Plant Origin : Production, Technology, and Human Nutrition. Van Nostrand Reinhold, New York. 501p.

S. Vero, P. Mondino, J. Burgueno, M. Soubes, and M. Wisniewski. 2002. Characterization of biocontrol activity of two yeast strains from uruyuay against blue mold of apple. Postharvest Biology and Technology. 26: 91-98pp.

Tandon, I.M.P. and R.N. Tandon. 1975. Rot of fruits of litchi (*Litchi chinensis*) in marketing processes. Indian Phytopathology. 28: 530-534pp.

Tongdee, S.C., K.J. Scott and McGlasson. 1982. Packaging and cool storage of litchi fruit. CSIRO Food Research Quarterly. 42:25-28pp.

Wilson, C.C. and E. Chalutz. 1989. Postharvest biological control of Penicillium rots of citrus with antagonist yeasts and bacteria. Scientia Horticultural. 40: 105-112pp.

Wszelaki, A.L. and E.J. Mitchan. 2003. Effect of combinations of hot water dips biological control and controlled atmospheres for control of gray mold on harvested strawberries. Postharvest Biology and Technology.27: 255-264pp.

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ นางสาวนิรมล ปัญญ์บุศยกุล

Ms. Niramol Punbusayakul

2. ตำแหน่งปัจจุบัน -

สถานที่ติดต่อ สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
333 หมู่ 1 ถนนพหลโยธิน ตำบลท่าสุด อำเภอเมือง
จังหวัดเชียงราย 57100
โทรศัพท์ (053) 706174 ต่อ 118
โทรสาร (053) 706174, 787193

ข้อมูลส่วนตัว เพศ หญิง
สถานภาพ โสด
สัญชาติ ไทย
วันเดือนปีเกิด 13 เมษายน 2514
สถานที่เกิด อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา

3. ประวัติการศึกษา

สถาบัน/มหาวิทยาลัย	วุฒิการศึกษา	ปี
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ)	2532-2535
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	วท.ม. (วิทยาศาสตร์การอาหาร)	2536-2539

4. สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ

Food spoilage, Food fermentation, Fruit and vegetable and products, Bakery products

5. ประวัติการทำงาน

มิย. 2543- อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ก.ค. 2539-มิ.ย.2543 อาจารย์ประจำสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย

พ.ค. 2541-พ.ค. 2543 ผู้ช่วยหัวหน้าสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย

ม.ค. 2543-พ.ค. 2543 เลขานุการรองคณบดีฝ่ายวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย

6. ผลงานทางวิชาการ

2543:-

1. นิรมล ปัญญ์บุศยกุล. 2543. การใช้แป้งถั่วเหลืองพร่องไขมันทดแทนแป้งสาลีบางส่วนในเค้กเนยสด. วารสาร มกค. 20(1): 22-29น.

2542:

บทความวิจัย

1. นิรมล ปัญญ์บุศยกุล. 2542 การใช้แป้งถั่วเหลืองพร่องไขมันทดแทนแป้งสาลีบางส่วนในคุกกี้. วารสาร มกค. 19(3): 22-27น.
2. นิรมล ปัญญ์บุศยกุล. 2542. การใช้แป้งถั่วเหลืองพร่องไขมันทดแทนแป้งสาลีบางส่วนในเค้กชิฟฟอน. วารสารอาหาร. 29(3) : 180-186น.
3. นิรมล ปัญญ์บุศยกุล. 2542. การผลิตไวน์จากมะพร้าวน้ำหอม (*Cocos mucifera* Linn.) ในรายงานประกอบการสัมมนาทางวิชาการเกษตรเจ้าคุณ 30 ปี. 24-25 มิถุนายน 2542, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเก่ล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 399-467น.

4. Phensaijai, M., Apintanapong, M., Premsri, T. and Punbusayakul, N. 1999. Reduction of Cadmium by *Bacillus megatherium, Proteus vulgaris* and *Zoogloea ramigera. In* CD-ROM. The 5th Asia-pacific Biochemical Engineering Conference 1999 and the 11th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology. 15-18 November 1999 Arcadia Hotel & Resort, Phuket Thailand.
5. Punbusayakul, N. 1999. Smoking Charcoal Production from Flavored Sauce Manufacturing Waste. *In* Abstract of 10th World Congress of Food Science and Technology. 3-8 October 1999, Sydney Australia. 80p.

บทความวิชาการ

6. นิรมล ปัญญ์บุศยกุล. 2542. HACCP และ Hurdle Technology. วารสารอาหาร. 29(4): 299-302น.
7. นิรมล ปัญญ์บุศยกุล. 2542. โปรตีนจากวัสดุเหลือทิ้ง. วารสาร มกค. 19(1): 8-15น.

2541:

1. นิรมล ปัญญ์บุศยกุล. 2541. รงควัตถุในผักและผลไม้. วารสาร มกค. 18(2): 6-14น.

2540:

1. เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์, นิรมล ปัญญ์บุศยกุล และมงคล เพ็ญสายใจ. 1997. การผลิตไซลิทอลจาก D- xylose โดยใช้เชื้อ *Candida guilliermondii* NCYC and *Candida tropicalis* ATCC 9968 (Production of Xylitol from D-xylose by *Candida guilliermondii* NCYC and *Candida tropicalis* ATCC 9968). ใน รายงานการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ครั้งที่ 23. 20-22 ตุลาคม 2540. โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว เชียงใหม่. 614-615น.

2539:

1. Thanaboripat, D., Premsri, T., Punbusayakul, N. and Sukcharoen, O. 1996. Effect of Food Preservatives on Growth and Aflatoxin Production of *Aspergillus flavus* in Liquid Medium. ASEAN Food Journal. 11(2): 61-64p.