

การเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลในผลพริกระหว่างการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* และ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสและการเกิดโรค
 Changing of Total Phenolic Compound in Chili Fruits During Infection of *Colletotrichum Capsici* and *Colletotrichum Gloeosporioides* Anthracnose Disease and Disease Incidence

สมศิริ แสงโชติ¹ และ สวิตา สุวรรณรัตน์^{1,2}Somsiri Sangchote¹ and Sawita Suwannarat^{1,2}

Abstract

Changing of total phenolic compounds and disease infection in green and red chili fruits cv. Bangchang during *C. capsici* and *C. gloeosporioides* infection was investigated. At 24 hours after inoculation (HAI) on green chili fruits, Infection of *C. capsici* and *C. gloeosporioides* was 96% and 100%, respectively, and total phenolic compounds was increased to 0.102 and 0.408 mgGAE/gFW, respectively. At 48 HAI, an infection of both pathogens was 100% and total phenolic compounds were increased to 0.149 and 0.019 mgGAE/gFW, respectively. *C. gloeosporioides* showed symptoms at 120 HAI but *C. capsici* showed no symptoms. At 24 HAI, *C. capsici* and *C. gloeosporioides* on red chili fruits, an infection was 75% and 87.5% respectively. Total phenolic compounds after infection with *C. capsici* were increased to 0.493 mgGAE/gFW but infected with *C. gloeosporioides* was decreased to 0.278 mgGAE/gFW. At 48 HAI, both pathogens showed 100% of infection and total phenolic compounds were decreased to 0.088 and 0.107 mgGAE/gFW, respectively. *C. capsici* and *C. gloeosporioides* showed the symptoms at 120 HAI.

Keywords: chili, anthracnose, phenolic compound

บทคัดย่อ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ในผลพริกพันธุ์บางช้างระหว่างการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ในระยะผลสีเขียวและผลสีแดง พบว่าที่ 24 ชั่วโมงหลังจากปลูกเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* บนพริกสีเขียว พบการติดเชื้อเท่ากับ 96 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นจากชุดที่ไม่ได้ปลูกเชื้อเท่ากับ 0.102 และ 0.408 mgGAE/gFW ตามลำดับ ที่ 48 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อรา พบการติดเชื้อทั้งสองชนิดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลเท่ากับ 0.149 และ 0.019 mgGAE/gFW ตามลำดับ โดยพบอาการของโรคบนผลหลังจากปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* 120 ชั่วโมง แต่ไม่พบอาการของเชื้อรา *C. capsici* และในผลพริกสีแดงที่ 24 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* พบการติดเชื้อเท่ากับ 75 และ 87.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นในบริเวณผลพริกที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เท่ากับ 0.493 mgGAE/gFW แต่พริกที่ปลูกเชื้อรา *C. capsici* ปริมาณสารประกอบลดลงจากชุดควบคุมเท่ากับ 0.278 mgGAE/gFW ที่ 48 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อรา การติดเชื้อเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลในผลพริกแดงที่ปลูกเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ลดลงจากชุดควบคุม 0.088 และ 0.107 mgGAE/gFW ตามลำดับ โดยผลที่ปลูกเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* แสดงอาการหลังปลูกเชื้อ 120 ชั่วโมง

คำสำคัญ: พริก แอนแทรกโนส สารประกอบฟีนอล

¹ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ 10900

¹ Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Bangkok 10900

² ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10400

² Postharvest Technology Innovation Center, Office of the Higher Education Commission, Bangkok 10400

คำนำ

พริก (*Capsicum* spp.) เป็นพืชที่เจริญดีในเขตร้อนชื้น ในประเทศไทยนิยมปลูกเพื่อบริโภคในรูปพริกสดและแบบแห้ง ปัญหาในการปลูกพบปัญหาเรื่องแมลงศัตรูพืชและปัญหาด้านโรคพืช ซึ่งโรคพืชที่สำคัญและสร้างความเสียหายให้กับผลผลิตมากคือ โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. โดยในประเทศไทยพบ 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Colletotrichum capsici*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Colletotrichum acutatum* (ถาวรทิพย์ และคณะ, 2548) อาการของโรคแอนแทรคโนสสามารถเกิดได้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวทั้งในผลพริกสีเขียวและผลพริกสีแดง และพบการเข้าทำลายแบบแฝงในผลพริกโดยไม่มีการแสดงอาการของเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ในระดับที่แตกต่างกัน โดยพบเชื้อรา *C. capsici* มากที่สุด (บุญญวดี, 2540) ซึ่งปัจจัยในการเข้าทำลายแบบแฝงของโรคหลังการเก็บเกี่ยวมีความเกี่ยวข้องกับในการยับยั้ง การพัฒนาของเชื้อตลอดจนปัจจัยทางสรีระวิทยาของพืช ที่ชักนำสารประกอบต่อต้านเชื้อรา (Prusky, 1996) ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อศึกษาระยะเวลาในการติดเชื้อของเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ทั้งในผลพริกทั้งสองระยะ และการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลในผลพริกระหว่างการเข้าทำลายของเชื้อราต่อการแสดงออกของโรคบนผลพริก

อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมเชื้อราเพื่อนำมาศึกษาทำโดยนำเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ที่เก็บรักษาอยู่ในเมล็ดพริก นำมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 1% sodium hypochlorite เวลา 5 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) โดยให้แสง near ultra violet เวลา 12 ชั่วโมงสลับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไปทดสอบความสามารถในการเกิดโรคของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ กับผลพริกบนต้น โดยคัดเลือกผลพริกสีเขียวและสีแดง เพื่อปลูกเชื้อลงบนผล ปลูกเชื้อโดยพ่นสปอร์แขวนลอยความเข้มข้น 2×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ด้วยเครื่อง airbrush บ่มผลพริกที่ปลูกเชื้อโดยคลุมผลด้วยถุงพลาสติกขึ้นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจอาการของโรคหลังการปลูกเชื้อทุกๆ วันและแยกเชื้อซ้ำอีกครั้ง

การตรวจสอบการติดเชื้อในผลพริก ปลูกเชื้อราลงบนผลพริกแดงและผลพริกเขียวโดยการพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ด้วยเครื่อง airbrush ลงบนผลพริกแต่ละผลให้ได้ปริมาณสปอร์ต่อพื้นที่ผิวผลประมาณ 5000-6000 สปอร์/ตารางเซนติเมตร จากสปอร์แขวนลอยความเข้มข้น 2×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่ปลูกบนผลโดยคลุมถุงพลาสติกขึ้น ตรวจสอบการติดเชื้อในผลพริก ที่เวลา 3 6 12 24 และ 48 ชั่วโมง ด้วยวิธี tissue transplanting โดยตัดชิ้นพืชจากบริเวณที่ปลูกเชื้อขนาดประมาณ 0.5×0.5 เซนติเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอกด้วย 1% sodium hypochlorite เวลา 5 นาที ผึ่งแห้งแล้ววาง บนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) ตรวจสอบโคโลนีของเชื้อหลังแยกเชื้อบนอาหาร 5 วัน และคำนวณเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อจาก จำนวนชิ้นพืชที่แยกเชื้อราได้ต่อจำนวนชิ้นพืชที่แยกเชื้อทั้งหมดของช่วงเวลานั้นๆ

การตรวจวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอล (total phenolic compounds) หลังจากปลูกเชื้อที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยบดตัวอย่างจากตำแหน่งที่ปลูกเชื้อ *C. capsici* เชื้อรา *C. gloeosporioides* และไม่ปลูกเชื้อ ด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วละลายด้วย 80% เอทานอล จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 10000×g เป็นเวลา 20 นาที นำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu phenol reagent คำนวณหาปริมาณสารโดยรวมในรูปของ milligrams of gallic acid equivalents per liter (mg GAE/L) ตรวจสอบปริมาณสารที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 765 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

ผล

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* บนต้นพริกของผลพริกสีเขียวและสีแดง พบว่าผลพริกสีเขียวและสีแดงที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เริ่มแสดงอาการของโรคให้เห็น 120 ชั่วโมงหลังจากปลูกเชื้อโดยผลพริกแสดงอาการยุบตัวบริเวณผิวผล สำหรับผลพริกที่ปลูกเชื้อรา *C. capsici* เฉพาะผลพริกสีแดงปรากฏอาการของโรคให้เห็น แต่ไม่สังเกตเห็นอาการของโรคในผลพริกสีเขียว สำหรับอาการที่พบในผลพริกสีแดง เนื้อเยื่อที่ผิวยุบตัวลง (Figure 1)



Figure 1 The anthracnose symptom on chili fruits 120 hours after inoculation (A) green chili fruit inoculated with *C. gloeosporioides* (B) red chili fruit inoculated with *C. gloeosporioides* (C) no any symptom on green chili fruit inoculated with *C. capsici* (D) red chili fruit inoculated with *C. capsici*

ผลการศึกษากการติดเชื้อของ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ในผลพริก (Figure 2.) พบว่าที่ 6 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ พริกทั้งสองระยะคือพริกแดงและพริกเขียวมีการติดเชื้อของเชื้อราทั้งสองชนิด และที่ 48 ชั่วโมงพบการติดเชื้อเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

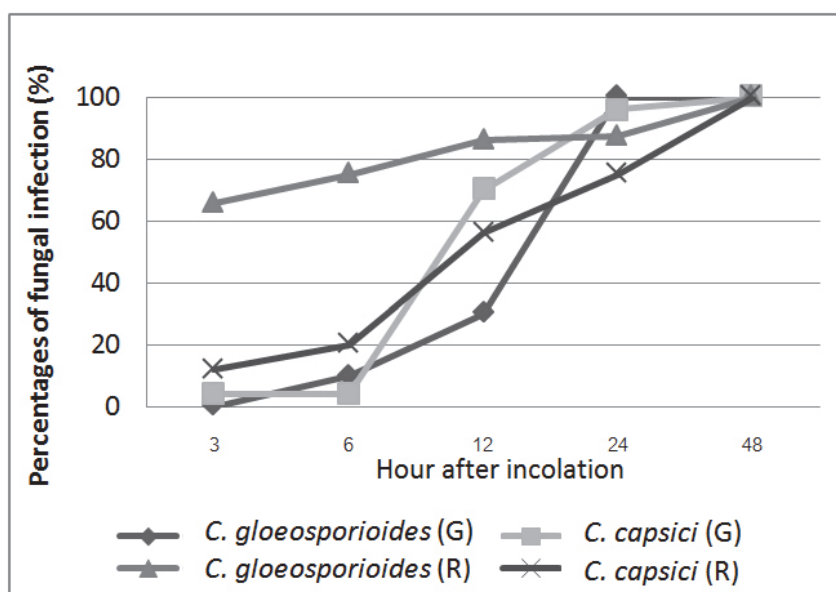


Figure 2 Percentages (%) of fungal on chili fruits at 3, 6,12 ,24 and 48 hours after inoculation

ผลการศึกษากการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลในผลพริก (Figure 3) พบว่าที่ 24 ชั่วโมงหลังจากปลูกเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* บนพริกสีเขียวปริมาณสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นจากชุดที่ไม่ได้ปลูกเชื้อเท่ากับ 0.102 และ 0.408 mgGAE/gFW ตามลำดับ ที่ 48 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อรา การเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลเท่ากับ 0.149 และ 0.019 mgGAE/gFW ตามลำดับ และบนผลพริกสีแดงที่ 24 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อรา ปริมาณสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นในบริเวณผลพริกที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เท่ากับ 0.493 mgGAE/gFW แต่พริกที่ปลูกเชื้อรา *C. capsici* ปริมาณสารประกอบลดลงจากชุดควบคุมเท่ากับ 0.278 mgGAE/gFW ที่ 48 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ลดลงจากชุดควบคุม 0.088 และ 0.107 mgGAE/gFW ตามลำดับ

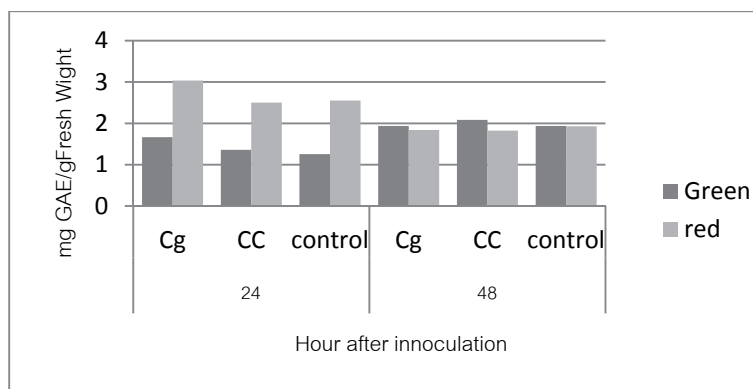


Figure 3 Comparison of total phenolic compound extracts from green and red chili fruits inoculated with *C.gloeosporioides* and *C.capsici*

วิจารณ์ผล

จากผลการศึกษากการติดเชื้อของผลพริกและการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลของผลพริกสีแดงและผลพริกสีเขียว ภายหลังจากการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ต่อการแสดงอาการของโรคบนผลพริกของเชื้อสาเหตุแต่ละชนิด พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* สามารถติดเชื้อภายในผลพริกทั้งสองระยะได้ โดยเชื้อ *C. capsici* เริ่มติดเชื้อภายในผลพริกทั้งสองระยะที่ 3 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ ส่วน *C. gloeosporioides* เริ่มเข้าติดเชื้อผลพริกสีแดงที่ 3 ชั่วโมง และผลสีเขียวที่ 6 ชั่วโมง และที่ 48 ชั่วโมง พบการติดเชื้อในผลพริกทั้งสองระยะเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองการเปลี่ยนสารประกอบฟีนอลภายในผลพริกภายหลังจากการปลูกเชื้อพบว่า ที่ 24 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อ ปริมาณสารประกอบฟีนอลในผลพริกทั้งสองระยะมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่ไม่ได้มีการปลูกเชื้อ การเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลนั้นอาจเป็นผลมาจากการที่พืชถูกกระตุ้นด้วยเชื้อโรค ทำให้เกิดกลไกการป้องกันตัวเองจากการเข้าทำลายโดยเชื้อ พืชจึงมีการเร่งผลิตสารเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรค (Guest and Brown, 1997) และที่ 48 ชั่วโมง ในผลพริกสีเขียวที่ปลูกเชื้อ ปริมาณสารประกอบฟีนอลยังมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม แต่ปริมาณการเปลี่ยนแปลงมีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ 24 ชั่วโมงแรกที่ปลูกเชื้อลงไป ส่วนการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลในผลพริกแดง ที่ 48 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม ซึ่งจากค่าการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลนั้นไม่ได้มีผลโดยตรงต่อการไม่แสดงอาการของเชื้อรา *C. capsici* ในผลพริกสีเขียว

สรุป

การเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลภายในผลพริกและการติดเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* เชื้อสามารถเข้าทำลายในผลพริกทั้งในผลสีแดงและสีเขียว แต่ในผลพริกสีเขียวที่ปลูกเชื้อ *C. capsici* ไม่ได้ปรากฏอาการของโรคแอนแทรกโนสให้เห็นซึ่งจากศึกษาผลของสารประกอบฟีนอลไม่มีผลต่อการแสดงอาการ เพราะพบว่าที่ 48 ชั่วโมงเชื้อราสามารถเข้าทำลายได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลเป็นการตอบสนองของพืชในการเข้าทำลายของเชื้อในระยะเริ่มแรก

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก และศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวที่สนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ธารทิพย์ ภาสบุตร, กรรณิการ์ เพ็ญนภักดิ์ และธนิตย์ ปล่องบรรจง. 2548. รวบรวมและจัดจำแนกชนิดเชื้อราสกุล *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของไม้ผลและพืชเศรษฐกิจ. กลุ่มวิจัยโรคพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรุงเทพฯ.
 บุญญวดี จิระวุฒิ. 2540. การทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนผลพริกและถ่ายถอดเชื้อจากผลที่เป็นโรคส่วนเมล็ดและต้นกล้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
 Guest, D. I. and J.F. Brown. 1997. Plant defences against Pathogens In Brown, J.F. & Ogle, J.H. (Eds.) Plant Pathogens and Plant Diseases. Rockvale Publications, Armidale, New South Wales. pp. 263-286.
 Prusky, D. 1996. Pathogen quiescence in postharvest diseases. Annual Review of Phytopathology 34: 413-434.