Agricultural Sci. J. 44 : 3 (Suppl.) : 14-17 (2013) ว. วิทย. กษ. 44 : 3 (พิเศษ) : 14-17 (2556)

การกระตุ้นความต้านทานในผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้สารเคมีที่จัดอยู่ในกลุ่มปลอดภัย ที่มีต่อโรคแอนแทรคโนส

Induced Resistance of Mango After Harvest with Generally Regarded as Safe (GRAS) Chemicals Against Anthracnose Disease

วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย[1] **และ สมศิริ แสงโชติ**[1,2]
Weeraporn Dejnumbunchachai [1] and Somsiri Sangchote[1,2]

Abstract

The effectiveness of generally recognized as safe (GRAS) including propyl paraben, salicylic acid and oxalic acid at five concentrations of 100, 250, 500, 750 and 1,000 mg/l were tested to control mango anthracnose. *In vitro*, propyl paraben at 250, 500, 750 and 1,000 mg/l to inhibited the mycelial growth of *Colletotrichum. gloeosporioides* by 100% as Imazalil at 100 250 and 500 mg/l. Salicylic acid at 1,000 mg/l and propyl paraben at 100 mg/l inhibited mycelial growth of this fungus by 44.2 and 40.7% respectively. *In vivo*, experiments were divided into pre and post inoculation with *C. gloeosporioides* 10^6 conidia/ml at 25ºc for 24 hr in the moist condition after treatment. The pre-inoculation experiment, at 250 mg/l Imazalil was the most effective and showed disease severity at 6.0% whereas oxalic acid at 100 mg/l and salicylic acid at 250 mg/l, disease severity was 6.1 and 10.5%, respectively. For the post-inoculation experiment, propyl paraben at 250 mg/l showed the lowest disease severity at 4.9% followed by Imazalil at 250 mg/l and at propyl paraben 100 mg/l, disease severity was 5.5 and 5.7%, respectively.

Keywords: Mango, induced resistance, anthracnose

บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพสารปลอดภัย (GRAS) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของสาร 3 ชนิด คือ propyl paraben, salicylic acid และ oxalic acid ที่ความเข้มข้น 5 ระดับคือ 100, 250, 500, 750 และ 1,000 mg/l พบว่าสารทั้ง 4 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย propyl paraben ความเข้มข้น 250, 500, 750 และ 1,000 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของมะม่วงได้ 100% เท่ากับ Imazalil ที่ความเข้มข้น 100, 250 และ 500 mg/l รองลงมาคือ salicylic acid ความเข้มข้น 1,000 mg/l และ propyl paraben ความเข้มข้น 100 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของมะม่วงได้ 44.2 และ 40.7% ตามลำดับ เมื่อนำสารในกลุ่มนี้มาควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง โดยการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 10^6 โคนีเดีย/ml ก่อนและหลัง 24 ชั่วโมง แล้วบ่มเชื้อไว้ที่ 25ºc เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังการได้รับสาร พบว่าการจุ่มสาร Imazalil ความเข้มข้น 250 mg/l ก่อนปลูกเชื้อมีความรุนแรงของโรคน้อยที่สุด คือ 6.0% รองลงมาคือ oxalic acid 100 mg/l และ salicylic acid 250 mg/l มีความรุนแรงของโรค 6.1 และ 10.5 % ตามลำดับ และเมื่อจุ่มสารในกลุ่มนี้หลังการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* พบว่าสาร propyl paraben 250 mg/l มีความรุนแรงของโรคน้อยที่สุดคือ 4.9% รองลงมาคือ Imazali 250 mg/l และ propyl paraben 250 mg/l มีความรุนแรงของโรค 5.5 และ 5.7% ตามลำดับ

คำสำคัญ: มะม่วง การชักนำความต้านทาน แอนแทรคโนส

คำนำ

มะม่วงเป็นผลไม้อีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ปัจจุบันมีการส่งออกมะม่วงไปจำหน่ายในต่างประเทศ แต่การส่งออกกลับถูกจำกัดด้วยอุปสรรคที่สำคัญคือ ปัญหาการเน่าเสียของผลมะม่วงอันเนื่องมาจากโรคหลัง

[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

การเก็บเกี่ยวในระหว่างการขนส่งและเก็บรักษา ได้แก่ โรคแอนแทรคโนส ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* การป้องกันกำจัดมีการใช้สารเคมีเป็นหลัก โดยเฉพาะสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภทดูดซึมในกลุ่มเบนซิมิดาโซล (benzimidazole) ส่งผลให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในผลมะม่วง กระทบต่อผลผลิตที่จะส่งออก การใช้สารเคมีในกลุ่มปลอดภัยต่อผู้บริโภค (generally regarded as safe, GRAS) เป็นอีกแนวทางการป้องกันกำจัดโรคที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งสารปลอดภัยที่นำมาใช้ในงานวิจัยครั้งนี้มี 3 ชนิด คือ propyl paraben , salicylic acid และ oxalic acid ซึ่งเป็นสารเคมีที่ผ่านการรับรองโดยองค์การอาหารและยา (Food and Drug Administration, FAD) ว่าสามารถเติมลงไปในอาหารได้อย่างปลอดภัย ทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่มีอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพสารกลุ่มปลอดภัย ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA จนกระทั่งมีอายุ 7 วัน หลังจากนั้นนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ด้วยวิธี Poisoned Food Technique โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm. เจาะขอบโคโลนีเชื้อรานำไปวางบนอาหาร PDA ที่ผสม propyl paraben, salicylic acid และ oxalic acid ความเข้มข้น 100, 250, 500 750 และ 1,000 mg/l ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ผสมสาร,ethyl alcohol ความเข้มข้น 10,000 mg/l)) และ Imazalil ความเข้มข้น 100, 250 และ 500 mg/l บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25±20C) วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด โดยแต่ละชุดมี 8 ซ้ำ บันทึกการเจริญของเชื้อโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน

2. ทดสอบประสิทธิภาพสารกลุ่มปลอดภัย ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการควบคุมโรคแอนแทคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

2.1 จุ่มสารปลอดภัยก่อนการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides*

นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้ความสุกแก่ 80 เปอร์เซ็นต์ ที่สมบูรณ์และไม่เป็นโรค มาจุ่มสาร propyl paraben, salicylic acid และ oxalic acid ความเข้มข้น 100 และ 250 mg/l ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำ, ethyl alcohol ความเข้มข้น 10,000 mg/l) และ Imazalil ความเข้มข้น 100 และ 250 mg/l เป็นเวลา 5 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 1 x 10^6 โคนีเดีย/ml ลงบนผลมะม่วงด้านใดด้านหนึ่งด้วยเครื่องแอร์บรัช (air brush) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผึ่งให้แห้ง เรียงใส่ตะกร้าพลาสติกฝาปิด เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 10 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำๆละ 4 ผล บันทึกความรุนแรงของโรค (%) หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน

2.2 จุ่มสารปลอดภัยหลังการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides*

ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ความสุกแก่ 80 เปอร์เซ็นต์ ที่สมบูรณ์และไม่เป็นโรค ความเข้มข้น 1 x 10^6 โคนีเดีย/ml ลงบนผลมะม่วงด้านใดด้านหนึ่งด้วยเครื่องแอร์บรัช (air brush) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำผลมะม่วงน้ำดอกไม้จุ่มสาร propyl paraben, salicylic acid และ oxalic acid ความเข้มข้น 100 และ 250 mg/l ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำ, ethyl alcohol ความเข้มข้น 10,000 mg/l) และ Imazalil ความเข้มข้น 100 และ250 mg/l เป็นเวลา 5 นาที ผึ่งให้แห้ง เรียงใส่ตะกร้าพลาสติกฝาปิด เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 10 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำๆละ 4 ผล บันทึกความรุนแรงของโรค (%) หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน

ผล

1. ทดสอบประสิทธิภาพสารกลุ่มปลอดภัย ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

สารกลุ่มปลอดภัยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย propyl paraben ความเข้มข้น 250, 500, 750 และ 1,000 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของมะม่วงได้ 100% เท่ากับ Imazalil ที่ความเข้มข้น 100, 250 และ 500 mg/l รองลงมาคือ salicylic acid ความเข้มข้น 1,000 mg/l และ propyl paraben ความเข้มข้น 100 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของมะม่วงได้ 44.2 และ 40.7% ตามลำดับ (Figure 1)

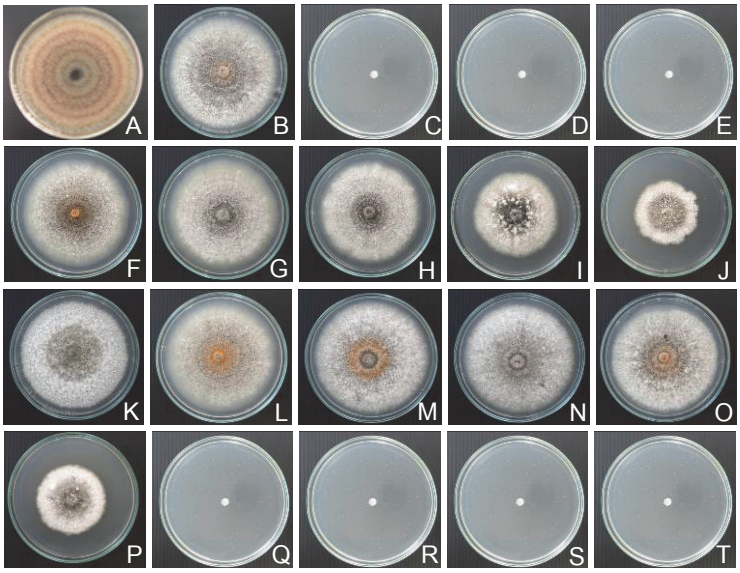

Figure 1 Inhibitory effect of generally recognized as safe (GRAS) at different concentrations on growth of *Colletotrichum gloeosporioides* after incubation for 10 days [control (A), ethyl alcohol 10,000 mg/l (B), Imazalil 100 mg/l (C), Imazalil 250 mg/l (D), Imazalil 500 mg/l (E), salicylic acid 100 mg/l (F), salicylic acid 250 mg/l (G), salicylic acid 500 mg/l (H), salicylic acid 750 mg/l (I), salicylic acid 1,000 mg/l (J), oxalic acid 100 mg/l (K), oxalic acid 250 mg/l (L), oxalic acid 500 mg/l (M), oxalic acid 750 mg/l (N), oxalic acid 1,000 mg/l (O), propyl paraben 100 mg/l (P), propyl paraben 250 mg/l (Q), propyl paraben 500 mg/l (R), propyl paraben 750 mg/l (S), propyl paraben 1,000 mg/l (T)]

2. ทดสอบประสิทธิภาพสารกลุ่มปลอดภัย ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการควบคุมโรคแอนแทคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

2.1 จุ่มสารปลอดภัยก่อนการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides*

หลังจากการเก็บรักษามะม่วงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 วัน พบว่าการจุ่มสาร Imazalil ความเข้มข้น 250 mg/l ก่อนปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* มีประสิทธิภาพในการในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด ความรุนแรงของโรค 6.0% รองลงมาคือ oxalic acid 100 mg/l และ salicylic acid 250 mg/l มีความรุนแรงของโรค 6.1 และ 10.5 % ตามลำดับ ขณะที่มะม่วงชุดควบคุม (น้ำ) มีความรุนแรงของโรคมากที่สุด คือ 65 % (Figure 2)

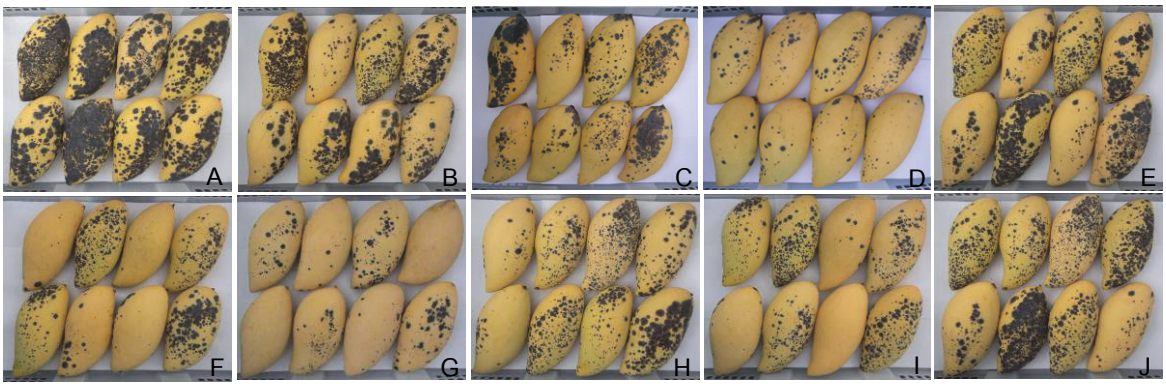

Figure 2 Efficacy of GRAS compounds to control anthracnose of *Colletotrichum gloeosporioides* inoculated mango before dipping in various substances and kept at room temperature for 8 days [control (A), ethyl alcohol 10,000 mg/l (B), Imazalil 100 mg/l (C), Imazalil 250 mg/l (D), salicylic acid 100 mg/l (E), salicylic acid 250 mg/l (F), oxalic acid 100 mg/l (G), oxalic acid 250 mg/l (H), propyl paraben 100 mg/l (I), propyl paraben 250 mg/l (J)]

2.2 จุ่มสารปลอดภัยหลังการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides*

หลังจากการเก็บรักษามะม่วงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 วัน พบว่าการจุ่มสาร propyl paraben ความเข้มข้น 250 mg/l หลังปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* มีประสิทธิภาพในการในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด มีความรุนแรงของโรค 4.9% รองลงมาคือ Imazalil 250 mg/l และ propyl paraben 100 mg/l มีความรุนแรงของโรค 5.5 และ 5.7% ตามลำดับ ขณะที่มะม่วงชุดควบคุม(น้ำ) มีความรุนแรงของโรคมากที่สุด คือ 29.05 % (Figure 3)

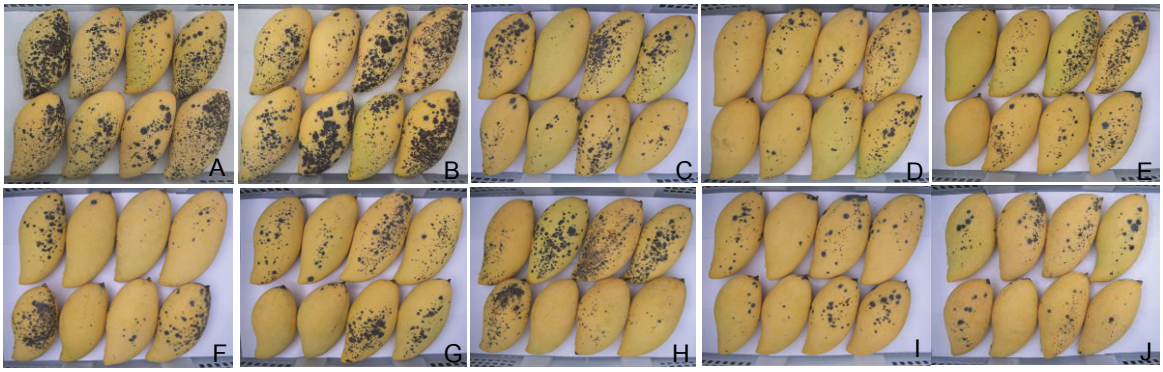

Figure 3 Efficacy of GRAS compounds to control anthracnose of *Colletotrichum gloeosporioides* inoculated mango before dipping in various substances and kept at room temperature for 8 days [control (A), ethyl alcohol 10,000 mg/l (B), Imazalil 100 mg/l (C), Imazalil 250 mg/l (D), salicylic acid 100 mg/l (E), salicylic acid 250 mg/l (F), oxalic acid 100 mg/l (G), oxalic acid 250 mg/l (H), propyl paraben 100 mg/l (I), propyl paraben 250 mg/l (J)]

วิจารณ์ผล

จากการทดสอบสารกลุ่มปลอดภัยทั้ง 3 ชนิด propyl paraben, salicylic acid และ oxalic acid พบว่า propyl paraben มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioide* ได้ดีที่สุด เมื่อนำมาควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง โดยปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ก่อนการจุ่มสาร พบว่า propyl paraben 250 mg/l มีความรุนแรงของโรคน้อยที่สุดคือ 4.9% เนื่องจากสารดังกล่าวไปมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีน DNA และ RNA ของเชื้อ ทำให้เกิดความผิดปกติของเมแทบอลิซึมและเชื้อถูกทำลายในที่สุด (Nes and Eklund,1983) และเมื่อจุ่มสารก่อนการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* พบว่า oxalic acid 100 mg/l สามารถลดความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงได้ดี ไม่แตกต่างกันทางสถิติจาก Imazalil 250 mg/l และไม่พบปริมาณสารพิษตกค้างในเนื้อเยื่อพืช ดังนั้นการใช้ oxalic acid ทดแทน Imazalil น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง จากการทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเห็นได้ว่า oxalic acid ทุกความเข้มข้น ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสได้โดยตรง แต่เมื่อนำมาใช้กับผลมะม่วงสามารถลดความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสได้ สารดังกล่าวน่าจะเกี่ยวข้องกับกลไกการชักนำความต้านทานในพืช (Tian *et al.*, 2006). พบว่า กรดออกซาลิกกระตุ้นให้ผลแพร์มีการสร้างสารที่เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านทานต่อเชื้อ *Alternaria alternata* เช่น เบต้า-1,3 กูลคาเนส, ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส และโพลีฟีนอล ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านทานโรค

สรุป

สาร propyl paraben สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของมะม่วงได้ดีที่สุด และเมื่อนำมาควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง โดยปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ก่อนการจุ่มสาร พบว่า propyl paraben 250 mg/l สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ดีที่สุด และเมื่อจุ่มสารก่อนการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* พบว่า oxalic acid 100 mg/l สามารถลดความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงได้ดี ไม่แตกต่างกันทางสถิติจาก Imazalil 250 mg/l

เอกสารอ้างอิง

Nes, I. F. and T. Eklund.1983. The effect of parabens on DNA, RNA and protein synthesis in *Escherichia coli and Bacillus subtilis*. J. Appl. Bacteriol. 54: 237–242.

Tian, S., Y. Wan, G. Z. Qin and Y. Xu. 2006. Induction of defense responses against *Alternaria* rot by different elicitors in harvested pear fruit. Applied Microbial and Cell Physiology 70: 726-734.