Agricultural Sci. J. 47 : 3 (Suppl.) : 91-94 (2016) ว. วิทย. กษ. 47 : 3 (พิเศษ) : 91-94 (2559)

# ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมะละกอต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง

# Efficiency of Papaya Crude Extracts on Growth of *Colletotrichum gloeosporioides* Causing Mango Anthracnose

**จิรเวช โพธิ์อุบล[1] รัติยา พงศ์พิสุทธา[1] และ ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล[1]**

Jiravech Phoubol[1], Ratiya Pongpisutta[1] and Chainarong rattanakreetakul[1]

**Abstract**

The effect of papaya pericarp extracted by maceration with 95 % ethyl alcohol to control *Colletotrichum gloeosporioides*, the causal agent of mango anthracnose was evaluated. Poisoned food technique was applied using potato dextrose agar (PDA). The plant extract control with significant differences, at the concentrations of 3,500 and 4,000 ppm showed mycelial growth inhibition of 80.86 and 90.34 %, respectively. While mycelial growth inhibition was completely controlled at the concentration of 5,000 ppm. The result of this study illustrated a potential of papaya pericarp extract to control of mango anthracnose.

**Keywords**: *Colletotrichum gloeosporioides*, papaya pericarp extracted, mango anthracnose

**บทคัดย่อ**

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมะละกอในตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงในห้องปฏิบัติการ โดยเทคนิค poisoned food ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) พบว่าการควบคุมโดยใช้สารสกัดจากเปลือกมะละกอมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้น 3,500 และ 4,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา C. *gloeosporioides* ได้ 80.86 และ 90.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ความเข้มข้น 5,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากเปลือกมะละกอมีศักยภาพที่จะนำไปใช้ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงได้

**คำสำคัญ**: *Colletotrichum gloeosporioides*, สารสกัดจากเปลือกมะละกอ, โรคแอนแทรคโนสมะม่วง

## คำนำ

โรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นโรคภายหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญของมะม่วง ซึ่งส่งผลกระทบต่อเกษตรกรผู้ปลูกมะม่วงเป็นอย่างมาก ทั้งในเชิงปริมาณ และคุณภาพ ในปัจจุบันนี้ วิธีการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดบนผลมะม่วงมีหลายวิธีที่นิยมใช้ เช่น การควบคุมสภาพบรรยากาศ การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา การจุ่มน้ำร้อน และการใช้สารสกัดจากพืช

สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราบางชนิด เช่น benomyl และ carbendazim เมื่อใช้บ่อยครั้งอาจทำให้เชื้อราเกิดความต้านทานต่อสารเคมีชนิดนั้นได้ พบรายงานว่า เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของไม้ผลเมืองร้อนแสดงความต้านทานต่อ benomyl เมื่อใช้ติดต่อกันนาน นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงสามารถต้านทานต่อ benomyl ได้ทั้งก่อนและหลังเก็บเกี่ยว (Jeffries *et al*., 1990; Spalding, 1982) และมีรายงานของ วาสนา (2556) พบว่ามะละกอที่แช่ด้วยสารเคมี difenoconazole หลังการปลูกเชื้อและที่บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้ หลังการบ่ม 14 วัน พบขนาดแผล 9.95 มิลลิเมตร ขณะที่การทดลองควบคุม มีขนาดแผล 34.10 มิลลิเมตร (LSD = 7.34) ส่วนการฉีดพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของยีสต์ *Pichia anomala* ความเข้มข้น 1 x $10^8$ เซลล์/มิลลิเมตร หลังการปลูกเชื้อ และบ่มที่อุณหภูมิ 15 และ 25 องศาเซลเซียส 6 วัน พบว่ามีขนาดแผล 1.80 และ 21.90 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยพบว่าเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ถูกยึดเกาะด้วยเซลล์ของยีสต์ และผนังฉีดขาดอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ยัง พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 40 และ 60

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. จังหวัดนครปฐม. 73140

[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

เปอร์เซ็นต์ ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA) หลังการปลูกเชื้อ 7 วัน พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงได้ 34.01 และ 47.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (LSD = 4.19) (รัติยา และคณะ, 2554)

ปัจจุบันจึงได้มีการศึกษาถึงสารจากธรรมชาติ ที่นำมาใช้สำหรับควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง เพื่อทดแทนการใช้สารเคมี และวิธีการอื่นๆในปัจจุบัน จากรายงานการวิจัยของ Chukwuemeka and Anthonia (2010) ที่ใช้สารสกัดจากเมล็ดและน้ำยางมะละกอ ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA) สามารถลดการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus* spp. , *Mucor* spp. และ *Rhizopus* spp. ที่เป็นสาเหตุโรคผลเน่าได้ ซึ่งในน้ำยางมะละกอจะพบสารปาเปน (papain) เป็นเอนไซม์กลุ่มโปรติเอส (protease) สามารถย่อยโปรตีนที่มีโมเลกุลใหญ่ให้เล็กลงได้ (นิธิยา, 2559) สารปาเปนอาจจะไปย่อยทำลายโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบส่วนหนึ่งของเชื้อราให้เสียสภาพได้ ดังนั้นสารสกัดจากเปลือกมะละกอ น่าจะมีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ (Macalood *et al*., 2013) งานวิจัยนี้จึงได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมะละกอในการควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง เพื่อเป็นแนวทางสำหรับการผลิตสารธรรมชาติขึ้นมาทดแทนการใช้สารเคมีและพัฒนาเพื่อให้มีการผลิตสารเคมีธรรมชาติในเชิงการค้าได้ในอนาคตต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเชื้อสาเหตุ

เก็บตัวอย่างมะม่วงน้ำดอกไม้ที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส มาแยกเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธี tissue transplanting บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน จากนั้น นำเชื้อรามาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการ single spore isolation (SSI) นำเชื้อราบริสุทธ์ที่ได้ เก็บที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

การสกัดสารจากเปลือกมะละกอ

การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมะละกอโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วนตัวอย่างพืช 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 6 มิลลิลิตร แช่ตัวอย่างพืชในตัวทำละลาย เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยพิจารณาจากการเปลี่ยนสีของตัวทำละลายในภาชนะบรรจุ นำตัวอย่างสารสกัดพืชที่ได้มากรองเพื่อแยกชิ้นพืชออก จากนั้นนำไปผ่านขั้นตอนการระเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นสารเหนียว

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมะละกอในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยวิธี poisoned food technique โดยเตรียมอาหาร PDA ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำสารสกัดจากเปลือกมะละกอผสมลงในอาหาร PDA ซึ่งไม่มีการเจือจางสารสกัดก่อนการผสมอาหาร โดยความเข้มข้นสุดท้าย 250 , 500 , 1,000 , 2,000 , 2,500 , 3,000 , 3,500 , 4,000 และ 5,000 ppm ผสมให้เข้ากันแล้วเทใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ ในส่วนของชุดทดลองควบคุมได้แบ่งเป็น 2 วิธี คือ อาหาร PDA ที่ไม่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะละกอ (control 1) และอาหาร PDA ที่ผสมเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (control 2) หลังจากผิวหน้าอาหารผสมสารสกัดพืชแห้งสนิท นำชิ้นวุ้นที่ได้จากการใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะเส้นใยบริเวณรอบโคโลนีเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่อายุ 7 วัน วางบนผิวหน้าของอาหารผสมสารสกัดพืช นำไปเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จึงทำการตรวจผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีที่เจริญและนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญโดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = [(A-B) / A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อราชุดเปรียบเทียบ

B คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อราที่ผสมสารสกัดจากพืช

## ผล

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมะละกอ ที่ละลายด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 95เปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าการเจริญของเส้นใยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 3 และ 5 วัน หลังการบ่มเชื้อที่ 7 วัน พบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 3,500 และ 4,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ 80.86 และ 90.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ความเข้มข้น 5,000 ppm

สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดทดลองควบคุม (control 1) และพบว่าชุดทดลองควบคุม (control 2) สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 76.21 เปอร์เซ็นต์ (Table 1, Figure 1)

**Table 1** Effect of papaya pericarp extract on mycelial growth inhibition of *C. gloeosporioides* using poisoned food technique after 3 , 5 and 7 d incubation period at room temperature

| Treatment | Concentration (ppm) | Mycelial growth (cm) [1/] | | | Percent of inhibition (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 3 d | 5 d | 7 d | 3 d | 5 d | 7 d |
| control 1 | - | 4.58 a | 7.47 a | 8.97 a | - | - | - |
| control 2 | - | 1.07 ef | 1.57 de | 2.13 cd | 76.73 | 79.07 | 76.21 |
| papaya pericarp extracted | 250 ppm | 4.12 b | 7.12 ab | 8.92 a | 10.13 | 4.59 | 0.56 |
| | 500 ppm | 4.07 b | 6.72 b | 8.60 a | 11.02 | 10.01 | 4.09 |
| | 1,000 ppm | 3.22 c | 5.45 c | 7.80 b | 29.68 | 26.80 | 13.00 |
| | 2,000 ppm | 1.55 d | 2.06 d | 2.58 c | 66.11 | 72.55 | 71.19 |
| | 2,500 ppm | 1.18 e | 1.72 de | 2.35 c | 74.11 | 76.98 | 73.79 |
| | 3,000 ppm | 0.95 ef | 1.38 e | 2.10 cd | 79.24 | 81.47 | 76.77 |
| | 3,500 ppm | 0.87 f | 1.25 e | 1.72 d | 81.10 | 83.05 | 80.86 |
| | 4,000 ppm | 0.00 g | 0.35 f | 0.87 e | 100 | 95.21 | 90.34 |
| | 5,000 ppm | 0.00 g | 0.00 f | 0.00 f | 100 | 100 | 100 |
| | CV | 7.02 | 9.92 | 7.93 | | | |
| | LSD | 0.23 | 0.54 | 0.56 | | | |

[1/]Column values followed by the same letter are not significantly different with (P = 0.05)

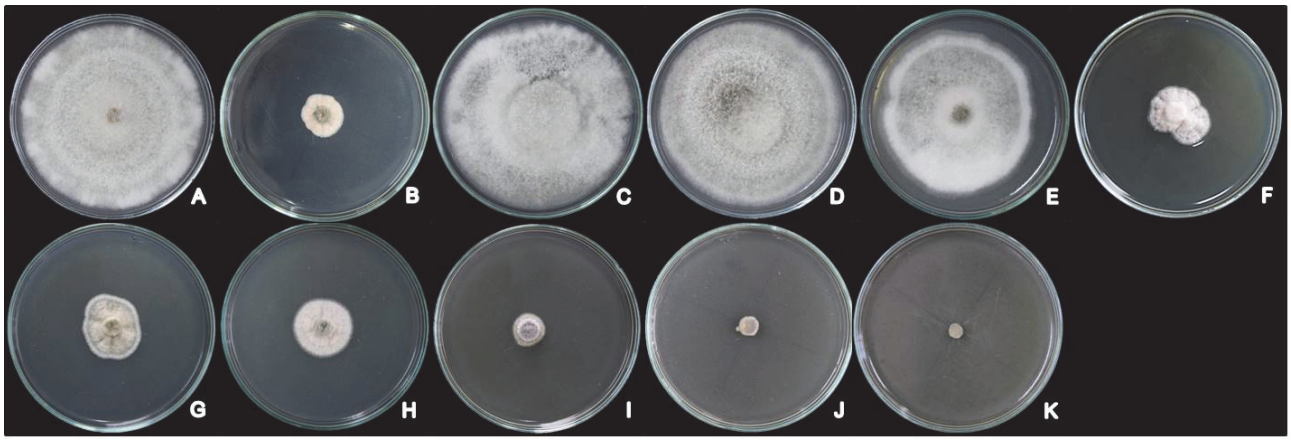


**Figure 1** Mycelial growth inhibition of *C. gloeosporioides* onto PDA with (A) control 1 (B) control 2 (C) 250 ppm (D) 500 ppm (E) 1,000 ppm (F) 2,000 ppm (G) 2,500 ppm (H) 3,000 ppm (I) 3,500 ppm (J) 4,000 ppm and (K) 5,000 ppm

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกมะละกอ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 2,000 ppm ขึ้นไป มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 5,000 ppm ให้ผลได้ดีที่สุด สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของสารสกัดจากเปลือกมะละกอที่ความเข้มข้น 250 , 500 และ 1,000 ppm พบว่า

ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา C. *gloeosporioides* ได้ ซึ่งอาจเป็นเพราะสารสกัดที่ใช้มีความเข้มข้นที่น้อยเกินไปสำหรับใช้ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เมื่อเทียบกับชุดทดลองควบคุม 1 (control 1) นอกจากนี้ยังพบว่าชุดทดลองควบคุม 2 (control 2) มีส่วนผสมของเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ถึง 76.21 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีค่าแตกต่างกับสารสกัดจากเปลือกมะละกอที่ความเข้มข้น 3,000 ppm ที่สามารถยับยั้งได้ 76.77 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากเอทิลแอลกอฮอล์ที่ใช้ในชุดทดลองควบคุม 2 มีความเข้มข้นที่สูงจึงทำให้มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราได้ โดยปกติในห้องปฏิบัติการจะใช้เอทิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มที่สูง เช่น เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นั้นสำหรับการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์อยู่แล้ว อย่างไรก็ตามผลการยับยั้งนี้มีส่วนผสมของสารสกัดความเข้มข้นสูงส่วนหนึ่ง น่าจะเป็นส่วนหนึ่งที่เกิดจากสารสกัดจากเปลือกมะละกอ

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดที่ได้จากใบมะละกอมีสารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ กลุ่มอัลคาลอยด์ (alkaloids) กลุ่มไตรเทอร์พีน (triterpenes) กลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และกลุ่มซาโปนิน (saponins) ซึ่งสารในกลุ่มอัลคาลอยด์ เป็นองค์ประกอบที่สำคัญโดยมีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ และในยางของใบมะละกอยังมีเอนไซม์ในกลุ่มไคติโนไลติค (Chitinolytic enzyme) เช่น เอนไซม์ไคติเนส (chitinase enzyme) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา โดยเอนไซม์ไคติเนส ย่อยสลายไคติน (chitin) ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์เชื้อราได้ (Chavez-Quintal *et al*., 2011) จึงเป็นไปได้ว่าในสารสกัดจากเปลือกมะละกอน่าจะมีองค์ประกอบของสารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ และมีเอนไซม์ที่เหมือนกับสารสกัดจากใบมะละกอ

## สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมะละกอต่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 2,000 ppm ขึ้นไป มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *C. gloeosporioides* ได้ดีเกิน 50 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 5,000 ppm ให้ผลได้ดีที่สุด สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 100 เปอร์เซ็นต์

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการราวิทยา ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้การสนับสนุนในเรื่องของสถานที่และอุปกรณ์ที่ใช้ทำการวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2559. ปาเปน. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com. (25 พฤษภาคม 2559).

รัติยา พงศ์พิสุทธา, ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, บุชยา โพธิกิจ และรณภพ บรรเจิดเชิดชู. 2554. การทดสอบเบื้องต้นของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporiodes*. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 42 (3 พิเศษ): 73-76.

วาสนา ทองปิ่น. 2556. *ศักยภาพของยีสต์และสารผสมอาหารในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดเชื้อรา Colletotrichum gloeosporiodes ของมะละกอพันธุ์ปลักไม้ลายหลังการเก็บเกี่ยว*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Chavez-Quintal, P., T. Gonzalez-Flores, I. Rodriguez-Buenfil and S. Gallegos-Tintore. 2011. Antifungal activity in ethanolic extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol leaves and seeds. Indian Journal Microbiology 51: 54-60.

Chukwuemeka, N.O. and A.B. Anthonia. 2010. Antifungal effects of papaw seed extracts and papain on post harvest *Carica papaya* L. fruit rot. African Journal of Agricultural Research 5 (12) : 1531–1535.

Jeffries, P., J.C. Dood, M.J. Jeger and R.A. Plumbley. 1990. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. Plant pathology 39: 343-366.

Macalood, J.S., H.J.Vicente, R.D. Boniao, J.G. Gorospe and E.C. Roa. 2013. Chemical Analysis of *Carica papaya* L. Crude Latex. American Journal of Plant Sciences 4 : 1941-1948.

Spalding, D.H. 1982. Resistance of mango pathogens to fungicides used to control postharvest disease. Plant Disease 66: 1185-1186.