Agricultural Sci. J. 53 : 3 (Suppl.) : 44-47 (2022) ว. วิทย. กษ. 53 : 3 (พิเศษ) : 44-47 (2565)

ความแตกต่างของสารประกอบบนผิวมะม่วงที่ได้รับสารกลุ่ม salicylic เพื่อกระตุ้นความต้านทานโรคแอนแทรคโนส
Difference of Substances on Mango Fruit Peel Treated with Salicylic Compounds to Stimulate Anthracnose Resistance

ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล[1,2] พิสุทธิ์ เขียวมณี[1,2] สรรเสริญ รังสุวรรณ[1,2] และ รัติยา พงศ์พิสุทธา[1,2]
Chainarong Rattanakreetakul[1,2], Pisut Keawmanee[1,2], Sansern Rangsuwan[1,2] and Ratiya Pongpisutta[1,2]

Abstract

Postharvest anthracnose disease control on mango fruit helps mango be the high-value crop in Thailand. For the field trial, the salicylic acid analogs treated on mango fruit in the field at 50 days after full blooming slows the fungal growth. The anthracnose symptom was reduced by approximately 15-20% of lesion size. Using gas chromatography-mass spectrometry, the substances from mango peels treated with salicylic acid and acibenzolar-S-methyl were investigated. The mass data were analyzed to the National Institute of Standards and Technology Library (NIST) database. The results revealed that the peel of all mango treatments contained phenolic and aromatic hydrocarbon derivative substances: benzoic acid, gallic acid, tocopherol, and palmitic acid. The 2,6-ditert-butyl-4-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) phenol was dominant in mango fruit peel after treatment with salicylic acid and acibenzolar-S-methyl while hexanoic acid was found only in salicylic acid treated. These substances were reported to be antioxidant and antimicrobial compounds which show to promote resistance and it's highly related to causing a reduction in the post-infection of anthracnose disease.

Keywords: plant inducer, mango, anthracnose,

บทคัดย่อ

การควบคุมโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงหลังเก็บเกี่ยวช่วยให้มะม่วงเป็นผลไม้ที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจของประเทศไทยสูงขึ้น การกระตุ้นความต้านทานพืชด้วยสารกลุ่ม salicylic acid กับผลมะม่วงในแปลงที่ระยะเวลา 50 วัน หลังดอกบานเต็มที่มีผลชะลอการเจริญของเชื้อรา โดยพบขนาดของแผลแอนแทรคโนสลดลงร้อยละ 15-20 ทำการตรวจสารประกอบที่สกัดจากผิวมะม่วงที่ได้รับสาร salicylic acid และสาร acibenzolar-S-methyl ด้วยเครื่อง gas chromatography-mass spectrometry เทียบชนิดของสารกับฐานข้อมูล National Institute of Standards and Technology Library (NIST) พบสารทุติยภูมิที่เป็นอนุพันธ์ของ phenol และ aromatic hydro carbon ชนิด benzoic acid, gallic acid, tocopherol และ palmitic acid ได้ในผิวมะม่วงทุกชุดทดสอบ สาร 2,6-ditert-butyl-4-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)phenol พบได้ในผิวมะม่วงที่ได้รับสาร salicylic acid และ acibenzolar-S-methyl ในขณะที่ hexanoic acid พบได้ในผิวมะม่วงที่ได้รับสาร salicylic acid เท่านั้น สารเหล่านี้มีรายงานการออกฤทธิ์ทางด้านการเป็นสาร antioxidant และ สารควบคุมจุลินทรีย์ อันเป็นผลจากการชักนำความต้านทานในพืชส่งผลต่อการควบคุมความเสียหายจากโรคแอนแทรคโนสที่เข้าทำลายมะม่วงภายหลังการเก็บเกี่ยวได้

คำสำคัญ: สารกระตุ้นความต้านทาน มะม่วง แอนแทรคโนส

บทนำ

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) เป็นผลไม้ที่มูลค่าทางเศรษฐกิจที่มักพบปัญหาโรคแอนแทรคโนส สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) เข้าทำลายและแสดงอาการของโรคหลังการเก็บเกี่ยว ส่งผลให้มะม่วงสูญเสียคุณภาพและสร้างความเสียหายหลังการเก็บเกี่ยวถึง 63.2% (Sardsud *et al*., 2003) ผู้ผลิตมีการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา เช่น คาร์เบนดาซิม และโพรคลอราซ เพื่อควบคุมโรค (Nagaraju *et al.*, 2020) อย่างไรก็ตามการพัฒนาแนวทางการควบคุมโรคบนผลผลิตอย่างปลอดภัยเป็นสิ่งจำเป็น โดยเฉพาะแนวทางในการกระตุ้นให้เกิดความต้านทาน ซึ่งการตอบสนองของพืชต่อการเกิดความต้านทานมี

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140
[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140
[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กทม. 10400
[2] Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400.

ความหลากหลายขึ้นกับชนิดของสารกระตุ้น โดย Pétriacq *et al.* (2018) ได้สรุปแนวทางในการตอบสนองของความต้านทานอาจเกิดจาก 1. การสะสมของ PR proteins หรือกระตุ้นสัญญาณที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนในพืช 2. การกระตุ้นในส่วนของกิจกรรม antioxidant หรือเอนไซม์ catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase และ superoxide dismutase และ 3. การสร้างสารที่กระทบต่อจุลินทรีย์ หรือสารต่อต้านจุลชีพ สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ได้ศึกษาผลของการตอบสนองของมะม่วงภายหลังการได้สารกระตุ้นความต้านทานพืชด้วยสารกลุ่ม salicylic acid โดยเทคนิคการวิเคราะห์สาร gas chromatography เพื่อยืนยันกลุ่มของสารที่มีโอกาสพบ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ประสิทธิภาพของสารกลุ่ม salicylic acid ในการกระตุ้นความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส

นำสารกลุ่ม salicylic acid จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ salicylic acid ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร และสาร acibenzolar-S-methyl ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อช่อดอก พ่นที่ช่อผลของมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ระยะเวลา 50 วัน หลังจากดอกบานเต็มที่ ในแปลงปลูกของเกษตรกร ตำบลดอนคา อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี จากนั้นทำการห่อผลด้วยถุงห่อมะม่วง เมื่อผลมะม่วงมีอายุ 100 วัน นำผลมะม่วงที่เก็บจากแปลงผลิต มาทำการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 7 วัน บนผิวมะม่วง คลุมด้วยพลาสติกเพื่อควบคุมความชื้นในตะกร้าเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดให้ย้ายชิ้นวุ้นออก และบ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ติดตามการขนาดแผลของโรคแอนแทรคโนสที่ปรากฏบนผลมะม่วงภายหลังการปลูกเชื้อ ที่ระยะเวลา 15 วัน

2. การตรวจสอบสารประกอบบนผิวมะม่วงที่ได้รับสารกระตุ้นความต้านทานกลุ่ม salicylic

นำผิวมะม่วงที่ผ่านการได้รับสารกระตุ้นความต้านทานสกัดด้วยสารละลาย ethyl acetate นาน 6 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยก๊าซไนโตรเจน และเติม methoxyamine hydrochloride (20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน pyridine) 50 ไมโครลิตร บ่มในสภาพอุณหภูมิ 37°C นาน 90 นาที หลังจากนั้นเติม MSTFA (N-methyl-N(trimethylsilyl) trifluoroactamide 50 ไมโครลิตร และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 30 นาที ก่อนนำไปฉีดในเครื่อง gas chromatography mass spectrometry รุ่น 7890B (Agilent Technology, สหรัฐอเมริกา) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร (split ratio 1:25) ตรวจสอบผลการแยกสารประกอบเป็น total ion chromatogram ในระบบ scan mode ใช้ช่วงของ mass 40-550 AMU ประมวลผลด้วย Agilent Mass Hunter Unknows Analysis เทียบข้อมูลการแตกตัวกับฐานข้อมูล mass spectrometry data center โดย NIST นำข้อมูลชนิดของสารประกอบที่ตรวจพบมาในแต่ละชุดทดสอบ มาคัดเลือกสารที่มีพื้นที่ใต้กราฟมากกว่า 10,000 และมีความเหมือนของข้อมูลการแตกตัวเทียบกับฐานข้อมูลมากกว่า 60%

ผลการทดลอง

1. ประสิทธิภาพของสารกลุ่ม salicylic acid ในการกระตุ้นความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส

การทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่ม salicylic acid ในการกระตุ้นความต้านทานของมะม่วงต่อโรคแอนแทรคโนส พบว่าสารกลุ่ม salicylic acid ให้ผลในการยับยั้งการแพร่กระจายของแผลโรคแอนแทรคโนสหลังจากการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีกว่า การไม่พ่นสารกลุ่ม salicylic acid ที่ระยะติดผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 1, Table 1) โดยสาร salicylic acid ให้ผลในการยับยั้งการเกิดโรคได้ดีกว่าสาร acibenzolar-S-methyl นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้สารกลุ่ม salicylic acid สามารถช่วยลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสจากการเข้าทำลายจากสภาพธรรมชาติได้ดีกว่าการไม่ใช้สารดังกล่าว

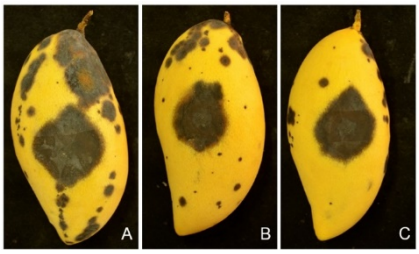

Figure 1 Disease symptoms of mango infected by *C. gloeosporioides* after incubation at 20°C for 15 days. (A= control, B = salicylic acid, C = acibenzolar-S-methyl).

Table 1 Diameter and the percent inhibition of the fungal inoculated lesion on mango fruit treated with plant inducer after storage at 20°C for 15 days.

Treatment	Lesion diameter (cm)	Percent inhibition (%)
control	4.44 a	
salicylic acid	3.42 c	22.98
acibenzolar-S-methyl	3.73 b	15.99
F-test	**	
CV	16.43	

The values with different letters in the same column are significantly different ($P<0.05$; Least Significant Difference (LSD)).

2. การตรวจสอบสารประกอบบนผิวมะม่วงที่ได้รับสารกระตุ้นความต้านทานกลุ่ม salicylic

เมื่อทำการตรวจสอบสารประกอบที่สกัดจากผิวมะม่วงที่ได้รับสาร salicylic acid และสาร acibenzolar-S-methyl ด้วยเครื่อง gas chromatography mass spectrometry เทียบข้อมูลมวลและรูปแบบการแตกตัวของสารประกอบกับฐานข้อมูล NIST พบสารทุติยภูมิที่เป็นอนุพันธ์ของ phenol และ aromatic hydrocarbon ชนิด benzoic acid, gallic acid, tocopherol และ palmitic acid ในผิวมะม่วงทุกชุดทดสอบ สาร 2,6-ditert-butyl-4-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)phenol พบได้ในผิวมะม่วงที่ได้รับสาร salicylic acid และ acibenzolar-S-methyl ในขณะที่ hexanoic acid พบได้ในผิวมะม่วงที่ได้รับสาร salicylic acid เท่านั้น (Table 2)

Table 2 List of the induced phenol and aromatic hydrocarbon substances on mango peel after treated with plant inducer substances.

Substances	Sample		
	Control	Salicylic acid	Acibenzolar-S-methyl
Benzoic acid	✓	✓	✓
Gallic acid	✓	✓	✓
Tocopherol	✓	✓	✓
2,6-ditert-butyl-4-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)phenol		✓	✓
Hexanoic acid		✓	
Palmitic acid	✓	✓	✓

วิจารณ์ผล

สารกระตุ้นความต้านทาน เป็นสารที่มีการอ้างอิงถึงศักยภาพที่ช่วยลดความเสียหายทางอ้อมต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช จากการทดลองการใช้สารกลุ่ม salicylic acid จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ salicylic acid และ acibenzolar-S-methyl พ่นที่ผลอ่อนหลังดอกบานเต็มที่ อายุ 50 วัน ในสภาพแปลงผลิต เมื่อเก็บผลแก่มาตรวจสอบ พบแผลของโรคแอนแทรคโนสหลังจากได้รับสารกลุ่ม salicylic acid มีขนาดแผลที่เล็กกว่าที่พบในชุดควบคุม โดยสามารถลดขนาดของแผลโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อได้ประมาณ 15-20% และช่วยลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสจากการเข้าทำลายของเชื้อจากธรรมชาติได้ เช่นเดียวกับ Win and Setha (2022) ที่ศึกษาศักยภาพของสารกลุ่ม salicylic acid พบว่า มีผลต่อการลดความรุนแรงของโรคได้ในระดับ 20 – 30% โดยการตอบสนองของมะม่วงภายหลังการได้รับสาร salicylic acid มีผลในการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์กลุ่ม chitinase, b-1,3-glucanase, phenylalanine ammonia-lyase และ polyphenol oxidase รวมไปถึงสาร total phenolic compounds, lignin และมีผลต่อ fruit firmness การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์และสารต่างๆ ดังกล่าวทำให้มะม่วงมีความต้านทานต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนส (He *et al*., 2017) สำหรับการใช้ acibenzolar-S-methyl มีรายงานว่ามีผลในการเพิ่มการแสดงออกของกิจกรรมเอนไซม์ phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase, polyphenol oxidase, lipoxygenase และ chitinase (Monteón-Ojeda *et al*., 2022) เช่นเดียวกัน

การศึกษาสารประกอบด้วยเทคนิค gas chromatography mass spectrometry จากผิวมะม่วงภายหลังได้รับสารกระตุ้นความต้านทานกลุ่ม salicylic พบสารทุติยภูมิที่เป็นอนุพันธ์ของ phenol และ aromatic hydro carbon ชนิด benzoic acid, gallic acid, tocopherol และ palmitic acid ในผิวมะม่วงทุกชุดทดสอบ ทั้งนี้มีการตรวจพบสาร 2,6-ditert-butyl-4-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)phenol ซึ่งเป็นอนุพันธุ์จากสาร 2,4-di-tert-butylphenol (2,4 DTBP) และ hexanoic acid จากผิวมะม่วงที่ได้รับ salicylic acid และ acibenzolar-S-methyl โดยสารในกลุ่ม 2,4 DTBP มีรายงานฤทธิ์ในทาง antioxidant และสามารควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Zhao *et al.*, 2020) สำหรับสาร hexanoic acid ที่พบในมะเขือเทศและอะราบิดอพซิส มีรายงานว่าเป็นสารเริ่มต้นของการตอบสนองการกระตุ้นความต้านทานในพืช (Aranega-Bou *et al*., 2014) และพบการกระตุ้นการทำงานของ mevalonic และ linolenic pathways (Llorens *et al.*, 2016) เพิ่มการปลดปล่อย plant volatiles antioxidant และสารที่ชักนำความต้านทานในพืช (Sellés *et al.*, 2021) อันมีผลต่อการควบคุมความเสียหายจากโรคแอนแทรคโนสที่เข้าทำลายภายหลังการเก็บเกี่ยวได้

สรุป

การฉีดพ่นผลอ่อนมะม่วงหลังดอกบาน 50 วัน ด้วยสาร salicylic acid และ acibenzolar-S-methyl ให้ผลในการลดการเกิดโรคได้ดีกว่าชุดควบคุม โดยสามารถลดขนาดแผลโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากการปลูกเชื้อประมาณ 15-20% และสามารถตรวจพบสารทุติยภูมิที่เป็นอนุพันธ์ของ phenol และ aromatic hydro carbon ชนิด benzoic acid, gallic acid, tocopherol และ palmitic acid ในผิวมะม่วงทุกชุดทดสอบ แต่พบสารที่มีรายงานคุณสมบัติ antioxidant 2,6-ditert-butyl-4-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)phenol พบได้ในผิวมะม่วงที่ได้รับสาร salicylic acid และ acibenzolar-S-methyl และ hexanoic acid พบได้ในผิวมะม่วงที่ได้รับสาร salicylic acid

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาด้านโรคพืช ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่ และอุปกรณ์ในการทำวิจัย และการสนับสนุนจากศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพมหานคร

เอกสารอ้างอิง

Aranega-Bou, P., M. de la O. Leyva, I. Finiti, P. García-Agustín and C. González-Bosch. 2014. Priming of plant resistance by natural compounds. Hexanoic acid as a model. Front. Plant Sci. 5: 488.

He, J., Y. Ren, C. Chen, J. Liu, H. Liu and Y. Pei. 2017. Defense responses of salicylic acid in mango fruit against postharvest anthracnose, caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and its possible mechanism. J. Food Saf. 37: e12294.

Llorens, E., G. Camañes, L. Lapeña and P. García-Agustín. 2016. Priming by hexanoic acid induce activation of mevalonic and linolenic pathways and promotes the emission of plant volatiles. Front. Plant Sci. 7: 495.

Monteón-Ojeda, A., J.A. Mora-Aguilera, E. Hernández-Castro, J.S. Sandoval-Islas, A. Azuara-Domínguez and A. Damián-Nava. 2022. Induction of systemic acquired resistance associated with the enzyme activity of phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase, and polyphenol oxidase and its effect on the severity of anthracnose on nursery mango plants. Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz 55(10): 1250-1264

Pétriacq, P., A. López and E. Luna. 2018. Fruit decay to diseases: can induced resistance and priming help? Plants 7(4): 77.

Sardsud, U., V. Sardsud and S. Singkaew. 2003. Postharvest loss assessment of mango cv. Nam Dok Mai. Thai J. Agric. Sci. 34 (Suppl. 3-4): 37-40.

Sellés, A.J.N., J.A. Agüero and L.N. Paz. 2021. GC-MS analysis of mango stem bark extracts (*Mangifera indica* L.), Haden variety. Possible contribution of volatile compounds to its health effects. Open Chem. 19(1): 27-38.

Nagaraju, R.S., R.H. Sriram and R. Achur. 2020. Antifungal activity of carbendazim-conjugated silver nanoparticles against anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in mango. Plant Pathol. J. 102(1): 39-46.

Win, S.T. and S. Setha. 2022. Enhancement of anti-inflammatory and antioxidant activities of mango fruit by pre- and postharvest application of salicylic acid. Horticulturae 8(6): 555.

Zhao, F.P., P. Wang, R.D. Lucardi, Z. Su and S. Li. 2020. Natural sources and bioactivities of 2,4-di-tert-butylphenol and its analogs. Toxins 12(1): 35.