Agricultural Sci. J. 38 : 5 (Suppl.) : 201-204 (2007) ว. วิทย. กษ. 38 : 5 (พิเศษ) : 201-204 (2550)

การใช้สาร Food additivesในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

Evaluation of food additives to control on *Colletotrichum capsici* causing chilli anthracnose

โชติรส รอดเกตุ[1] พาขวัญ มามาตร[1] สุนิสา เหลืองประดิษฐ์กุล[1] วาทิต กาญจนแสนส่ง[1]
อนุสรา รอดคง[1] และรัติยา พงศ์พิสุทธา[1]
Chotiros Rodkate[1], Pakwan Mamart[1], Sunisa Luengpraditkul[1], Vatit Kanchanasansong[1],
Anusara Rodkong[1] and Ratiya Pongpisutta[1]

Abstract

Efficiency evaluation of low toxicity chemicals as possible alternative to synthetic fungicides, to control plant diseases. The preliminary test of food additives was applied for chilli anthracnose management, the disease is caused by *Colletotrichum capsici*. Potassium carbonate (PC), potassium sorbate (PS), sodium bicarbonate (SB), and sodium carbonate (SC) at concentrations of 1, 2, and 3% were investigated by using poisoned food technique. Mycelial growth inhibited significantly on potato dextrose agar (PDA) with concentration of 2 percent of PC, SBC, and SC was 80.11, 81.89, and 88.67%, respectively. Whilst PS illustrated 71.02% (LSD=9.48). PC and SC tested on carrot broth (CB) at concentration of 3% were the most effective chemicals on reducing spore germination whereas PS declined spore germination to 7.22% (LSD=2.40). This study will be conducted through greenhouse control.

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีที่มีพิษต่อสิ่งมีชีวิตค่อนข้างต่ำนับเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำมาใช้ควบคุมโรคพืช งานทดลองครั้งนี้เป็นการทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาความเป็นไปได้ในการนำสารประเภท Food additives มาควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก ที่มีสาเหตุจากรา *Colletotrichum capsici* สารที่นำมาใช้ทดสอบได้แก่ potassium carbonate (PC), potassium sorbate (PS), sodium bicarbonate (SB) และ sodium carbonate (SC) โดยใช้ความเข้มข้น 1, 2 และ 3% การทดสอบการควบคุมการเจริญของเส้นใย โดยวิธี poisoned food technique ในอาหาร potato dextrose agar (PDA) พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ สาร PC, SB และ SC ที่ความเข้มข้น 2% สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยได้ 80.11, 81.89 และ 88.67% ตามลำดับ ในขณะที่ PS ยับยั้งได้เพียง 71.02% เท่านั้น (LSD=9.48) สำหรับการยับยั้งการงอกของสปอร์ซึ่งทดสอบใน carrot broth (CB) พบว่า PC และ SC ที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยสามารถควบคุมการงอกได้อย่างสมบูรณ์ ส่วน PS พบการงอกของสปอร์ 7.22% (LSD=2.40) การทดลองครั้งนี้จะนำไปใช้ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในสภาพโรงเรือนต่อไป

คำนำ

โรคแอนแทรคโนสพริกเกิดจากเชื้อราสาเหตุที่สำคัญ 2 species คือ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* ในเขตภาคตะวันตก จังหวัดนครปฐมและกาญจนบุรีนั้นพบการระบาดของ *C. capsici* มากกว่า การแพร่ระบาดของสปอร์อาศัยแมลงและน้ำฝน พบว่าสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จะไม่งอกเมื่ออยู่รวมกันใน spore matrix เนื่องจากมีสารยับยั้งการงอกของสปอร์อยู่ (Louis *et al*., 1988) มีรายงานว่า extracellular matrix นั้นประกอบด้วย esterase, invertase และสารประกอบพวก glycoprotein (Weng and Chuang, 1996) สปอร์จะงอกได้ดีเมื่อถูกชะล้างด้วยน้ำ ทำให้เกิดโรคกับพืชอาศัยได้ (Madden *et al*., 1993) การเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จะเข้าทำลายในระยะแรกของการพัฒนาเป็นผล อาการโรคจะเกิดเมื่อผลใกล้เจริญหรือเจริญเต็มที่ เรียกการเข้าทำลายแบบนี้ว่า “quiescent infection” (Pruskey and Plumbley, 1992) การควบคุมโรคแอนแทรคโนสกับพืชต่างๆ ที่เคยมีรายงานมานั้นมักใช้สารเคมีเป็นส่วนใหญ่ นอกไปจากนี้มีการควบคุมโดยชีววิธีอีกด้วย เนื่องจากผลพริกถูกนำมาใช้บริโภค การตระหนักถึงความปลอดภัยต่อผู้บริโภคเป็นเรื่องที่สำคัญยิ่ง งานวิจัยการควบคุมโรคพืชได้นำ Food additives มาใช้กับเชื้อราหลายชนิดเช่น *B. cinerea*, *Uromyces appendiculatus*, *Puccinia triticina*, *Penicillium expansum* เป็นต้น และได้ผลดีเช่นกัน (Arslan *et al*., 2006; Karabulut *et al*., 2005; Nigro

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at KPS, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom 73140

et al., 2006; Palou *et al*., 2007) การทดลองนี้จึงได้ศึกษาประสิทธิภาพการใช้สาร Food additives ได้แก่ PC, PS, SB และ SC ในเบื้องต้น ในระดับห้องปฏิบัติการ การจัดการก่อนการเก็บเกี่ยวที่ดีส่งผลต่อการป้องกันโรคหลังการเก็บเกี่ยวได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้จะถูกนำไปใช้จริงกับการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum capsici*

นำเชื้อรา *C. capsici* อายุ 5 วัน มาทดสอบด้วยวิธี poisoned food technique โดยผสมสาร Food additives ได้แก่ PC, PS, SB และ SC ปริมาตร 1 มิลลิลิตรกับอาหาร PDA ปริมาตร 9 มิลลิลิตร โดยความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1, 2 และ 3% โดยวัดค่าความเป็นกรด-ด่างก่อนนำมาผสม จากนั้นใช้ cork borer ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 5 มิลลิเมตร ตัดเส้นใยเชื้อราบริเวณขอบโคโลนี แล้วนำไปวางบนอาหารที่ผสมสารดังกล่าวข้างต้น โดยวางตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อ ให้ด้านที่มีเชื้อราสัมผัสผิวหน้าอาหาร บ่มใน incubator อุณหภูมิ 25 °ซ ในที่มืด นาน 7 วัน วัดการเจริญของเส้นใย เปรียบเทียบกับการทดลองควบคุม ที่ผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จัดการทดลองแบบ Factorial ในแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยทำ 5 ซ้ำต่อการทดลอง แล้วนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย โดยใช้สูตรดังนี้

$$\frac{\text{เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของการทดลองควบคุม} - \text{เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนสารที่ทดสอบ}}{\text{เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของการทดลองควบคุม}} \times 100$$

การทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา Colletotrichum capsici

นำเชื้อรา C. capsici อายุ 5 วัน มาทดสอบ โดยนำ PC, PS, SB และ SC ปริมาตร 5 มิลลิลิตร กับ spore suspension ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เตรียมโดยใช้ CB และมีจำนวนสปอร์ 1 X 105 สปอร์/มิลลิลิตร พร้อมทั้งวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1, 2 และ 3% จากนั้นนำไปบ่มใน incubator อุณหภูมิ 25°ซ ในที่มืด เวลา 24 ชั่วโมง จัดการทดลองแบบ Factorial ในแผนการทดลองแบบ CRD โดยทำ 5 ซ้ำต่อการทดลอง นับจำนวนสปอร์ที่งอกและไม่งอกโดยใช้ haemacytometer คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ โดยใช้สูตร

จำนวนสปอร์ที่งอก X 100/จำนวนสปอร์ทั้งหมด

ผล

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum capsici*

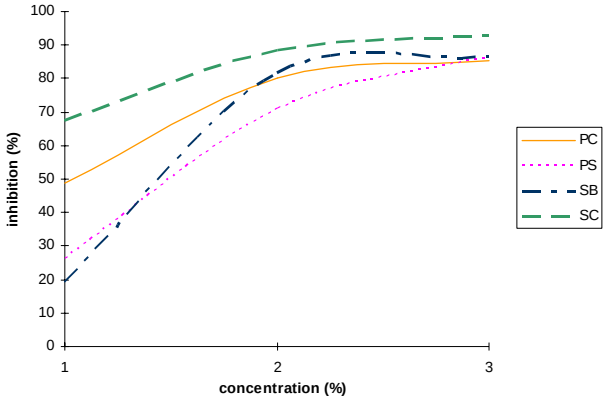

Figure 1 Mycelial growth inhibition of *C. capsici* tested on PDA with 4 kinds of food additives after 7d of incubation.

Table 1 Mycelial growth inhibition of *C. capsici* on PDA with 4 kinds of food additives after 7d of incubation.

Food additives	Mycelial inhibition (%)[1/]		
	conc 1%	conc 2%	conc 3%
Potassium carbonate	48.71	80.11	85.18
Potassium sorbate	26.10	71.02	86.50
Sodium bicarbonate	18.90	81.89	86.60
Sodium carbonate	67.35	88.66	92.83

[1/] LSD = 9.48 and CV=10.7%

สาร Food additives แต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเส้นใยได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ พบว่า SC มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้น 1% พบการยับยั้งได้สูงถึง 67.35% รองลงมาคือ PC ที่ยับยั้งได้ 48.71% ในขณะที่ PS และ SB มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ไม่แตกต่างกัน คือ 26.1 และ 18.91 ตามลำดับ (LSD=9.48) ที่ความเข้มข้น 2% พบว่า SC และ SB ยับยั้งได้แตกต่างจาก PS โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 88.67, 81.89 และ 71.02 ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 3% พบว่าทั้ง PC, PS, SB และ SC มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 85.18, 86.5, 86.61 และ 92.83 ตามลำดับ (Fig. 1 และ Table 1)

การทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum capsici*

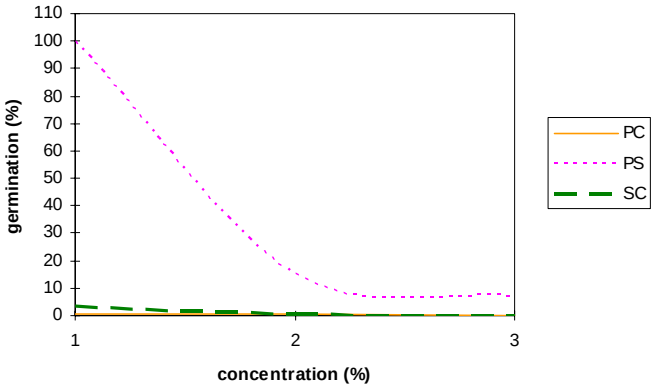

Figure 2 Spore germination of *C. capsici* tested on CB with 4 kinds of food additives after 24 h of incubation.

Table 2 Spore germination of *C. capsici* tested on CB with 4 kinds of food additives after 24 h of incubation.

Food additives	Spore germination (%)[1/]		
	conc 1%	conc 2%	conc 3%
Potassium carbonate	0.84	0.32	0.00
Potassium sorbate	100	15.08	7.22
Sodium bicarbonate	>85	>85	>85
Sodium carbonate	3.28	0.62	0.00

[1/] LSD=2.40 and CV=13.2%

ประสิทธิภาพของสารแต่ละชนิดต่อการควบคุมการงอกของสปอร์พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ สาร PC ที่ความเข้มข้นที่ 1 และ 2% พบการงอกของสปอร์เพียง 0.32 และ 0.84% ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 3% สปอร์ไม่สามารถงอกได้ การงอกของสปอร์จากอาหารทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นของสารนี้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ขณะที่ SC มีประสิทธิภาพรองลงมา ที่ความเข้ม 1 และ 2% สปอร์งอก 3.28 และ 0.62% ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้น 3% สปอร์ไม่สามารถงอกได้ (LSD=2.40) ส่วน PS ที่ความเข้มข้น 1% ไม่สามารถควบคุมการงอกของสปอร์ได้ ที่ความเข้มข้น 3% พบสปอร์งอกเพียง 7.22% (Fig.2 และ Table 2) สำหรับ SB ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นพบการงอกของสปอร์มากกว่า 85% (Table 2)

วิจารณ์ผล

การทดลองครั้งนี้พบว่า pH มีบทบาทน้อยมากต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เช่น SC และ PC ที่ 1% ยับยั้งเส้นใยได้ 67.35 และ 48.71% โดยวัดค่า pH ได้ 10.31 และ 10.37 ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 3% พบว่า SC, SB, PS และ PC ยับยั้งได้ 92.83, 86.60, 86.50 และ 85.18% ในขณะที่ค่า pH วัดได้ 10.98, 9.81, 7.16 และ 11.00 ตามลำดับ ส่วนการยับยั้งการงอกของสปอร์พบว่า PS ที่ 1% พบการงอกของสปอร์มากกว่า 85% ค่า pH เท่ากับ 8.25 ขณะที่ความเข้มข้น 3% สปอร์งอกเพียง 7.22% และค่า pH เท่ากับ 8.51 และเมื่อเปรียบเทียบกับ SB ที่ความเข้มข้น 3% เหมือนกัน ซึ่งค่า pH เท่ากับ 8.64 ไม่สามารถควบคุมการงอกของสปอร์ได้ ทั้งๆที่ค่า pH ไม่แตกต่างกันมากนัก ซึ่งเคยมีรายงานว่าค่า pH เพียงอย่างเดียวไม่สามารถอธิบายการยับยั้งเชื้อราโดยปฏิกิริยาของเกลือจาก Food additives ได้ (Punja and Grogan, 1982) แต่พบว่าปฏิกิริยา

ระหว่างเกลือของสาร Food additives และอาหารเลี้ยงเชื้อ (Biggs *et al*., 1997) เปรียบเสมือนเป็นปฏิกิริยาระหว่างเกลือและสิ่งแวดล้อม (Punja and Grogan, 1982) ซึ่งอาจมีบทบาทที่สำคัญต่อการควบคุมเชื้อรา

กลไกการทำงานของเกลือจาก PC, SB และ SC นั้นยังไม่มีการศึกษามากนัก แต่สำหรับเกลือ carbonate และ bicarbonate นั้นพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย การงอกของสปอร์ และสันนิษฐานว่าอิออนของเกลือเหล่านี้มีพิษโดยตรงต่อ protoplasm ของเชื้อราหลายชนิด เช่นรา *B. cinerea* เมื่อสัดส่วนของอิออน CO_3^{2-} สูงที่ pH 11.3 (PC และ SC) และสัดส่วนอิออนของ HCO_3^- มีบทบาทมากเมื่อ pH 8.4 (SB) (Palmer *et al*., 1997) ซึ่งอาจส่งผลต่อการหยุดการเจริญของเชื้อราได้ (Smilanick *et al*., 1999) ส่วนอิออนของเกลือ sorbate นั้นมีคุณสมบัติในการยับยั้งเส้นใยและการงอกของสปอร์ได้ดีและมีคุณสมบัติในการควบคุมเชื้อรา (Punja and Grogan, 1982) ซึ่งกรด sorbic และเกลือในกลุ่มนี้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ cell membrane และการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดใน Krebs cycle (Olivier *et al*., 1999) อย่างไรก็ตามงานทดลองนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นเท่านั้น

สรุป

สาร SC มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. capsici* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 1% แต่ที่ความเข้มข้นที่ 3% พบว่าทั้ง PC, PS, SB และ SC มีประสิทธิภาพที่ไม่แตกต่างกัน โดยยับยั้งได้มากกว่า 85% ส่วนการยับยั้งการงอกของสปอร์ พบว่า PC มีประสิทธิภาพดีที่สุดตั้งแต่ความเข้มข้นที่ 1% ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 3% ส่วน SB ที่ความเข้มข้นทุกระดับที่ทดสอบ มีประสิทธิภาพต่ำสุด พบการงอกของสปอร์มากกว่า 85% ในขณะที่ SB นั้นหากใช้ในยับยั้งการเจริญของเส้นใยที่ความเข้มข้น 2 และ 3% พบว่ามีประสิทธิภาพค่อนข้างดี งานทดลองนี้พบว่าสาร Food additives น่าจะเป็นทางเลือกใหม่ที่จะใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกได้อีกวิธีหนึ่ง

เอกสารอ้างอิง

Arslan, U., K. Ilhan and O.A. Karabulut. 2006. Evaluation of food additives and low-toxicity compounds for the control of bean rust and wheat leaf rust. J.Phytopathol 154: 534-541.

Biggs, A.R., M.M. El-Kholi, S. El-Neshawy and R. Nickerson. 1997. Effects of calcium salts on growth, polygalacturonase activity and infection of peach fruit by *Monilinia fructicola*. Plant Dis. 81: 399-403.

D. Pruskey and R.A. Plumbley. 1992. Quiescent infection of *Colletotrichum gloeosporioides* in the tropics. In: *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control, pp. 289-308 (Bailey, J.A. and M.J. Jeger, Eds.), CAB International, Wallingford, U.K.

Louis, I., A. Chew. and G.Lim. 1988. Influence of spore density and extracellular conidial matrix on spore germination in *Colletotrichum capsici*. Trans. Br. Mycocl. Soc. 91: 694-699.

Karabulut, O.A., G. Romanazzi, J.L. Smilanick and A. Lichter. 2005. Postharvest ethanol and potassium sorbate treatments of table grapes to control gray mold. Postharvest Biol. Technol. 37: 129-134.

Madden, L.V., L.L. Wilson and M.A. Ellis. 1993. Fields spread of anthracnose fruit rot of strawberry in relation to ground cover and ambient weather conditions. Plant Dis. 77: 861-866.

Nigro, F., L. Schena, A. Ligorio, I. Pentimone, A. Ippolito and M.G. Salerno. 2006. Control of table grape storage rots by pre-harvest applications of salts. Postharvest Biol. Technol. 42: 142-149.

Olivier, C., C.R. MacNeil and R. Loria. 1999. Application of organic and inorganic salts to field-grown potato tubers can suppress silver scurf during potato storage. Plant Dis. 83: 814-818.

Palou, L., C.H. Crisosto and D. Garner. 2007. Combination of postharvest antifungal chemical treatments and controlled atmosphere storage to control gray mold and improve storability of 'Wonderful' pomegranates. Postharvest Biol. Techol. 43: 133-142.

Palmer, C.L., R.K. Horst and R.W. Langhans. 1997. Use of bicarbonates to inhibit in vitro colony growth of *Botrytis cinerea*. Plant Dis. 81: 1432-1438.

Punja, Z.K., R.G. Grogan. 1982. Effects of inorganic salts, carbonate-bicarbonate anions, ammonia, and the modifying influence of pH on sclerotial germination of *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology 72: 635-639.

Smilanick, J.L., D.A. Margosan, F. Mlikota, J. Usall and I.F. Michael. 1999. Control of citrus green mold by carbonate and bicarbonate salts and the influence of commercial postharvest practices on their efficiency. Plant Dis. 83: 139-145.

Weng, F.Y. and T.Y. Chuang. 1996. Analysis of enzyme composition in the spore matrix of *Colletotrichum gloeosporioides*, causing agent of mango anthracnose (in Chinese). Plant Pathol. Bull. 5:181-187.