Agricultural Sci. J. 41 : 1 (Suppl.) : 333-336 (2010) ว. วิทย. กษ. 41 : 1 (พิเศษ) : 333-336 (2553)

ผลของการใช้สารสกัดจากหนอนตายหยากต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของกล้วยหอมทอง

Effect of crude extract from *Stemona curtisii* Hook.f. to control anthracnose of 'Kluai Hom Tong' *Musa* sp. (AAA group)

นาตยา มนตรี[1]*, กนกพร บุญญะอติชาติ[1] และ พงศ์พล ลือจันทึก[1]
Nattaya Montri[1], Kanokporn Bunya-atichart [1] and Pongpol Leujantuak[1]

Abstract

The effect of *Stemona curtisii* Hook.f. crude extract to control on anthracnose of 'Kluai Hom Tong' *Musa* sp. (AAA group) was studied for the possibility to apply on banana free-toxic production. Banana fruits were dipped in 0, 600, 800, and 1000 ml L^{-1} of *S. curtisii* crude extract solution for 2 min then sprayed with 10^6 spore/ml of *Colletotrichum musae* spore suspension and incubated for 2 days at room temperature (29 $\pm$ 2° C). Banana fruits were further sprayed with 500 ml $L^{-1}$of ethephon solution and incubated for 1 day at room temperature. The anthracnose disease percentage and quality of banana fruits was recored every 2 days. Banana fruits sprayed with *S. curtisii* crude extract at 600-1000 ml L^{-1} showed lower disease percentage than control. The lowest diseases percentage was showed by at the concentration of 1,000 ml L^{-1} treatment (22.5%) with 8 of shelf life.

Key word: *Stemona curtisii*, anthracnose, banana

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากหนอนตายหยากต่อการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนสในกล้วยหอมทอง เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เพื่อการผลิตกล้วยปลอดสารพิษ ทำการทดลองโดยการจุ่มผลกล้วยหอมทองในสารสกัดหนอนตายหยากที่มีความเข้มข้น 0 600 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นทำการฉีดพ่นเชื้อ *Colletotrichum musae* ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร บ่มเชื้อในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน และทำการฉีดพ่นด้วยสารละลายเอทธิฟอน (Ethephon) ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการบ่มกล้วยในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและคุณภาพของกล้วยหอมทองหลังการเก็บรักษาทุก 2 วัน พบว่า การจุ่มด้วยสารสกัดที่ความเข้มข้น 600-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยกว่าการทดลองชุดควบคุม และที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดที่ 22.5 เปอร์เซ็นต์ และมีอายุการเก็บรักษา 8 วัน

คำสำคัญ หนอนตายหยาก, แอนแทรคโนส, กล้วยหอมทอง

คำนำ

กล้วยเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และคุณค่าทางอาหารสูง มีการปลูกกล้วยหลายชนิดทั่วทุกภาคของประเทศ โดยกล้วยที่นิยมปลูกโดยทั่วไป ได้แก่ กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ กล้วยเล็บมือนาง และกล้วยหอมทอง ทั้งเพื่อใช้ในการบริโภค การใช้ประโยชน์จากส่วนต่างๆ การค้าและส่งออก ซึ่งกล้วยหอมทองที่ปลอดจากสารพิษกำลังได้รับความนิยมในตลาดญี่ปุ่น และแหล่งผลิตเพื่อการส่งออกที่สำคัญได้แก่ กลุ่มเกษตรกรทุ่งคาวัด อ.ละแม จังหวัดชุมพร และสหกรณ์การเกษตรท่ายาง จำกัด จ.เพชรบุรี

อย่างไรก็ตามในการส่งออกกล้วยหอมทองนั้นพบว่าโรคหลังการเก็บเกี่ยวของกล้วยหอมทอง มีผลทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตและลดมูลค่าของผลผลิตเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนส ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum musae* (เบญจมาศ, 2545) โดยเชื้อราสามารถเข้าทำลายผลกล้วยที่สุกระยะหลังการเก็บเกี่ยว มีการแสดงอาการจุดสีน้ำตาลหรือดำกระจัดกระจายบนผล ต่อมามีลักษณะบุ๋มและขยายตัวกว้างเมื่อผลกล้วยสุกงอมทำให้ผลกล้วยเน่า การศึกษาเกี่ยวกับการยับยั้งเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในกล้วยหอมทองเพื่อหาทางป้องกันการเกิดโรคและการผลิตให้ได้คุณภาพที่ดี

[1] สาขาวิชาพืชสวน สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังวิทยาเขตชุมพร, ชุมพร, 86160
[1] Division of Horticulture, School of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Chumphon Campus, Chumphon 86160
* Corresponding author: kmnattay@kmitl.ac.th

สำหรับการส่งออกโดยไม่ใช้สารเคมีจึงนับว่ามีความสำคัญยิ่ง โดยเฉพาะการส่งออกในรูปของกล้วยหอมทองที่ปลอดภัยจากสารพิษ ซึ่งเกษตรกรต้องงดใช้สารเคมีต่างๆ ที่อาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ทั้งสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง และป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการศึกษาของปัทมา (2551) ในการนำสารสกัดจากหนอนตายหยาก มาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. musae* ที่เลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) พบว่าที่ความเข้มข้น 800 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญในกล้วย ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองเพื่อนำเอาสารสกัดจากหนอนตายหยาก มาใช้ในการป้องกันโรคแอนแทรคโนสกับผลกล้วยหอมทอง โดยการจุ่มสารสกัดหลังกระบวนการล้างและทำความสะอาดกล้วยหอมทองก่อนการปลูกเชื้อ *C. musae* เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ป้องกันโรคแอนแทรคโนสระหว่างการขนส่งกล้วยหอมทองปลอดสารพิษเพื่อการส่งออกต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารสกัด

นำรากของหนอนตายหยากมาทำการล้างให้สะอาดแล้วนำมาหั่นเป็นฝอย จากนั้นนำไปแช่ลงในเมทานอล 95% เก็บในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน ทำการกรองแล้วนำมาระเหยเอาเมทานอลออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ก่อนนำสารที่ได้มาผสมกับคลอโรฟอร์มและน้ำในอัตรา 1:1 และแยกเอาชั้นคลอโรฟอร์มมาทำการระเหยตัวทำละลาย จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก และนำไปเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เลี้ยงเชื้อรา *C. musae* บนอาหาร PDA ในสภาพปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน ทำการเตรียม spore suspension ของเชื้อราที่ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มล.

การทดสอบความสามารถของสารสกัดต่อการเจริญของเชื้อราในกล้วยหอมทอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 4 สิ่งทดลอง ได้แก่ ความเข้มข้นของสารสกัดจากหนอนตายหยาก ที่ 0 600 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10 ซ้ำ/สิ่งทดลอง แต่ละซ้ำใช้กล้วย 3 ผล ทำการทดลอง 2 ครั้ง โดยนำกล้วยหอมทองที่มีความสุก 70 % มาจุ่มในสารละลายจากสารสกัดหนอนตายหยากความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 นาที ก่อนทำการฉีดพ่นด้วยสปอร์ของเชื้อรา *C. musae* บ่มเชื้อเป็นเวลา 1 วันในถุงพลาสติกใสปิดปากถุง จากนั้นบ่มกล้วยด้วยการฉีดพ่นสารละลายเอทธิฟอน ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร บรรจุลงกล่องกระดาษ เปิดปากถุงพลาสติกหลังการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค วัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total Soluble Solids : TSS) โดยใช้ hand refractometer วัดค่าปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (Tritratable acid : TA) วัดค่าความแน่นเนื้อโดยใช้ fruit firmness tester ชั่งน้ำหนักผล วัดการเปลี่ยนแปลงสีเปลือกและสีเนื้อด้วยเครื่องวัดค่าสี Hunter lab ® รุ่น Miniscan XE Plus ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT) บันทึกผลการทดลองทุก 2 วัน โดยนับวันหลังการบ่ม 24 ชั่วโมงเป็นวันที่ 0

ผลและวิจารณ์

จากการทดลองผลของสารสกัดจากหนอนตายหยาก 4 ระดับความเข้มข้นที่ 0 600 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 นาที เมื่อผลกล้วยแห้งทำการบรรจุถุงพลาสติก จากนั้นทำการฉีดพ่น ด้วยสปอร์ของเชื้อ *C. musae* ที่มีความเข้มข้นของ spore suspension 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตรจากนั้นทำการบ่มกล้วยและการเก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง พบว่าระยะที่เก็บรักษากล้วยหอมทองในช่วงวันที่ 0-6 ยังไม่พบการเกิดโรคในทุกความเข้มข้นของการใช้สารสกัดจากหนอนตายหยาก ในขณะที่วันที่ 8 ของการเก็บรักษากล้วยหอมทองมีการเปลี่ยนเป็นสีเหลืองในทุกความเข้มข้นของสารสกัด ซึ่งเป็นระยะที่ผลสุกมากขึ้นและพบการเกิดโรค โดยผลการทดลองมีความสัมพันธ์กับค่าการเปลี่ยนแปลงของสีผลกล้วยหอมทอง ซึ่งผลกล้วยมีสีเขียวลดลงสอดคล้องกับค่า L and b ที่เพิ่มขึ้น (Table 1) และสอดคล้องกับงานทดลองของ Chillet และคณะ (2007) ที่ พบว่า ผลกล้วยจะมีความอ่อนแอต่อเชื้อรา *C. musae* และแสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสรุนแรงและระบาดรวดเร็วในระยะที่ผลสุก ส่วนการจุ่มผลกล้วยหอมทองด้วยสารสกัดจากหนอนตายหยากก่อนการฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *C. musae* มีแนวโน้มของการควบคุมโรคได้ดีกว่าการไม่จุ่มสารสกัด และที่ความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง (Table 2) ทั้งนี้อาจเนื่องจากรากของหนอนตายหยากประกอบด้วยสารสำคัญในกลุ่มของ Stemona alkaloids หลายชนิด (Kaltenegger et.al., 2003) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ ชนนิกานต์ (2549) ได้รายงานการผลของการใช้สารสกัด

จากหนอนตายหยาก ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium deliense, Phytophthora parasitica, Fusarium oxysporum* และ *C. gloeosporioides* พบว่าที่ความเข้มข้น 800 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 4 ชนิดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ปัทมา (2551) ได้รายงานผลการใช้สารสกัดจากหนอนตายหยากที่ความเข้มข้น 800 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. musae* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และจากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า ในวันที่ 8 ของการเก็บรักษา การจุ่มสารสกัดจากหนอนตายหยากที่ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมากที่สุดที่ 52.5 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้นของสารสกัด 600, 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดโรคที่ 45 40 เปอร์เซ็นต์ และ 22.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนลักษณะทางคุณภาพอื่น ๆ พบว่าการจุ่มผลในสารสกัดที่ความเข้มข้น 600-800 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้สูงกว่าการไม่จุ่มสารสกัด และความแน่นเนื้อของเปลือกที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าสูงที่สุดที่ 15.32 N/cm³ ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ และ ความแน่นเนื้อของเนื้อ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (Table 2) และกล้วยหอมทองมีลักษณะภายนอกคือสี (Figure 1) กลิ่นและรสชาติปกติ และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

Table 1 The color changing (L and b value) of 'Hom Tong' banana fruit skin after soaking with different concentrations of Stemona crude extract before spraying with spore suspension of *Colletotrichum musae,* incubated with ethephon and then storage for 0-8 days

Crude extract concentrations	L value after storage (day)					b value after storage (day)				
(ppm)	0	2	4	6	8	0	2	4	6	8
0	48.92	47.32	61.28ab	66.73	63.86	32.31	31.60	46.14	47.45	43.97
600	51.22	50.12	60.74ab	67.20	58.86	34.01	32.59	44.59	49.79	40.59
800	50.00	49.64	63.37a	66.97	53.47	34.79	32.01	44.47	46.47	36.58
1,000	50.75	50.15	54.52b	67.64	58.15	32.97	32.67	39.49	49.78	39.10
F-test	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	5.81	6.31	10.84	3.05	16.77	7.07	4.56	14.06	6.61	23.74

[1/] within the same column mean values followed by the same letter are not significantly different, ns=non significant and * = significant at the 0.5 % level (Duncan multiple range test, DMRT)

Table 2 Disease incidence percentage, weight loss percentage, total soluble solid (TSS), tritratable acid (TA), fruit skin and pulp firmness of 'Hom Tong' banana after soaking with different concentrations of Stemona crude extract before spraying with spore suspension of *Colletotrichum musae,* incubated with ethephon and then storage for 8 days

Crude extract Concentrations (mg/l)	Disease occur (%)	Weight loss (%)	Total soluble solid (TSS)	Tritratable acid (%TA)	Fruit skin firmness (N/cm³)	Fruit pulp firmness (N/cm³)
0	52.5	5.50	5.75ab	0.0036	14.94a	6.23
600	45	4.64	6.15a	0.0034	11.95b	8.83
800	40	4.57	5.82b	0.0035	14.81a	8.05
100	22.5	5.47	4.87ab	0.0034	15.32a	5.97
F-test		ns	*	ns	*	ns
C.V. (%)		62.06	12.90	14.95	7.63	29.92

[1/] within the same column mean values followed by the same letter are not significantly different, ns=non significant and * = significant at the 0.5 % level (DMRT)

Figure 1 External and internal appearances of 'Hom Tong' banana after soaking with different concentrations of Stemona crude extract before spraying with spore suspension of *Colletotrichum musae*, incubated with ethephon and then storage for 8 days

สรุป

การจุ่มด้วยสารสกัดจากหนอนตายหยาก มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยกว่าการไม่จุ่มสารสกัด โดยที่ความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มของการยับยั้งการเกิดโรคได้ดีขึ้น นอกจากนี้ผลของกล้วยหอมทองที่ได้รับการจุ่มด้วยสารสกัดยังมีแนวโน้มของคุณภาพผลดีกว่าผลที่ไม่ได้รับการจุ่ม ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดจากหนอนตายหยากไปพัฒนาต่อไปเพื่อใช้ในการป้องกันการเกิดโรคแอนแทรคโนสในระหว่างการขนส่งที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างการส่งออกได้

คำขอบคุณ

โครงการอยู่ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช สนองพระราชดำริโดยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และได้รับการสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปี 2551 คณะผู้วิจัย ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ศักดา ไตรศักดิ์ รศ.ดร. วิรัตน์ ภู่วิวัฒน์ และ รศ.ดร.จำรูญ เล้าสินวัฒนา ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือวิจัย ขอขอบคุณกลุ่มเกษตรกรทุ่งคาวัด อ.ละแม และ บริษัทโดลล์ไทยแลนด์ชุมพร จังหวัดชุมพร สำหรับข้อมูลแหล่งวัตถุดิบในการทำวิจัย คุณวีระณีย์ ศรีพรมสุข ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เชื้อรา *C. musae* และคำปรึกษาเกี่ยวกับการทดสอบเชื้อราโรคพืช

เอกสารอ้างอิง

ชนนิกานต์ ขวัญช่วย. 2549. ผลของสารสกัดหยาบจากหนอนตายหยากต่อการเจริญของเชื้อราศัตรูพืชบางชนิด. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร. ชุมพร.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2545. กล้วย. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 357 หน้า.

ปัทมา จันทร์กระจ่าง. 2551. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดต่อการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum musae*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร. ชุมพร.

Chillet, M., O. Humbert, L. de Laperyre de Bellaire. 2007. Relationship between physiological age, ripening and susceptibility of banana to wound anthracnose. Crop Protection 26: 1078-1082

Kaltenegger, E., B. Brem, K. Mereiter, H. Kalchhauser, H. Kahlig, O. Hofer, S. Vajrodaya, and H. Greger. 2003. Insecticidal pyrido (1,2-α)azepine alkaloids and related derivatives from *Stemona* species. Phytochem. 63: 803-816