Agricultural Sci. J. 42 : 3 (Suppl.) : 17-20 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 3 (พิเศษ) : 17-20 (2554)

การควบคุมเชื้อสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าของมังคุดด้วยสารสกัดจากพืชในวงศ์ขิง

Postharvest control of pathogens cause mangosteen fruit rot by plant extracts in Zingiberaceae family

เนตรนภิส เขียวขำ[1] สมศิริ แสงโชติ[1] และ ธัญมน สังข์ศิริ[1]

Netnapis Khewkhom[1], Somsiri Shangchote[1] and Tanyamon Sangsiri[1]

Abstract

Fruit rot of mangosteen from the South of Thailand was caused by *Lasiodiplodia theobromae, Phomopsis* sp., *Fusarium* sp., *Pestalotiopsis* sp*., Colletotrichum gloeosporioides* and *Cladosporium* sp. These pathogens were isolated from stem end, sepals, peel and calyx of mature fruits. *L. theobromae* were infected 45 and 48.8 % on stem end and peel respectively. *Phomopsis* sp. and *Fusarium* sp. were found 60 and 63.8% from sepals and calyx respectively. Antifungal bioassay of rhizome crude extracts of the Zingiberaceae family including *Alpinia galangal, Zingiber montanum, Curcuma longa* and *C. zedoaria* were test against to control postharvest pathogens of mangosteen fruits. The lipophillic phase of crude extracts was determined antifungal activity by microdilution technique. *A. galangal* extracts were found to be the most effective with minimum inhibitory concentration (MIC) at 78 and 2500 µg/ml against *C. gloeosporioides* and *Phomopsis* sp., respectively while *Z. montanum, C. longa* and *C. zedoaria* extracts showed no effect.

Keywords: Garcinia mangostana, fruit rot

บทคัดย่อ

การศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุในผลมังคุดจากภาคใต้ของประเทศไทย พบเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae, Phomopsis* sp., *Fusarium* sp., *Pestalotiopsis* sp*., Colletotrichum gloeosporioides* และ *Cladosporium* sp. โดยพบเชื้อเหล่านี้ที่ขั้วผล กลีบเลี้ยง ผิวผล (เปลือก) และบริเวณก้นผล)calyx) จากตัวอย่างผลมังคุดในระยะสุกแก่ ตรวจพบเชื้อรา *L. theobromae* ร้อยละ ที่บริเวณขั้วผลและที่ผิวผล ตามลำดับ และพบเชื้อรา 48.8 และ 45*Phomopsis* sp. and *Fusarium* sp. ร้อยละ ที่บริเวณกลีบเลี้ยงและก้นผล ตามลำดับ การยับยั้งการเจริ 63.8 และ 60ญของเชื้อราจากผลมังคุดด้วยสารสกัดหยาบจากเหง้าของพืชในวงศ์ขิง ได้แก่ ข่า *(Alpinia galangal)* ไพล *(Zingiber montanum)* ขมิ้นชัน *(Curcuma longa)* และ ขมิ้นอ้อย *(Curcuma zedoaria)* เพื่อควบคุมเชื้อสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมังคุด พบว่าเมื่อทดสอบกิจกรรมการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราด้วยเทคนิควิธี microdilution สารสกัดหยาบส่วนที่ละลายในไขมัน (lipophillic phase) ของข่า มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญ (MIC) ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Phomopsis* sp. เท่ากับ 78 และ 2500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากไพล ขมิ้นชัน และขมิ้นอ้อยไม่แสดงคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าของมังคุด

คำสำคัญ: *Garcinia mangostana* โรคผลเน่า

คำนำ

มังคุด *Garcinia mangostana* L. จัดอยู่ในวงศ์ Guttiferae เป็น ไม้ผลที่ตลาดมีความต้องการสูงมากทั้งตลาดภายในและส่งออก เก็บรักษาได้นานประมาณ 2–4 สัปดาห์ โรคที่เกิดกับผลที่ทำให้ผลิตผลเสียหายทำให้เกิดอาการผลแข็ง บริเวณที่เป็นโรคมีสีเปลี่ยนไป หรืออาจทำให้เนื้อเยื่อปริแตก อย่างไรก็ตามค่อนข้างยากที่จะตรวจสอบในระยะแรกเพราะไม่ปรากฏอาการให้เห็น Sangchote and Pongpisutta (1998) รายงานการศึกษาผลมังคุดที่เก็บจากแหล่งปลูกต่างๆ ในเขตภาคตะวันออกและภาคใต้ของประเทศไทย แสดงอาการเน่าเสียเนื่องจากเชื้อราต่างๆ คือ *Lasiodiplodia theobromae Colletotrichum gloeosporioides Phomopsis* sp. *Gliocephalotrichem bulbilium* และ *Pestalotiopsis* sp. เปลือกผลที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะแข็ง การสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยวในภาคตะวันออกและภาคใต้ พบการเกิดผลเน่าจากเชื้อรา *L. theobromae*

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900 / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว และ สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10400

[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900 / Postharvest Technology Innovation Center (PHTIC) and Office of the Higher Education Commission, Bangkok 10400

มากที่สุดเฉลี่ยร้อยละ 25 โดยพบอาการผลแข็งเฉลี่ยร้อยละ 9.3-9.5 มีรายงานการศึกษาด้านสรีระวิทยาของผลที่ได้รับการกระแทกจะเกิดการลดลงของสารฟีนอลลิก และการสะสมลิกนินในเปลือก เนื้อเยื่อ pericarp ถูกทำลายเป็นสาเหตุทำให้เกิดเปลือกผลแข็ง (Bunsiri *et al*., 2003; Ketsa and Atantee, 1998) อาการผลแข็งอาจเกิดจากการช้ำ แต่การเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอาการผลแข็งเช่นเดียวกัน ในปัจจุบันมีการศึกษาถึงการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคที่เกิดกับมังคุดไม่มาก การควบคุมโรคส่วนใหญ่จะใช้สารเคมี ซึ่งต้องคำนึงถึงความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมเป็นสำคัญ มีการศึกษาใช้สารสกัดจากพืชในกลุ่มที่ใช้บริโภคและมีรายงานว่าพืชในวงศ์ Zingiberaceae หลายชนิดที่มีส่วนประกอบทางเคมีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ สารสกัดหยาบของข่า (*Alpinia galangal*) ขิง (*Zingiber officinale*) ขมิ้น (*Curcuma longa*) และกระชาย (*Boesenbergia pandurata*) มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ขมิ้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* NIHJ JC-2 กระชายสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. lactis S. epidermidis Bacillus cereus B. megaterium* และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สารสกัดข่าในส่วนของ lipophillic มีสารหลักและสารรองคือสารพวกฟีนอลลิก ได้แก่ ρ-cuoumaryl diacetate palmitic acid acetoxyeugenol acetate eugenol β-bisabolene β-farnesene และ sesquiphyllandrene (Oonmetta-aree et al., 2006) สารสกัดหยาบจากข่า กานพลู (*Syzygium aromaticum*) *Pimenta dioica* และอบเชย (*Cinnamomum zeylanicum*) ในส่วน lipophilic มีสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเมื่อทดสอบโดยวิธี bioautography สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Botrytis cinerea* โดยมีค่า EC50 เท่ากับ 30-112 µg/mL ส่วนเหง้าของข่ามีประสิทธิภาพสูงสุดโดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญ (MIC) เท่ากับ 156.3 µg/mL (Khewkhom, 2006) ฉะนั้นเพื่อลดปัญหาจากการใช้สารเคมีสังเคราะห์ พฤกษเคมีเหล่านี้จึงมีแนวโน้มและเป็นทางเลือกที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรคของมังคุด

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การตรวจโรคที่ติดมากับผลที่มาจากภาคใต้ของประเทศไทย ตรวจอาการที่พบและ แยกเชื้อสาเหตุโรค จำแนกชนิดและปริมาณเชื้อราที่ตรวจพบจากส่วนต่างๆ ของผล คือ ขั้วผล กลีบเลี้ยง (calyx, sepals) เปลือกผล และก้นผล (petal) เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเนื่องจากเชื้อราเข้าทำลายจากผลผลิต และเตรียมเชื้อสาเหตุโรคและคัดเลือกสายพันธุ์ที่แยกได้จากมังคุดโดยคัดเลือกเชื้อที่พบมากที่สุดและรองลงมาสำหรับการศึกษา ทดสอบระยะการเข้าทำลายของเชื้อบนผลมังคุดทั้งในสวนและหลังการเก็บเกี่ยว แยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี tissue transplanting method

2. การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากพืช โดยจะคัดเลือกพืชที่ใช้บริโภค วงศ์ Zingiberaceae คือ ข่า *(Alpinia galangal)* ไพล *(Zingiber montanum)* ขมิ้นชัน *(Curcuma longa)* ขมิ้นอ้อย *(Curcuma zedoaria)* และดาหลา (*Etlingera elatior*) จาก มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วผึ่งในที่ร่มให้แห้งประมาณ 2-3 วัน เพื่อให้น้ำระเหยออก แล้วปั่นด้วยเครื่องปั่นหยาบ หลังจากนั้นนำมาบรรจุลงในขวดสีชาเติมตัวทำละลายเมทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ หรืออะซีโตน เก็บในที่มืดเป็นเวลา 3 วัน กรองสารสกัดหยาบด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.1) แล้วนำสารสกัดหยาบที่ได้มาระเหยเอาตัวทำละลายเมทานอลออกด้วยเครื่องระเหยแห้ง (evaporator) หลังจากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้ มาแยกคุณสมบัติการละลายด้วยน้ำและคลอโรฟอร์ม (ในการทดลองนี้ต้องปฏิบัติในตู้ดูดควัน) โดยละลายสารสกัดหยาบด้วยคลอโรฟอร์ม จากนั้นเทลงใส่ในกรวยแยก และละลายสารสกัดหยาบที่เหลือด้วยน้ำในอัตราส่วนที่เท่ากัน เทลงใส่ในกรวยแยก จากนั้นปิดฝากรวยแยกแล้วเขย่าให้คลอโรฟอร์มและน้ำเข้ากัน เปิดฝากรวยแยกและทิ้งไว้ให้สารแยกชั้นอย่างชัดเจน ประมาณ 20 นาที นำสารละลายที่แยกชั้นอยู่ด้านล่างของกรวยแยกซึ่งเป็นสารที่ละลายในคลอโรฟอร์ม เป็นส่วนที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำ (lipophilic phase) จากนั้นแยกตัวทำละลายคลอโรฟอร์มออกด้วยเครื่อง evaporator หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ได้ และเติมเมทานอล 95 เปอร์เซ็นต์เพื่อเป็นตัวทำละลาย ใส่ในขวดสีชา เก็บรักษาสารสกัดหยาบในที่มืด อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากข่า ไพล ขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อย และดาหลา ที่มีผลต่อเชื้อราที่แยกได้จากผลมังคุดโดยศึกษาการยับยั้งการงอกของสปอร์ด้วยวิธี micro dilution assay เพื่อหา minimum inhibitory concentration (MIC) (Hadacek and Greger, 2000; Engelmeier *et al*., 2000)

ผล

1. เมื่อตรวจอาการที่พบและ แยกเชื้อสาเหตุโรค จำแนกชนิดและปริมาณเชื้อราที่ตรวจพบจากส่วนต่างๆ ของผล คือ ขั้วผล กลีบเลี้ยง (calyx, sepals) เปลือกผล และก้นผล (petal) เชื้อราที่ตรวจพบได้แก่ *Cladosporium* sp. *C. gloeosporioides Pestalotiopsis* sp. *Phomopsis* sp. *Fusarium* sp. และ *L. theobromae* ตรวจพบเชื้อรา *Cladosporium*

sp. สูงสุดที่ก้นผล (petal) ร้อยละ 6.3 เชื้อรา *C. gloeosporioides* พบร้อยละ ที่ขั้วผล เชื้อรา 7.5 *Pestalotiopsis* sp. และ *Fusarium* sp.พบสูงสุดร้อยละ ที่เปลือกผล พบเชื้อรา 11.25 *Phomopsis* sp. ร้อยละ ที่ 60กลีบเลี้ยง (calyx, sepals) ส่วนเชื้อรา *L. theobromae* พบที่ขั้วผลร้อยละ 45.0 และที่เปลือกผลร้อยละ 48.8 (Figure 1)

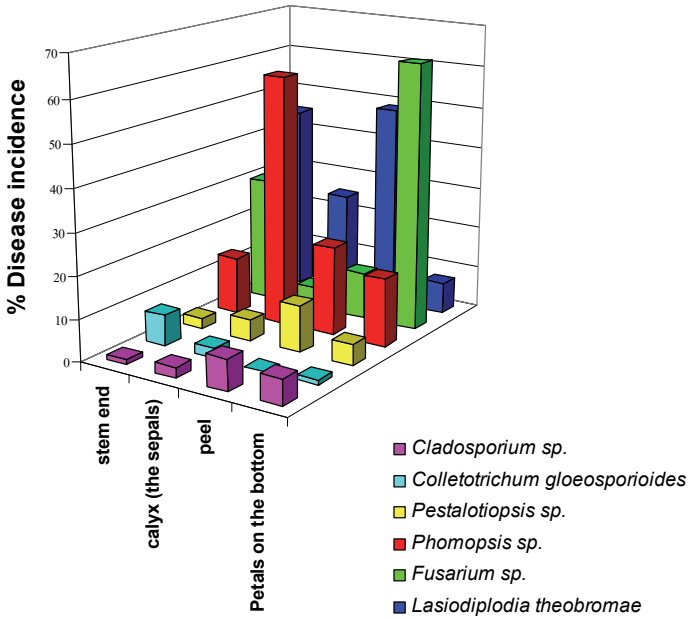

Figure1 Isolation of the pathogens from stem end, calyx, peel and petals of mangosteen fruit

2. การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากพืช โดยจะคัดเลือกพืชที่ใช้บริโภค วงศ์ Zingiberaceae จำนวน ชนิด ได้แก่ส่วน 5 เหง้าของข่า ขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อย ไพล และดาหลา โดยใช้เมทานอลในการสกัด และใช้อะซิโตนสำหรับสกัดข่า (Table 1)

Table 1 Plant material

places	plant material	weight (kg)	solvent	weight of lipophillic phase (mg)
Local market at Amphur Panomsarakham, Chachoengsao Province	*Alpinia galangal*	1	methanol	9,600
			acetone	5,400
	Curcuma longa	1	methanol	2,760
Eastern Botanical Garden (Khao Hin Son) Amphur Panomsarakham, Chachoengsao Province	*Curcuma zedoaria*	1	methanol	2,200
	Zingiber montanum	1	methanol	1,670
	Etlingera elatior	1	methanol	4,980

3. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบข่า ขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อย ไพล และดาหลา ที่มีผลต่อเชื้อราที่แยกได้จากผลมังคุดโดยศึกษาการยับยั้งการงอกของสปอร์ด้วยวิธี micro dilution assay พบว่าสารสกัดหยาบข่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* มีค่า MIC ที่ความเข้มข้น 78µg/mL ที่เวลา ชั่วโมง 120ซึ่งมีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งงอกของสปอร์เชื้อรา *Fusarium* sp. และ *Phomopsis* sp.มีค่า MIC เท่ากับ 1250µg/mL ที่เวลา ชั่วโมง สารสกัดหยาบดาหลา 24ยับยั้งงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ความเข้มข้น 156.3µg/mL ส่วนสารสกัดหยาบไพลที่ความเข้มข้น 2500µg/mL ยับยั้งงอกของสปอร์เชื้อรา *Phomopsis* sp.ที่เวลา ชั่วโมง สารสกัดหยาบ 24ขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 1250 และ 2500µg/mL ยับยั้งงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Phomopsis* sp. ตามลำดับ ที่เวลา ชั่ว 24โมง สารสกัดหยาบขมิ้นอ้อยที่ความเข้มข้น 2500µg/mL ยับยั้งงอกของสปอร์เชื้อรา *Phomopsis* sp. ที่เวลา ชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดหยาบข่าที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น 24 เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป (Table 2)

Table 2 Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) µg/mL on micro dilution assay

Crude extract	*C. gloeosporioides*			*Fusarium* sp.			*Phomopsis* sp.			*L. theobromae*		
	24 hr	48 hr	120 hr	24 hr	48 hr	120 hr	24 hr	48 hr	120 hr	24 hr	48 hr	120 hr
Alpinia galangal	78	78	78	1250	>2500	>2500	1250	2500	>2500	>2500	>2500	>2500
Etlingera elatior	156.3	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
Zingiber montanum	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
Curcuma longa	2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	1250	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
Curcuma zedoaria	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500

สรุป

1. เชื้อราสาเหตุที่ตรวจพบจากผลมังคุดในระยะเก็บเกี่ยวที่พบมาก จำนวน ชนิด ได้แก่ 4 เชื้อรา *C. gloeosporioides L. theobromae Pestalotiopsis* sp. และเชื้อรา *Phomopsis* sp.
2. เชื้อราที่ตรวจพบจากส่วนต่างๆ ของผล คือ ขั้วผล กลีบเลี้ยง (calyx, sepals) เปลือกผล และก้นผล (petal) เชื้อราที่ตรวจพบได้แก่ *Cladosporium* sp. *Colletotrichum gloeosporioides Pestalotiopsis* sp. *Phomopsis* sp. *Fusarium* sp. และ *Lasiodiplodia theobromae* ตรวจพบเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบร้อยละ ที่ขั้วผล 7.5 เชื้อรา *Pestalotiopsis* sp.และ *Fusarium* sp.พบสูงสุดร้อยละ ที่เปลือกผล พบเชื้อรา 11.25 *Phomopsis* sp. ร้อยละ ที่ 60กลีบเลี้ยง (calyx, sepals) ส่วนเชื้อรา *L. theobromae* พบที่ขั้วผลร้อยละ และที่เปลือกผล 45 48.75 ร้อยละ
3. สารสกัดหยาบทั้ง ชนิด ที่ 5สกัดด้วยเมทานอล ได้แก่ ข่า ดาหลา ไพล ขมิ้นชัน และ ขมิ้นอ้อย สารสกัดหยาบข่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* มีค่า MIC ที่ความเข้มข้น 78µg/mL ที่เวลา ชั่วโมง 120ซึ่งมีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น

เอกสารอ้างอิง

Bunsiri, A., Ketsa S. and R.E. Paull. 2003. Phenolic metabolism and lignin synthesis in damaged pericarp of mangosteen fruit after impact. Postharvest Biology and Technology. 29(1): 61-71.

Ketsa, S. and S. Atantee. 1998. Phenolics, lignin, peroxidase activity and increased firmness of damaged pericarp of mangosteen fruit after impact. Postharvest Biology and Technology, 14(1): 117-124.

Khewkhom, N. 2006. Bioassay-based phytochemistry of selected tropical plants to discover natural pesticides. Dessertation, University of Vienna, Austria. 118 p.

Oonmetta-aree, J., T. Suzuki, P. Gasaluck and Eumkeb, G. 2006. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galangal* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. LWT 39: 1214-1220.

Sangchote, S. and R. Pongpisutta. 1998. Fruit rot of mangosteen and control. *In* proceedings of the 7th International Congress of Plant Pathology, 9-16 August 1998, Ediburgh, Scotland.