

ผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้
Effect of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Peel Extract on Anthracnose Disease (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) of Mango Fruit cv. Nam Dok Mai

นิภาดา ประสมทอง¹ มาระตรี เปลี่ยนศิริชัย¹ ประภัสสร บุขหมั่น² วรภัทร ลัคณาทินวงศ์³
และมงคล วงศ์สวัสดิ์¹

Nipada Prasothong¹, Maratree Plainsirichai¹, Prapassorn Bussaman², Voraphat Luckantinvong³,
Mongkol Wongsawas¹

บทคัดย่อ

แอนแทรกโนสเป็นโรคที่สำคัญในมะม่วง งานวิจัยนี้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. โดยทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ มี 6 กรรมวิธี คือสารสกัดจากเปลือกมังคุดสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm เปรียบเทียบกับ Benomyl ความเข้มข้น 750 ppm และน้ำกลั่นปลอดเชื้อ โดยผสมกับอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ก่อนใส่เชื้อด้วยวิธี Poisoned food technique แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 100, 1,000 และ 10,000 ppm สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *C.gloeosporioides* ได้ 54.01, 54.05 และ 55.14% ตามลำดับ ในขณะที่ benomyl ความเข้มข้น 750 ppm ยับยั้งเชื้อราได้ 100 %.

คำสำคัญ: เปลือกมังคุด, *C. gloeosporioides*, โรคแอนแทรกโนส

Abstract

Anthracnose is the major disease of mango. This research studied effect of mangosteen peel extract on mycelium growth of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. in vitro. There were 6 treatments, mangosteen peel extracted with 10, 100, 1,000, 10,000 ppm methanol compared with 750 ppm benomyl, and sterilized water. The solution in each treatment was mixed with potato dextrose agar (PDA). Then the mycelium disc of *C. gloeosporioides* was inoculated by poisoned food technique. They were incubated at 25 C. The result demonstrated that 100, 1,000, 10,000 ppm mangosteen peel extract inhibited growth of *C. gloeosporioides* 54.01, 54.05, and 55.14% respectively. While 750 ppm benomyl inhibited growth of the mycelium 100 %.

Keywords: mangosteen peel extract, *C. gloeosporioides*, anthracnose

¹ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

²ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

³ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ อำเภอลำลูกกา จังหวัดปทุมธานี 12150

¹Department of Agricultural Technology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Maha Sarakham

²Department of Biotechnology Faculty of Technology, Mahasarakham University, Maha Sarakham

³Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Pathumthani

บทนำ

โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose disease) ในมะม่วงเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ปรากฏโรคให้เห็นทั้งระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โดยเชื้อราสามารถติดไปกับผลอ่อนในสภาพพักตัว และเจริญอย่างรวดเร็วเมื่อผลเริ่มสุก ทำให้เกิดจุดดำกระจายบนผล และขยายตัวออกกว้าง เมื่อผลมะม่วงสุกมาก และมีกลุ่มสปอร์สีชมพู หรือ สีส้ม เกิดบริเวณเนื้อเยื่อที่เน่าดำมาก ผลมะม่วงจะเหี่ยวและเน่าทั้งผลในเวลาต่อมา ปัจจุบันการควบคุมมักใช้สารเคมีในการป้องกันโรค โดยเฉพาะสารเคมีประเภทดูดซึม เช่น Carbendazime, Benomyl และ Thiabendazole แต่เริ่มมีข้อจำกัดในบางประเทศ เนื่องจากมีสารพิษตกค้างเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคให้ ซึ่งในประเทศที่พัฒนา มีการออกมาตรการควบคุมการใช้สารเคมีบางชนิด เช่น ประเทศญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา¹ ดังนั้นการใช้วิธีการอื่นแทนการใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจและจำเป็น งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาการใช้สารจากธรรมชาติที่ปลอดภัย เช่น การใช้สารสกัดจากเปลือกมังคุดเพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้โดยลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายดังกล่าว

มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) จัดอยู่ในวงศ์ Guttiferae มังคุดได้ชื่อว่าเป็น “ราชินีผลไม้เขตร้อน” เนื่องจากมีมีกลีบเลี้ยงติดอยู่ด้านบนของผลคล้ายคลึงกับมังกร่าชินี และมีรสชาติที่ดีที่สุด² เปลือกมังคุดพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น flavonoids, xanthones และ mangiferin เป็นต้น สารดังกล่าวจัดเป็นสารทุติยภูมิที่ช่วยเพิ่มความต้านทานของพืชยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์³ เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ และเชื้อรา *Aspergillus* spp. สาเหตุโรคเน่าในเมล็ดถั่วเขียว^{4,5} เป็นต้น ดังนั้นเปลือกมังคุดจึงเป็นพืชสมุนไพรที่น่าศึกษาในการนำไปใช้ควบคุมการเจริญของเชื้อรา *C.gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

วัตถุประสงค์

ศึกษาประสิทธิภาพความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *C.gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

วิธีการศึกษา

การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรค

นำเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้จากภาควิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้เข็มปลายงอตัดชิ้นวัชบริเวณที่ปลายเส้นใยเจริญจาก Slant เชื้อรา *C. gloeosporioides* Penz. วางชิ้นวัชบนกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วบ่มเชื้อในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 25 °C นาน 7 วัน จากนั้นใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ฆ่าเชื้อด้วยการจุ่มในเอทานอล 95% แล้วลนไฟฆ่าเชื้อ รอให้ Cork borer เย็นลง จึงตัดปลายเส้นใยของเชื้อรา นำชิ้นวัชของเชื้อราที่ตัดแล้วมาวางบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) โดยให้ด้านที่มีเชื้อราสัมผัสผิวหน้าอาหาร บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 25 °C นาน 7 วัน แล้วจึงนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุด

นำเปลือกมังคุดที่บดละเอียดแล้วมาสกัดด้วยเอทานอล 95% แขน้อตราส่วนเปลือกมังคุด 1 กรัมต่อเอทานอล 7 มิลลิลิตร นาน 48 ชั่วโมง แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น จึงนำไปทำการตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็ว 3,800 รอบ/นาที อุณหภูมิ 10 °C นาน 30 นาที แล้วนำส่วนเหลวของสารที่ได้มา

ระเหยด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน ที่อุณหภูมิ 40-45 °C จนได้สารสกัดที่มีลักษณะข้นและหนืด มีสีน้ำตาลแดง⁴ จากนั้นนำสารสกัดมาหาค่าผลผลิตที่ได้โดยใช้สูตรคำนวณผลผลิตที่ได้ (เปอร์เซ็นต์)

$$\text{ผลผลิตที่ได้ (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{น้ำหนักผลผลิตที่ได้}}{\text{น้ำหนักพืชก่อนสกัด}} \times 100$$

นำสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่คำนวณเปอร์เซ็นต์ผลผลิตแล้วไปทดสอบ โดยละลายในเอทานอล 40,000 ppm แล้วปรับปริมาตรตามความเข้มข้นเป็น 10 เท่า ดูดสารสกัดความเข้มข้นที่เตรียมไว้แล้วมา 1 มิลลิลิตร ต่ออาหาร PDA 9 มิลลิลิตร

การศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อเชื้อรา

ศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้นต่างกันต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) แบ่งออกเป็น 7 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ คือ

กรรมวิธีที่ 1 Benomly 750 ppm

กรรมวิธีที่ 2 น้ำกลั่นปลอดเชื้อ

กรรมวิธีที่ 3 เอทานอล 40,000 ppm

กรรมวิธีที่ 4 สารสกัดเปลือกมังคุด 10 ppm

กรรมวิธีที่ 5 สารสกัดเปลือกมังคุด 100 ppm

กรรมวิธีที่ 6 สารสกัดเปลือกมังคุด 1,000 ppm

กรรมวิธีที่ 7 สารสกัดเปลือกมังคุด 10,000 ppm

นำเชื้อรา *C. gloeosporioides* Penz. อายุ 7 วัน มาทดสอบด้วยวิธี Poisoned food technique บนอาหาร PDA ที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 10, 100, 1,000, 10,000 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ Benomly 750 ppm, น้ำกลั่นปลอดเชื้อ และเอทานอล 40,000 ppm บันทึกการเจริญเติบโตของเส้นใย ดังนี้

การยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา (เปอร์เซ็นต์)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใย} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

โดย A คือ ค่าเฉลี่ยของการเจริญเส้นใยในชุดควบคุม, B คือ ค่าเฉลี่ยของการเจริญเส้นใยในชุดทดสอบ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเจริญของเชื้อรา} = \frac{B}{A} \times 100$$

โดย A คือ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางชุดควบคุม, B คือ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางชุดทดสอบ

ผลการศึกษา

จากการศึกษาการเจริญเติบโตเส้นใยของเชื้อรา *C.gloeosporioides* พบว่าชุดควบคุม (น้ำกลั่นปลอดเชื้อและเอทานอล) มีการเจริญเติบโตของเส้นใยเท่ากับ 100% ในวันที่ 5 ขณะที่สารสกัดจากเปลือกมังคุด ความเข้มข้น 1,000 และ 10,000 ppm มีการเจริญเติบโตของเส้นใยเท่ากับ 44.17% (Figure 1 และ 2)

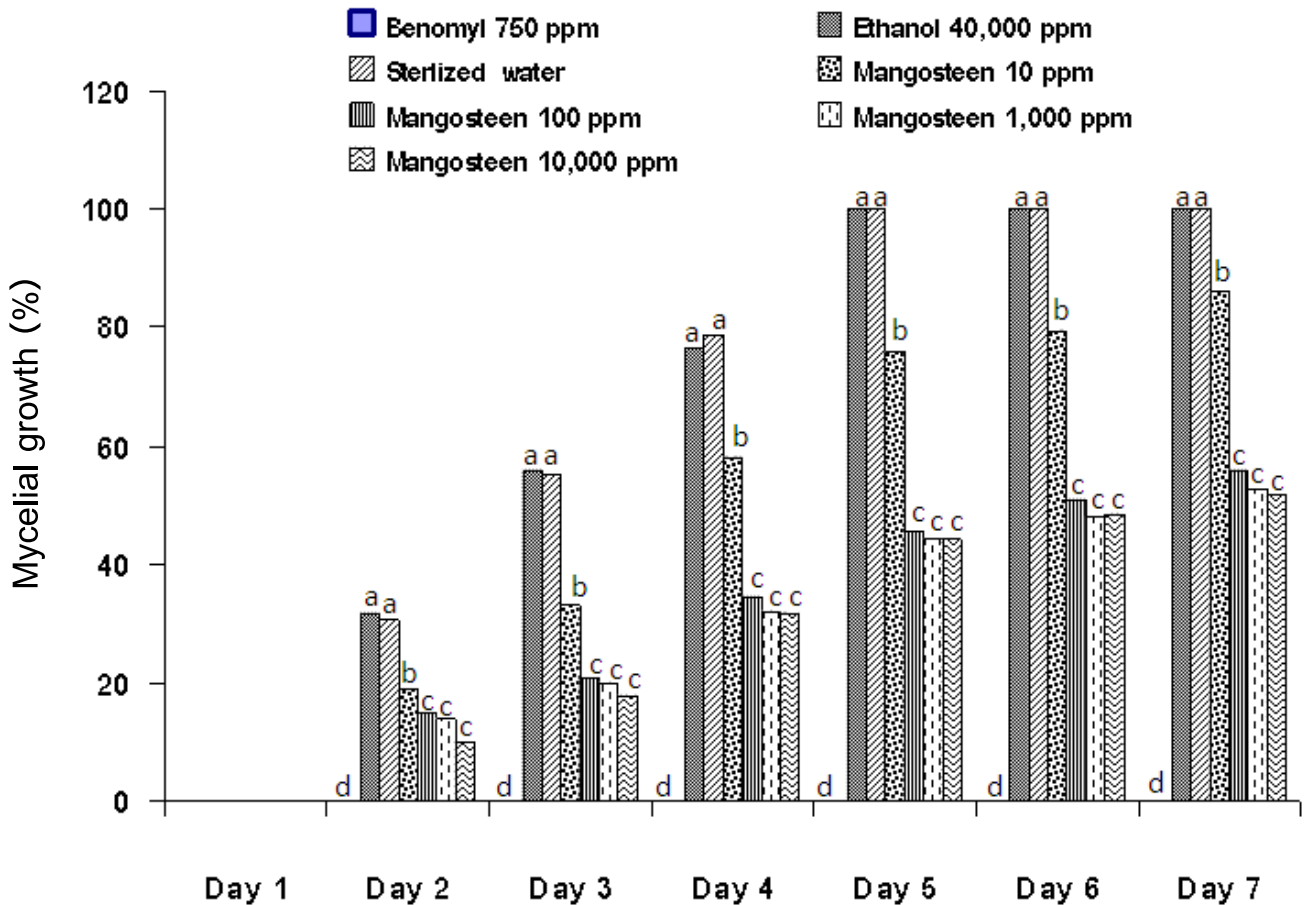
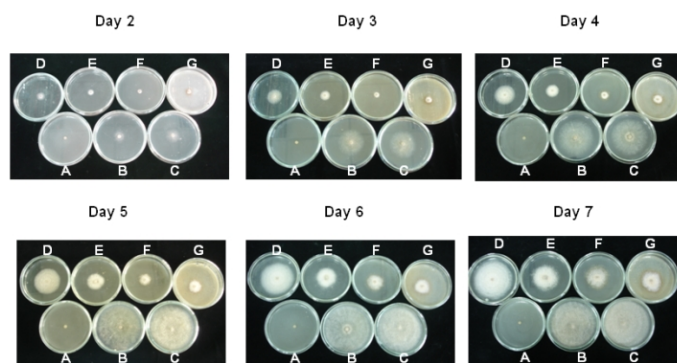


Figure 1 Effect of various concentrations of Mangosteen peel extract on mycelial growth inhibition (%) of *C. gloeosporioides*



A= Benomyl 750 ppm , B=Ethanol 40,000 ppm, C= Sterilized water , D=Mangosteen 10 ppm , E= Mangosteen 100 ppm, F= Mangosteen 1,000 ppm and G= Mangosteen 10,000 ppm

Figure 2 Effect of various concentrations of Mangosteen peel extract on mycelial growth of *C. gloeosporioides*

ส่วนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 100, 1,000 และ 10,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราได้ดีคือที่ความเข้มข้นเท่ากับ 54.01, 54.05 และ 55.14% ตามลำดับ ซึ่งมีการยับยั้งได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ น้ำกลั่น และ เอทานอล มีค่าเท่ากับ 0.0 และ 0.29% ตามลำดับ (Figure 3)

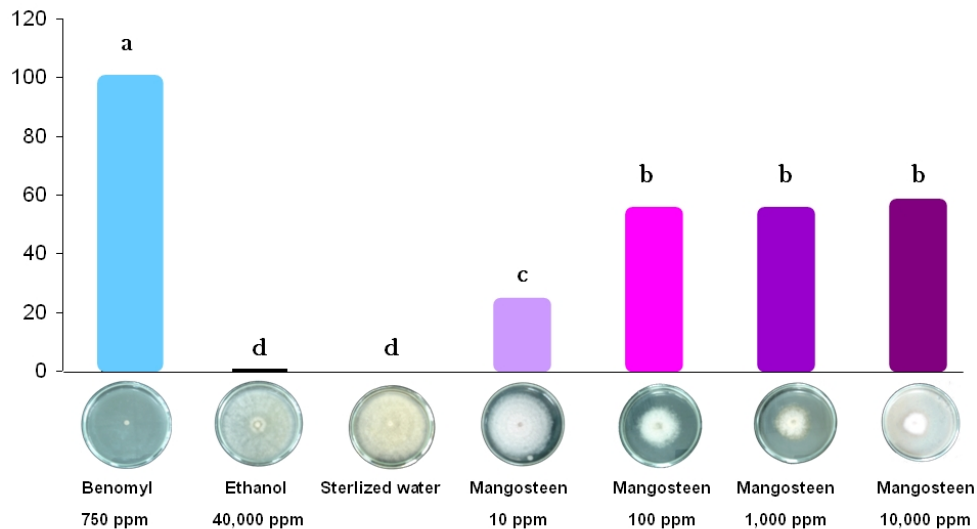


Figure 3 Effect of various concentrations of Mangosteen peel extract on mycelial growth of *C. gloeosporioides*

วิจารณ์และสรุปผล

สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อรา *C.gloeosporioides* ได้มีประสิทธิภาพ คือที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 100, 1,000 และ 10,000 ppm แสดงว่าในสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสารที่ส่งผลต่อการพัฒนาการสร้างส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา โดยส่วนมากในเปลือกมังคุดมีสารประกอบหลักคือ Xanthones (มีมากกว่า 40 %) ซึ่งเป็นโครงสร้างแกนหลักของ Mangostin⁶ มีรายงานกล่าวว่า Xanthones สามารถยับยั้งเชื้อราได้หลายชนิด เช่น *Rhizopus sp.*, *Alternaria solani*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp.* และ *Fusarium roseum* เป็นต้น² เช่นงานวิจัยของ Yenjit *et al.*⁶ ศึกษาการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในผลไม้เขตร้อน นำเปลือกมังคุดมาสกัดด้วย อะซีโตนความเข้มข้น 1,000 ppm แยกสารสกัดทั้งหมด 8 Fraction มาทดสอบความสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* เปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ เมทานอล 2.0% และน้ำกลั่นปลอดเชื้อ พบว่า Fraction ที่ 5 ยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีที่สุดในที่ 43.50% และสอดคล้องกับการทดลองของ สุพัฒน์ และคณะ⁷ ศึกษาการเติมสารสกัดจากผงเปลือกมังคุดในฟิล์มคาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลสเพื่อควบคุมเชื้อแอนแทรกโนส พบว่าการเติมสารสกัดจากผงเปลือกมังคุดที่ระดับความเข้มข้น 25,000 ppm ในฟิล์มคาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส มีประสิทธิภาพในการชะลอการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. สุดคะนึง พุ่มชัย. ผลของไคโตซานต่อการชักนำความต้านทานและการควบคุมโรคแอนแทรกคโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 2546.
2. Pedraza-Chaverri J, Cárdenas-Rodríguez N, Orozco-Ibarra M, Pérez-Rojas JM. Review : Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). Food and Chemical Toxicology. 2008; 46: 3227–3239.
3. Zarena AS, Sankar KU. Xanthenes enriched extracts from mangosteen pericarp obtained by supercritical carbon dioxide process. Separation and Purification Technology. 2011; 80: 172–178.
4. กิตติพันธ์ สมนึก, จักรพงษ์ หรั่งเจริญ และมานพ ชนะพงษ์. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการควบคุมเชื้อ *Aspergillus* spp. ใน: เอกสารการประชุมทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 34. กรุงเทพฯ; มหาวิทยาลัยมหิดล; 2551. หน้า 1-26.
5. ศศิธร วุฒิวณิชย์. ประสิทธิภาพของสารสกัดยับยั้งการเจริญของ *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora* เชื้อสาเหตุโรคน้ำและของผัก. วิทยาสารกำแพงแสน. 2547; 2(2):78-81.
6. Yenjit P, Issarakraisila M, Intana W, Sattasalchai S, Suwanno T, Chantrapromm K. Efficacy of extract substances from the pericarp of *Garcinia mangostana* to control major diseases of tropical fruits in laboratory. Acta Horticulture. 2008;1(1):339-343.
7. สุปัทม์ คำไทย, กิตติกุล อุงคนะตีวัตติ วีรบุรณ คิตกิง. การเติมสารสกัดจากผงเปลือกมังคุดในฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเพื่อควบคุมเชื้อแอนแทรกคโนส. วิทยาศาสตร์เกษตร. 2554; 42 : 1 (พิเศษ) : 583-586.