วารสารเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี | Agriculture and Technology Journal

ปีที่ 5 ฉบับที่ 1 มกราคม – เมษายน 2567 | Vol.5 No.1 January – April 2024

Received: June 14, 2023; Revised: October 19, 2023; Accepted: October 31, 2023

ผลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp.

Effect of hydrogen peroxide on the control of chili anthracnose caused by *Colletotrichum* sp.

ศิริโสภา อินขะ วรรณวงศ์[1*] วิโรจ ชมภู[1] และกมลพร ปานง่อม[2]

Sirisopha Inkha Wannawong[1*], Wirot Chompoo[1] and Kamonporn Panngom[2]

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ จังหวัดแพร่

[1]Department of Crop Production Technology, Maejo University Phrae Campus, Phrae Province

[2]กลุ่มวิทยาศาสตร์พื้นฐาน มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ จังหวัดแพร่

[2]Department of Basic Science, Maejo University Phrae Campus, Phrae Province

**Corresponding Author E-mail Address : kungking_261@hotmail.com*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide: H_2O_2) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum* sp.) ในพริก มี 2 การทดลองโดยทั้ง 2 การทดลองวางแผนแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) การทดลองที่ 1 การบ่มสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 ในสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 10, 20, 40 และ 80 มิลลิโมลาร์ (mM) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนนำมาปลูกเชื้อบนผลพริก การทดลองที่ 2 การปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 บนผลพริก เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วพ่นด้วยสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นบนผลพริก เป็นเวลา 4 วัน ติดต่อกัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อ (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) และไม่ปลูกเชื้อ ผลของ เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและ เปอร์เซ็นต์ดัชนีความรุนแรงของโรคที่บ่มในวันที่ 7 พบว่าสารละลาย H_2O_2 สามารถยับยั้งการเกิดโรคและความรุนแรงของโรค ในการทดลองที่ 1 ได้ดีกว่าการทดลองที่ 2 โดยเฉพาะสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 40 และ 80 mM มีการเกิดโรคเท่ากับ 26.00 และ 16.00 เปอร์เซ็นต์ ดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 13.33 และ 9.25 เปอร์เซ็นต์ และขนาดของแผลเท่ากับ 12.93 และ 11.60 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนการทดลองที่ 2 มี เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีความรุนแรงของโรคบนผลพริกที่สูง ดังนั้นสารละลาย H_2O_2 สามารถประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพริก เพื่อเพิ่มคุณภาพและปริมาณของผลผลิตพริก

คำสำคัญ: ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โรคแอนแทรคโนส *Colletotrichum* sp. พริก

Abstract

The objective of this research is to study the effect of hydrogen peroxide (H_2O_2) solution on controlling anthracnose disease caused by *Colletotrichum* sp. Two experiments were set up, and a completely randomized design (CRD) was used in both studies. Experiment 1 was performed by incubating the fungal spore of isolate no. NMK-MJ101 in H_2O_2 solution at concentrations of 10, 20, 40, and 80 millimolar (mM) for 3 hours before artificially inoculating on chili fruits. Experiment 2 was conducted by artificially inoculating

the fungal spore of isolate no. NMK-MJ01 on chili fruits for 72 hours before spraying the chili fruits with H_2O_2 solutions at the same concentrations as experiment 1 once a day for 4 consecutive days. Distilled water was used as a control in both experiments. The results of disease incidence and disease severity index were collected on day 7 of experiments. The H_2O_2 solution was able to inhibit disease incidence and disease severity in experiment 1 better than experiment 2. In experiment 1, 40 and 80 mM H_2O_2 solutions showed disease incidences of 26.00 and 16.00 percent, respectively, disease severity indices of 13.33 and 9.25 percent respectively, and lesion diameters of 12.93 and 11.60 mm, respectively. In experiment 2, the percentage disease incidence and percentage disease severity were high. Therefore, H_2O_2 solution can be used for controlling fungal anthracnose disease to increase the quality and quantity of chili products.

Keywords: Hydrogen peroxide, Anthracnose disease, Colletotrichum sp., Chili

บทนำ

พริกเป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยพริกเป็นวัตถุดิบสำคัญในอุตสาหกรรมแปรรูป ทั้งอาหาร ยา และเวชสำอาง ในทางสังคมก่อให้เกิดการรวมกลุ่มของเกษตรกร เพื่อประกอบธุรกิจขนาดเล็กและขนาดกลาง เป็นพืชที่คนไทยนิยมบริโภค จากสถานการณ์ปัจจุบันพริกไม่เพียงแต่บริโภคภายในประเทศไทย แต่ยังส่งไปขายต่างประเทศ ได้แก่ สิงคโปร์ มาเลเซีย เม็กซิโก สเปน เนเธอร์แลนด์ และแคนาดา จึงทำให้มีการส่งเสริมการปลูกพริกทั่วทุกภาคของประเทศไทยและตลอดทั้งปี ในปี พ.ศ. 2564 พบว่าพริกมีพื้นที่ปลูกทั้งหมด 133,847 ไร่ โดยแหล่งผลิตพริกที่มีพื้นที่ปลูกมากกว่า 10,000 ไร่ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี นครศรีธรรมราช และพัทลุง ปริมาณผลผลิตเฉลี่ย 3,500 กิโลกรัมต่อไร่ ราคาขายได้ 40 บาทต่อกิโลกรัม (กลุ่มส่งเสริมพืชผักและเห็ด, 2565) สำหรับปัญหาที่พบในการผลิตพริกเกิดจากโรคและแมลง ทำให้เกิดความเสียหายทั้งปริมาณและคุณภาพเป็นมหาศาลในแต่ละฤดูปลูก โดยโรคที่มีการระบาดและเกิดปัญหากับการผลิตพริก ได้แก่ โรคแอนแทรคโนส หรือโรคกุ้งแห้ง ที่ทำให้พริกที่ปลูกในประเทศไทยได้ความเสียหายจากการ ระบาดของโรคแอนแทรคโนสมากถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (Montri et al., 2009) ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* ในประเทศไทยพบเชื้อราสาเหตุในสกุลนี้จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *C. gloeosporioides, C. acutatum*, *C. capsici* และ *C. siamense* ที่สามารถเข้าทำลายทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวพบทั้งพริกผลสีแดงและผลสีเขียว (สวิตา และคณะ, 2560) โดยมีรายงานว่ามีเชื้อโรคชนิดหลักจำนวน 2 ชนิด คือ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ที่ทำความเสียหายให้กับพริกที่ปลูกในประเทศไทยเป็นจำนวนมากที่สุด (Pakdeevaraporn et al., 2005) จึงทำให้เกษตรกรใช้สารเคมีในปริมาณมาก และจากการใช้สารเคมีในการทำการเกษตรในพื้นที่ทำให้เกษตรกรได้รับผลกระทบด้านสุขภาพ เนื่องจากการใช้สารเคมีในการเกษตร ทำให้เกษตรกรเล็งเห็นถึงความสำคัญในการผลิตพืชปลอดสารพิษเพื่อลดปัญหาต้นทุนการผลิตสูงและปัญหาด้านสุขภาพ อีกทั้งจากปัญหาด้านการตลาด ทำให้การจำหน่ายพริก ณ ตลาดไท และตลาดสี่มุมเมือง พ่อค้าไม่รับซื้อเนื่องจากมีปริมาณสารเคมีตกค้างค่อนข้างสูง และเกษตรกรส่วนใหญ่ที่จำหน่ายพริกเข้าสู่โรงงานจำเป็นต้องผลิตพริกคุณภาพ (สำนักงานเกษตรจังหวัดแพร่, 2563)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) มีสูตรโมเลกุลคือ H_2O_2 เป็นสารที่ประกอบด้วยออกซิเจนสองโมเลกุลและเชื่อมกันด้วยพันธะเดี่ยว มีสภาพเป็นของเหลวใส หนืดกว่าน้ำเล็กน้อย มีรสขม ไม่อยู่ตัว เป็นตัวออกซิไดส์ (Oxidizing agent) หรือสารที่เพิ่มจำนวนออกซิเจนได้ ประกอบด้วย Peroxide linkage (-O-O-) โดยปกติหากวางไว้ในที่มีแสงและอุณหภูมิสูงจะช่วยเร่งให้เกิดการสลายตัวได้เร็วขึ้น (ประภัสศร, 2561) มากกว่านี้ H_2O_2 มีฤทธิ์ในการฟอกขาวรวมถึงยับยั้งการเจริญเติบโตและสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อราต่าง ๆ รวมถึงสปอร์ได้ การใช้ H_2O_2 ใช้เวลาไม่นานและจะสลายตัวเหลือแต่น้ำกับโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งจะไม่เหลือสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมจึงไม่มีปัญหาการระคายเคืองและไม่มีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็ง (ศศิลภัส และคณะ, 2557) อีกทั้งยังเป็นสารที่ได้รับรองว่าเป็น Generally Recognized As Safe (GRAS) มีรายงานการใช้สารละลาย H_2O_2 30 มิลลิกรัม/ลิตร ล้างเบบี้สปิแนชทำให้เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* 0157:H7 และ *Listeria monocytogenes* ลดลง 0.6 และ 0.8 log CFU/g ตามลำดับ (Zhou et al., 2023) การแช่เมล็ดไทม์และเมล็ดถั่วปากอ้าในสารละลาย H_2O_2 ก่อนนำไปปลูก พบว่าสามารถควบคุมโรครากเน่าและโรคเหี่ยวของต้นกล้าที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา

Fusarium oxysporum, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina* และ *Rhizoctonia solani* ได้ (Abdel-Monaim, 2013; Ali, 2018) และเมื่อพ่นต้นกล้ามันฝรั่งด้วยสารละลาย H_2O_2 5 mM ทำให้ความรุนแรงของโรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria solani* ของต้นกล้ามันฝรั่งสายพันธุ์ Nicola และ Spunta เท่ากับ 14.00 และ 20.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมของต้นกล้ามันฝรั่งทั้ง 2 สายพันธุ์มีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 42.60 และ 61.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพบว่า H_2O_2 สามารถชักนำให้ต้นกล้ามันฝรั่งต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค (Nassar and Adss, 2016) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพริกที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยทดสอบ 2 การทดลอง เพื่อดูศักยภาพในการนำไปใช้ทดแทนหรือลดการใช้สารเคมีป้องกันโรคแอนแทรคโนสของพริกในระดับแปลงปลูกของเกษตรกร

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การแยกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก และการพิสูจน์โรค

เก็บตัวอย่างพริกที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสจากแปลงปลูกพริกของเกษตรกร อ.หนองม่วงไข่ จ.แพร่ แล้วนำมาแยกเชื้อ *Colletotrichum* sp. ด้วยวิธี Tissue transplanting method บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) แยกเชื้อจนได้เชื้อที่บริสุทธิ์ แล้วนำเชื้อที่แยกได้ไปพิสูจน์ความสามารถในการเกิดโรคบนผลพริกตามวิธีการของ Koch's postulate (Agrios, 2005) โดยในการทดลองครั้งนี้ใช้พริกหนุ่มเขียวพันธุ์หยกสยาม 1059 ในการทดลอง หลังจากระบุชนิดจากลักษณะลักษณะการเจริญของเส้นใยบนอาหาร PDA ลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์ และการสร้าง Acervuli ของเชื้อราบนตัวอย่างพริกที่เป็นโรค ทำการเก็บรักษาเชื้อราบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ตลอดการทดลอง

การศึกษาผลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp.

นำเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่มีอายุ 14 วัน มาเลี้ยงในอาหารเหลว Vogel Media (VM) บนเครื่องเขย่าแบบหมุนวนเป็นเวลา 5 วัน แล้วเก็บสปอร์โดยการกรองสปอร์ด้วยกระดาษกรองแผ่นเยื่อ Merricot จำนวน 2 ชั้น ใส่สปอร์ลงในหลอดเซนติฟิวพลาสติก ขนาด 15 มิลลิลิตร นำสปอร์ที่ได้ไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เทอาหารเหลวทิ้งให้เหลือเพียงตะกอนของสปอร์ แล้วเติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อและนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เทน้ำกลั่นทิ้งให้เหลือเพียงตะกอนของสปอร์ แล้วเติมด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อจำนวนหนึ่ง จากนั้นนับจำนวนสปอร์และเจือจางสปอร์ให้ได้ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อจะได้สารแขวนลอยสปอร์เตรียมโดยใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ การศึกษาผลของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสด้วย 2 การทดลอง ดังนี้ การทดลองที่ 1 บ่มสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร ในสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 4 ระดับคือ 10, 20, 40 และ 80 มิลลิโมลาร์ (mM) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนนำมาปลูกเชื้อโดยวิธีหยดสารแขวนลอยสปอร์ (Drop-inoculation) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนผลพริกหนุ่มเขียวพันธุ์หยกสยาม 1059 โดยพริกที่ใช้ทดสอบนี้เก็บเกี่ยวมาจากแปลงปลูกพริกของเกษตรกร อ.หนองม่วงไข่ จ.แพร่ ไม่เกิน 24 ชั่วโมง มีการคัดขนาดและสีให้มีความสม่ำเสมอกัน และต้องปราศจากการเข้าทำลายของโรคและแมลง ล้างผลพริกด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 ครั้ง หลังจากนั้นล้างสารละลายโซเดียมคลอไรด์ออกจากผลพริกด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อจำนวน 3 ครั้ง และทำแผลบนผลพริกเท่ากันทุกผลตรงกึ่งกลางของผลด้วยเข็มหมุดจำนวน 9 เล่ม ที่มีความลึก 2 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ทุกครั้ง แล้วบ่มผลพริกที่ผ่านการปลูกเชื้อไว้ในกล่องพลาสติก ที่อุณหภูมิ 28±1 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 72±3 เปอร์เซ็นต์ โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อ (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) เพื่อยืนยันการปลูกเชื้อจะส่งผลเมื่อไม่ใช้สารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และไม่ปลูกเชื้อ เพื่อยืนยันการปลูกเชื้อว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อที่ได้ทำการปลูกเชื้อ จากการไม่เกิดโรค

การทดลองที่ 2 ปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยวิธีหยดสารแขวนลอยสปอร์ (Drop-inoculation) ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนผลพริกหนุ่มเขียวพันธุ์หยกสยาม 1059 โดยสารแขวนลอยสปอร์และพริกที่ใช้ทดสอบเตรียมเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แล้วบ่มผลพริกที่ผ่านการปลูกเชื้อไว้ในกล่องพลาสติก ที่อุณหภูมิ 28±1 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 72±3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และพ่นสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 10, 20, 40 และ 80 mM บนผลพริก เป็นเวลา 4 วัน ติดต่อกัน วันละ 1 ครั้ง โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อ

(น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) และไม่ปลูกเชื้อ โดยทั้ง 2 การทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) จำนวน 6 สิ่งทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ผล บันทึกผลการทดลองเมื่อบ่มผลพริกเป็นเวลา 3, 5 และ 7 วัน ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (เปอร์เซ็นต์ Disease Incidence: DI) โดยการนับจำนวนผลพริกที่เกิดโรค และประเมินความรุนแรงของโรคโดยใช้เกณฑ์คะแนนความรุนแรงตามวิธีการของ Montri et al. (2009) แบ่งระดับการเป็นโรคออกเป็น 6 ระดับ ดังตารางที่ 1 แล้วนำค่าคะแนนการเป็นโรคของผลพริก มาหาค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความรุนแรงของโรค (เปอร์เซ็นต์Disease Severity Index: DSI) (1) และวัดขนาดของแผลหน่วยเป็นมิลลิเมตร มาหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (เปอร์เซ็นต์Inhibition) (2)

สูตรคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease Severity Index: DSI) (McMaugh, 2008)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ Disease Severity Index (DSI)} = \frac{\Sigma(n \times v)}{N} \times \frac{100}{M} \quad (1)$$

n = จำนวนผลที่ประเมินค่าคะแนนการเป็นโรคที่มีค่าคะแนน v
v = ค่าคะแนนการเป็นโรคของผลที่ถูกประเมินการเป็นโรค (0 - 9)
N = จำนวนผลทั้งหมด
M = ค่าคะแนนการเป็นโรคสูงสุด

$$\text{เปอร์เซ็นต์ Inhibition} = \frac{C-T}{C} \times 100 \quad (2)$$

C = ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลบนผลพริกในชุดควบคุมปลูกเชื้อ (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) หน่วยเป็นมิลลิเมตร
T = ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลบนผลพริกในชุดที่ใช้สารละลาย H_2O_2 ความเข้มข้นต่าง ๆ หน่วยเป็นมิลลิเมตร

นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยหาค่าเฉลี่ย ค่าแสดงความผิดพลาด; Mean±S.D. และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

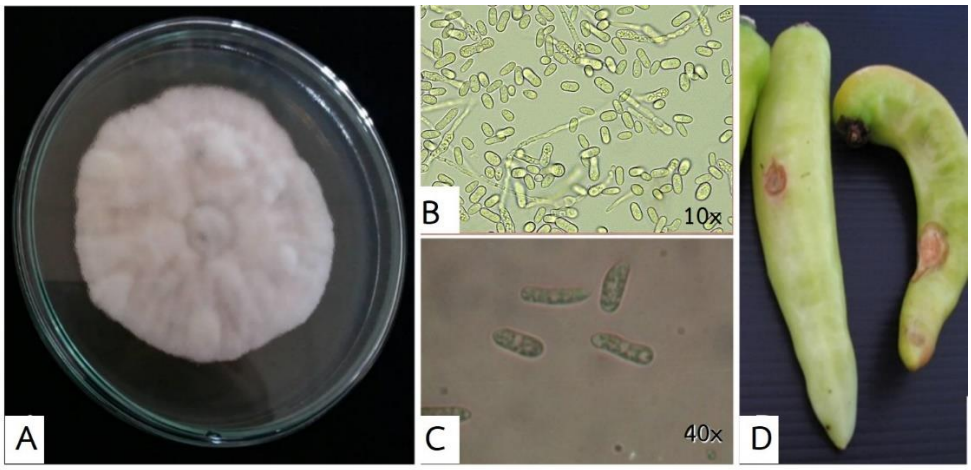
ตารางที่ 1 คะแนนการเป็นโรคแอนแทรคโนสของผลพริก และระดับความต้านทานของโรค (Montri et al., 2009)

Score	Resistance level	Symptom details
0	HR, Highly Resistant	No infection
1	R, Resistant	1-2 เปอร์เซ็นต์ of the fruit area shows necrotic lesion or a larger water-soaked lesion surrounding the infection site
3	MR, Moderately Resistant	>2-5 เปอร์เซ็นต์ of the fruit area shows necrotic lesion, acervuli may be present, or water-soaked lesion up to 5 เปอร์เซ็นต์ of the fruit surface
5	MR, Moderately Susceptible	>5-15 เปอร์เซ็นต์ of the fruit area shows necrotic lesion, acervuli present, or water-soaked lesion up to 25 เปอร์เซ็นต์ of the fruit surface
7	S, Susceptible	>15-25 เปอร์เซ็นต์ of the fruit area shows necrotic lesion with acervuli
9	HS, Highly Susceptible	>25 เปอร์เซ็นต์ of the fruit area shows necrotic lesion often encircling the fruit; abundant acervuli

ผลการวิจัย

การแยกเชื้อและการพิสูจน์โรค

จากการนำผลพริกที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส ที่มีลักษณะปรากฏแผลเป็นวงรีหรือวงกลมสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ แผลยุบตัวลงไปในเนื้อเยื่อพืช จากแปลงปลูกพริกของเกษตรกร อ.หนองม่วงไข่ จ.แพร่ มาทำการแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี Tissue transplanting method ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสามารถเจริญบนอาหาร PDA ได้ดี มีลักษณะการเจริญของเส้นใยในช่วงแรกเป็นสีขาว เมื่อเวลาผ่านไปจะเปลี่ยนเป็นสีขาวอมเทา ลักษณะของเส้นใยค่อนข้างหยาบ พบการสร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม (Spore mass) บนโคโลนี (รูปที่ 1A) เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10x และ 40x พบลักษณะของสปอร์รูปร่างทรงกระบอกหัวท้ายมน (Cylindrical) เป็นลักษณะเซลล์เดียว ไม่มีสี (Hyaline) (รูปที่ 1B และ 1C) และเมื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริกหนุ่มเขียวพันธุ์หยกสยาม 1059 โดยวิธีหยดสารแขวนลอยสปอร์ (Drop-inoculation) ลงบนผลพริก พบว่า ลักษณะอาการของผลพริกที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ในระยะเริ่มแรกจะแสดงอาการเกิดจุดฉ่ำน้ำขึ้นในบริเวณที่ทำการปลูกเชื้อรา โดยที่ผิวของผลพริกจะเกิดลักษณะเป็นรอยบุ๋มเล็กน้อย และบริเวณอาการฉ่ำน้ำเกิดการขยายตัวเป็นรูปวงกลมหรือวงรี นอกจากนี้ยังเกิดลักษณะเป็นแผลกลมรีที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ประมาณ 1-2 เซนติเมตร เนื้อเยื่อของผลพริกในบริเวณแผลเกิดการยุบตัวลงเป็นแอ่ง เมื่อเริ่มเกิดใหม่ ๆ แผลจะมีลักษณะเป็นสีเหลืองส้ม และมี acervuli ที่มีลักษณะเป็นสีเหลืองส้มเรียงซ้อนกันเป็นวง ๆ อยู่ในบริเวณแผลที่เกิดขึ้นบนผลพริก และแผลมีลักษณะค่อนข้างแฉะ หลังจากนั้นแผลจะกลายเป็นสีน้ำตาลดำ (รูปที่ 1D) ซึ่งตรงกับลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสพริกที่เก็บมาจากแปลงเกษตรกร



รูปที่ 1 โคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 ที่แยกจากผลพริกที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสจาก อ.หนองม่วงไข่ จ.แพร่ เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน (A) ลักษณะสปอร์ของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10x และ 40x (B และ C) ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสเมื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริกหนุ่มเขียวพันธุ์หยกสยาม 1059 (D)

ผลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp.

การทดลองที่ 1 เมื่อปลูกเชื้อในผลพริกเป็นเวลา 7 วัน พบว่า สปอร์แขวนลอยที่บ่มในสารละลาย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้มากขึ้นตามลำดับ โดยสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 80 mM สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อโรคได้ดีที่สุด เนื่องจากมี เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนผลพริกเท่ากับ 16.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 40 mM มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 26.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 10, 20 mM และชุดควบคุมปลูกเชื้อ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมากที่สุดเท่ากับ 100.00, 100.00 และ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 0.00 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของดัชนีความรุนแรงของโรคพบว่า ผลพริกที่ผ่านการปลูกเชื้อราที่บ่มสปอร์ในสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 80 และ 40 mM มีดัชนีความรุนแรงของโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 9.25 และ 13.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่

ชุดควบคุมปลูกเชื้อที่บ่มสปอร์ในน้ำกลั่น สารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 10 และ 20 mM มีดัชนีความรุนแรงของโรคมากที่สุดเท่ากับ 78.60, 77.03 และ 74.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2, รูปที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้สารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 80 และ 40 mM มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 6.48 และ 5.97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

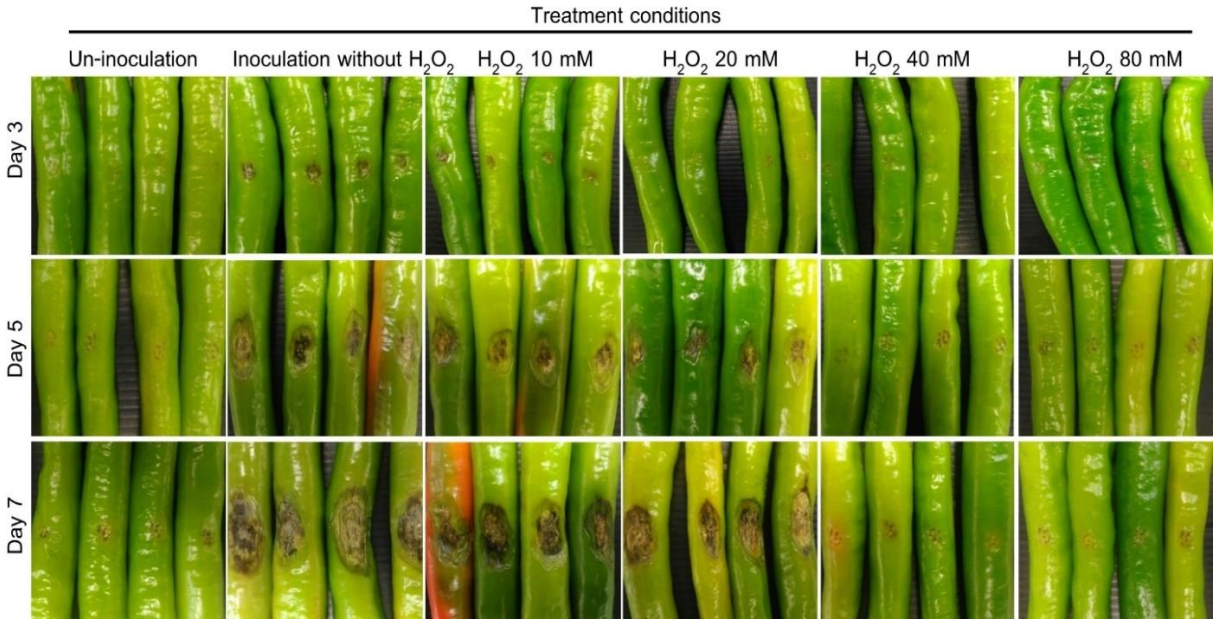
การทดลองที่ 2 หลังจากการปลูกเชื้อและบ่มผลพริกเป็นเวลา 7 วัน ทุกชุดการทดลองมี เปอร์เซ็นต์การการเกิดโรคทั้งหมด 100 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังพบว่า ชุดควบคุมปลูกเชื้อ (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) และสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 40 mM มีดัชนีความรุนแรงของโรคมากที่สุดเท่ากับ 80.73, 77.77, 77.77 และ 77.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 80 mM ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 75.92 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3, รูปที่ 3) ส่วนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4) ในขณะที่ชุดควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อไม่มีการเกิดโรค

ตารางที่ 2 การเกิดโรค (เปอร์เซ็นต์) และดัชนีความรุนแรงของโรค (เปอร์เซ็นต์) บนผลพริกหนุ่มเขียวพันธุ์หยกสยาม 1059 เมื่อบ่มสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ในสารละลาย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้น 10, 20, 40 และ 80 มิลลิโมลาร์ (mM) โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อ (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) และไม่ปลูกเชื้อ แล้วปลูกเชื้อในผลพริกเป็นเวลา 7 วัน

Treatments	Disease Incidence (เปอร์เซ็นต์)			Disease Severity Index (เปอร์เซ็นต์)		
	Day 3	Day 5	Day 7	Day 3	Day 5	Day 7
Un-inoculation	0.00^{c}±0.00	0.00^{c}±0.00	0.00^{d}±0.00	0.00^{c}±0.00	0.00^{c}±0.00	0.00^{c}±0.00
Inoculation without H_2O_2	60.00^{a}±10.00	100.00^{a}±0.00	100.00^{a}±0.00	20.00^{a}±2.72	52.93^{a}±0.40	78.60^{a}±1.17
Inoculation + H_2O_2 10 mM	36.66^{b}±5.77	100.00^{a}±0.00	100.00^{a}±0.00	8.89^{b}±1.57	52.42^{a}±1.28	77.03^{a}±1.05
Inoculation + H_2O_2 20 mM	30.00^{b}±10.00	100.00^{a}±0.00	100.00^{a}±0.00	9.25^{b}±2.92	50.94^{a}±0.23	74.73^{a}±2.75
Inoculation + H_2O_2 40 mM	0.00^{c}±0.00	13.33^{b}±5.77	26.00^{b}±5.77	0.00^{c}±0.00	4.44^{b}±1.57	13.33^{b}±2.40
Inoculation + H_2O_2 80 mM	0.00^{c}±0.00	6.66^{bc}±5.77	16.00^{c}±5.77	0.00^{c}±0.00	2.96^{b}±2.28	9.25^{b}±2.62
F-test	*	*	*	*	*	*
C.V. (เปอร์เซ็นต์)	29.53	6.25	5.82	33.75	5.65	5.64

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±S.D. (n=30)

$^{a-d}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \geq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



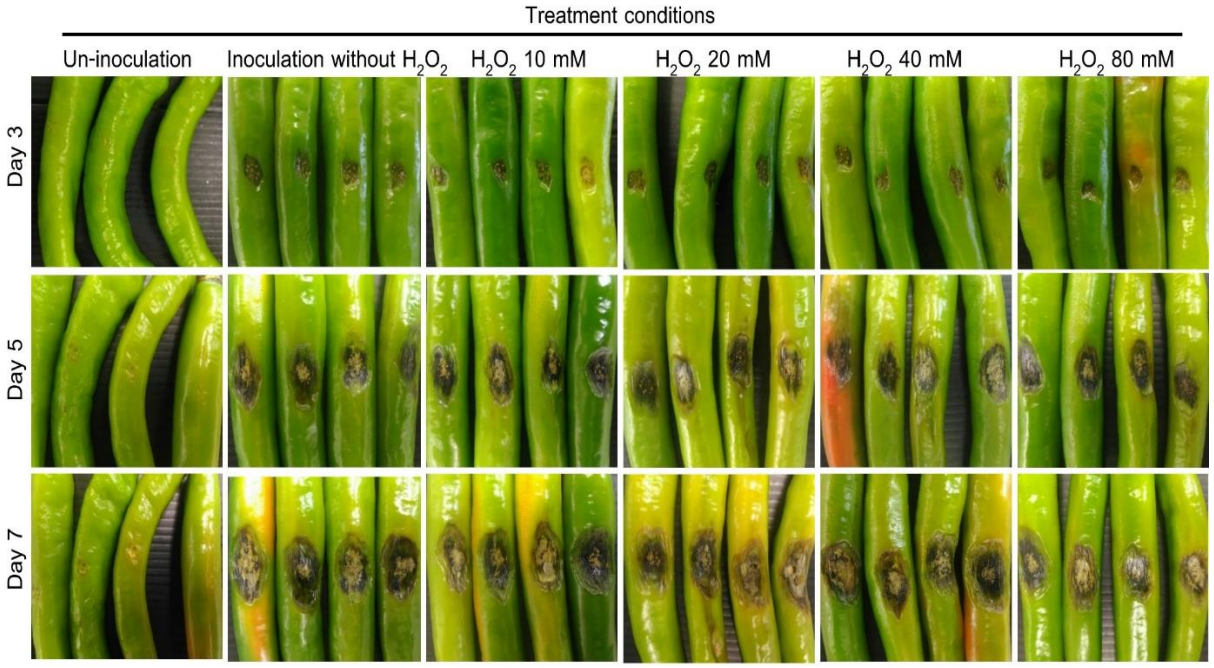
รูปที่ 2 การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกหนุ่มเขียวพันธุ์หยกสยาม 1059 เมื่อบ่มสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ในสารละลาย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้น 10, 20, 40 และ 80 มิลลิโมลาร์ (mM) โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อ (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) และไม่ปลูกเชื้อ แล้วปลูกเชื้อในผลพริกเป็นเวลา 7 วัน

ตารางที่ 3 การเกิดโรค (เปอร์เซ็นต์) และดัชนีความรุนแรงของโรค (เปอร์เซ็นต์) บนผลพริกหนุ่มเขียวพันธุ์หยกสยาม 1059 เมื่อปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 ลงบนผลพริกเป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วพ่นผลพริกที่ผ่านการปลูกเชื้อด้วยสารละลาย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้น 10, 20, 40 และ 80 mM เป็นเวลา 4 วัน ติดต่อกัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อ (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) และไม่ปลูกเชื้อ และบ่มผลพริกเป็นเวลา 7 วัน

Treatments	Disease incidence (%)			Disease severity index (%)		
	Day 3	Day 5	Day 7	Day 3	Day 5	Day 7
Uninoculation	0.00^{b}±0.00	0.00^{b}±0.00	0.00^{b}±0.00	0.00^{b}±0.00	0.00^{c}±0.00	0.00^{c}±0.00
Inoculation without H_2O_2	94.00^{a}±9.81	100.00^{a}±0.00	100.00^{a}±0.00	51.23^{a}±3.81	65.18^{a}±3.77	80.73^{a}±2.10
Inoculation + H_2O_2 10 mM	100.00^{a}±0.00	100.00^{a}±0.00	100.00^{a}±0.00	54.31^{a}±1.74	61.72^{ab}±1.74	77.77^{ab}±0.00
Inoculation + H_2O_2 20 mM	94.00^{a}±9.81	100.00^{a}±0.00	100.00^{a}±0.00	47.52^{a}±6.11	59.26^{ab}±0.00	77.77^{ab}±3.03
Inoculation + H_2O_2 40 mM	94.00^{a}±9.81	100.00^{a}±0.00	100.00^{a}±0.00	48.76^{a}±4.37	58.02^{b}±3.49	77.77^{ab}±0.00
Inoculation + H_2O_2 80 mM	94.00^{a}±9.81	100.00^{a}±0.00	100.00^{a}±0.00	47.52^{a} ±3.15	58.51^{b}±4.19	75.92^{b}±2.62
F-test	*	*	*	*	*	*
C.V. (%)	10.88	0.00	0.00	11.02	6.80	3.47

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±S.D. (n=30)

$^{a-c}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \geq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



รูปที่ 3 การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกหนุ่มเขียวพันธุ์หยกสยาม 1059 เมื่อปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 ลงบนผลพริกเป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วพ่นผลพริกที่ผ่านการปลูกเชื้อด้วยสารละลาย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้น 10, 20, 40 และ 80 mM เป็นเวลา 4 วัน ติดต่อกัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อ (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) และไม่ปลูกเชื้อ และบ่มผลพริกเป็นเวลา 7 วัน

ตารางที่ 4 การยับยั้ง (เปอร์เซ็นต์) การเกิดแผลบนผลพริกหนุ่มเขียวพันธุ์หยกสยาม 1059 ของการบ่มสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 ในสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 10, 20, 40 และ 80 mM เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนนำมาปลูกเชื้อบนผลพริก (การทดลองที่ 1) และการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 บนผลพริก เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วพ่นด้วยสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นบนผลพริก เป็นเวลา 4 วัน ติดต่อกัน (การทดลองที่ 2) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อ (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) เมื่อบ่มผลพริกเป็นเวลา 7 วัน

Treatments	Inhibition (%)	
	Experiment 1	Experiment 2
Inoculation without H_2O_2	0.71^{b}±0.00	0.71^{b}±0.00
Inoculation+ H_2O_2 10 mM	2.37^{b}±1.03	2.89^{a}±1.41
Inoculation+ H_2O_2 20 mM	2.10^{b}±1.84	2.97^{a}±1.16
Inoculation+ H_2O_2 40 mM	5.97^{a}±0.59	3.48^{a}±0.92
Inoculation+ H_2O_2 80 mM	6.48^{a}±0.72	4.40^{a}±0.50
F-test	*	*
C.V. (%)	29.20	32.51

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±S.D. (n = 30) เนื่องจากข้อมูลเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไม่ได้เป็นแบบ Normal distribution ด้วยเหตุนี้จึงได้แปลงข้อมูล (Data transformation) โดยวิธี Square root ก่อนนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance)

$^{a-b}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \geq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

การอภิปรายผล

จากการแยกและระบุเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริกที่มีการระบาดในพื้นที่ อ.หนองม่วงไข่ จ.แพร่ เชื้อราที่แยกได้ คือ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 มีลักษณะสัณฐานวิทยาที่ตรงกับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. (Sutton, 1992) สอดคล้องกับ ปิลันธนา และชนากานต์ (2559) รายงานการแยกเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสที่มีการระบาดในพื้นที่ อ.หนองม่วงไข่ จ. แพร่นั้น เป็นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ซึ่งมีลักษณะสปอร์เซลล์เดียว ใส ไม่มีสี รูปร่างทรงกระบอกหัวท้ายมน การเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อสาเหตุในระยะแรกสร้างเส้นใยสีขาว จากนั้นค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเทา และมีการเจริญเป็นวงซ้อนกันและสร้าง Sclerotia ฝังตัวอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA การศึกษาเปรียบเทียบผลของ H_2O_2 ในการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนสในพริกด้วย 2 การทดลอง ให้ผลการทดลองที่มีความแตกต่างกันนั้น โดยการบ่มสปอร์แขวนลอยในสารละลาย H_2O_2 มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคและความรุนแรงของโรค โดยสปอร์แขวนลอยที่บ่มด้วยสารละลาย H_2O_2 ก่อนการนำไปปลูกเชื้อบนผลพริกนั้นถูกทำลายจนทำให้โครงสร้างภายในของสปอร์เกิดความเสียหายทำให้เชื้อราตายหรือหมดความสามารถในการก่อโรคบนผลพริกมีรายงานว่า H_2O_2 มีผลกับเชื้อราได้โดยจะทำให้เกิด Oxidizing effect ภายในเซลล์ จะไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ผ่านกระบวนการ Lipid oxidation และไปทำลายโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีนภายในเซลล์ (Gálvez-Marroquín et al., 2022; Zhou et al., 2023) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Eloy et al. (2015) พบว่า สาร H_2O_2 ปริมาณมากจะเข้าทำลายเซลล์ของเชื้อราเกิดปฏิกิริยา การย่อยไขมันในบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ มากกว่านั้นปริมาณของสาร H_2O_2 จากภายนอกเซลล์ (Exogenous H_2O_2) จะทำให้เชื้อราเกิดภาวะเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (Oxidative stress) ที่ส่งผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์และโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลง (Angelova et al., 2005) ขณะที่สาร H_2O ปริมาณน้อยจะทำให้เชื้อราเกิดการเจริญเติบโตและส่งเสริมให้เชื้อราก่อโรคในพืชได้ อย่างไรก็ตามนอกจากความแตกต่างของปริมาณของสาร H_2O_2 มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราแล้วยังขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อราด้วย (Ivanova et al., 2005) ที่โดยทั่วไปแล้วกลไกการก่อโรคแอนแทรคโนสของเชื้อราสกุล *Colletotrichum* นั้นมี 2 ระยะ ระยะ 1 Biotrophic phase เส้นใยปฐมภูมิจะยึดเกาะกับผิวผล และสปอร์ของเชื้อราจะเกิดการงอก (Germ tube) แทงผ่านชั้น Epidermal cell ของพืช ผ่านโครงสร้าง Appressorium ที่สามารถดันส่วนปลายที่งอกแทรกเข้าไปในเซลล์พืช โดยเชื้อราจะหลั่งโปรตีนขนาดเล็กและดูดซับสารทุติยภูมิจากพืช ระยะ 2 Necrotrophic phase เชื้อราจะสร้างเส้นใยทุติยภูมิแตกกิ่งก้านผ่านเนื้อเยื่อพืช และปล่อยเอนไซม์ที่ทำให้เซลล์พืชเสื่อมสภาพ และลดการตอบสนองต่อการป้องกันตนเองของพืช ทำให้เนื้อเยื่อตายเกิดลักษณะอาการของโรค โดยวงจรทั้ง 2 ระยะ จะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ใช้ระยะเวลาระหว่าง 24-72 ชั่วโมง (Eloy et al., 2015; Saxena et al., 2016; Yeimmy et al., 2023) Pring et al. (1995) รายงานว่า เชื้อรา *C. capsici* สามารถแทงผ่านชั้น Cuticle ของ Cowpea ในเวลา 24 ชั่วโมง หลังการปลูกเชื้อ โดยพบการสลายของ Cuticle และเอนไซม์ที่ใช้ในการสลาย ซึ่งในช่วงนี้พืชยังไม่แสดงอาการของโรค Gálvez-Marroquín et al. (2022) รายงานโรคแอนแทรคโนสมะม่วงพบว่า สารละลาย H_2O_2 0.16 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และสารละลาย H_2O_2 ที่ยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. 50 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์ (CE_{50} และ CE_{95}) เท่ากับ 0.10 และ 0.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ Moreno-Hernández et al. (2022) รายงานว่า สารละลาย H_2O_2 1.50 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. asianum* โดยทำให้เส้นใยและสปอร์ของเชื้อราเสียหาย ในขณะที่การทดลองปลูกเชื้อราก่อโรคบนผลพริกก่อน แล้วพ่นด้วยสารละลาย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ นั้น ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคน้อยกว่าการทดลองข้างต้น อาจเนื่องจากว่าเชื้อรามีความสามารถในการเจริญเติบโตเข้าไปในเนื้อเยื่อของผลพริกแล้ว โดย Eloy et al. (2015) กล่าวว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถงอกและสร้าง Germ tube และ Appressorium ได้ตั้งแต่การบ่มสปอร์เชื้อรากับพืชในชั่วโมงที่ 12 และสามารถแทรกเข้าไปในเซลล์พืชได้ในชั่วโมงที่ 24 และเชื้อราเกิดการสร้าง Acervuli ในพืชได้ในชั่วโมงที่ 48 ซึ่งทำให้เกิดการก่อโรคและความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นในพืช ถึงแม้ว่าพ่นด้วยสารละลาย H_2O_2 เป็นเวลา 4 วัน ติดต่อกัน หรืออาจเป็นไปได้ว่าสารละลาย H_2O_2 ซึ่งเป็นสารเคมีที่สามารถสลายตัวกลายเป็นน้ำและปลดปล่อยออกซิเจนออกมาได้ง่าย เมื่อมีแสงและอุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (ประภัสศร, 2561) ดังนั้นการพ่นด้วยสารละลาย H_2O_2 หลังจากที่เชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 เข้าทำลายพริกแล้ว คุณสมบัติในการสลายตัวของสารดังกล่าว อาจทำให้สภาพแวดล้อมบริเวณที่พ่นสารเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรค ทำให้หลังจากพบอาการของโรคไม่สามารถควบคุมหรือลดความรุนแรงของโรคได้

บทสรุป

จากการแยกและระบุชนิดของเชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนสพริกจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ อ.หนองม่วงไข่ จ.แพร่ พบว่าเป็นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 และเมื่อศึกษาวิธีการควบคุมโรคแอนแทรคโนสด้วยสารละลาย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า การบ่มสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 ในสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 40 และ 80 mM เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนปลูกเชื้อลงบนผลพริก ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีความรุนแรงของโรคน้อยที่สุด วิธีนี้เหมาะสำหรับนำไปใช้ในการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว โดยการแช่ผลพริกที่เก็บเกี่ยวมาแล้วในสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 40 mM เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ขณะที่การปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท NMK-MJ01 ลงบนผลพริกก่อนเป็นเวลา 72 ชั่วโมง และตามด้วยการพ่นผลพริกด้วยสารละลาย H_2O_2 เป็นเวลา 4 วัน ติดกัน หลังจากปลูกเชื้อพบว่า สารละลาย H_2O_2 ทุกความเข้มข้นมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ไม่แตกต่างกันกับชุดควบคุมปลูกเชื้อ ส่วนสารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 80 mM มีเปอร์เซ็นต์ดัชนีความรุนแรงของโรคน้อยกว่าชุดควบคุมปลูกเชื้อ ซึ่งจากการสังเกตในระหว่างการเก็บข้อมูลการใช้สารละลาย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 80 mM ไม่พบความเสียหายของผลพริก

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และมหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำหรับการสนับสนุนทุนวิจัยภายใต้โครงการ บทบาทของสารประกอบที่ว่องไวปฏิกิริยาต่อการเจริญและเปลี่ยนแปลงของเซลล์เชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนสในพริก (รหัสทุนวิจัย มพ.1-60-060) และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ ที่กรุณาให้การสนับสนุนอุปกรณ์เครื่องมือ ห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ ตลอดจนสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มส่งเสริมพืชผักและเห็ด. (2565). พริก. ค้นเมื่อ 8 มีนาคม 2566. http://www.agriman.doae.go.th/home/news/2565/22chili.pdf

ประภัสศร ศิลปะศาสตร์ดำรง. (2561). ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเครื่องสำอาง (สารเคมีใกล้ตัวกว่าที่คิด). ค้นเมื่อ 8 มีนาคม 2566. http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_knowledge/BIO_4_2561_Hydrogen_peroxide.pdf

ปิลันธนา ฐาปนพงษ์วรกุล และชนากานต์ รัตนศักดิ์ชัยชาญ. (2559). ประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพจากเศษเหลือพริกต่อการยับยั้งชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในสภาพห้องปฏิบัติการ. วารสารเกษตร. 32(1): 61-72.

ศศิลภัส เพชรชู, เฉลิมชัย ชัยกิตติภรณ์, วิชัย พฤกษ์ธาราธิกุล, พิพัฒน์ ลักษมีจรัลกุล, วชิระ สิงหะคเชนทร์ และธีระ กลลดาเกรียงไกรคเชนทร์. (2557). การศึกษาประสิทธิผลไอของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์หลังจากการอบฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศของห้องผ่าตัด. ใน การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 15 “15th Khon Kaen University Graduate Research Conference: 50 Years of Social Devotion Khon Kaen University” 28 มีนาคม 2557. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. 1399-1407.

สวิตา สุวรรณรัตน์, ปัฐวิภา สงกุมาร, Siegrid Steinkellner และสมศิริ แสงโชติ. (2560). การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ cutinase และ endopolygalacturonase ของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ในช่วงการเข้าทำลายบนผลพริก. วารสารเกษตร. 33(3): 357-366.

สำนักงานเกษตรจังหวัดแพร่. (2563). การผลิตพริกปลอดภัย. ค้นเมื่อ 20 มีนาคม 2566. http://alc.doae.go.th/wp-content/uploads/2020/04/แพร่_ถอดบทเรียน63.pdf.

Abdel-Monaim M.F. (2013). Improvement of biocontrol of damping-off and root rot/wilt of faba bean by salicylic acid and hydrogen peroxide. Mycobiology. 41(1): 47–55.

Agrios G.N. (2005). Plant Pathology. 5th ed. Academic Press. New York. 592 p.

Ali A.A.M. (2018). Role of hydrogen peroxide in management of root rot and wilt disease of thyme plant. Journal of Phytopathology and Pest Management. 5(3): 1-13.

Angelova M.B., Pashova S.B., Spasova B., Vassilev S. and Slokoska L.S. (2005). Oxidative stress response of filamentous fungi induced by hydrogen peroxide and paraquat. Mycological Research.109(2): 150-158.

Eloy Y.R.G., Vasconcelos I.M., Barreto A.L.H., Freire-Filho F.R. and Oliveira J.T.A. (2015). H_2O_2 plays an Important role in the lifestyle of *Colletotrichum gloeosporioides* during interaction with cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. Fungal Biology. 119(8): 747-757.

Gálvez-Marroquín L.A., Martínez-Bolaños M., Cruz-Chávez M.A., Ariza-Flores R., Cruz-López J.A., Magaña-Lira N., Cruz de la Cruz L.L. and Ariza-Hernández F.J. (2022). Inhibition of mycelial growth and conidium germination of *Colletotrichum* sp. for organic and inorganic products. Agro Productividad. 5(2): 25-32.

Ivanova A.E., Aslanidi K.B., Karpenko Y.V. and Belozerskaya T.A. (2005). The effect of hydrogen peroxide on the growth of microscopic mycelial fungi isolated from habitats with different levels of radioactive contamination. Microbiology. 74(6): 655–663.

McMaugh T. (2008). Guidelines for Surveillance for Plant Pests in Asia and the Pacific. ACIAR monograph No. 119c. Australia. 199 p.

Montri P., Taylor P.W.J. and Mongkolporn O. (2009). Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the causal agent of chili anthracnose, in Thailand. Plant Disease. 93(1):17-20.

Moreno-Hernández C.L., Zambrano-Zaragoza M.L., Velázquez-Estrada R.M., Sánchez-Burgos J.A. and Gutiérrez-Martinez P. (2022). Identification of a *Colletotrichum* species from mango fruit and its *in vitro* control by GRAS compounds. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 21(3): Bio2777, doi: 10.24275/rmiq/Bio2777.

Nassar A.M.K. and Adss I.A.A. (2016). 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid, abscisic acid, and hydrogen peroxide induced resistance-related components against potato early blight (*Alternaria solani*, Sorauer). Annals of Agricultural Science. 61(1): 15-23.

Pakdeevaraporn P., Wasee S., Taylor P.W.J. and Mongkolporn O. (2005). Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capcisi* in *Capsicum*. Plant Breeding. 124(2): 206-208.

Pring R.J., Nash C., Zakaria M. and Bailey J.A. (1995). Infection process and host range of *Colletotrichum capsici*. Physiological and Molecular Plant Pathology. 46(2): 137-152.

Saxena A., Raghuwanshi R., Gupta V.K. and Singh H.B. (2016). Chilli anthracnose: The epidemiology and management. Frontiers in Microbiology. 7: 1527, doi: 10.3389/fmicb.2016.01527.

Sutton B.C. (1992). The genus *Glomorella* and its anamorph *Colletotrichum*. In Bailey J.A. and Jeger M.J. Editors. *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. CAB International, Wallingford. 1-26.

Yeimmy P.R., Chiara R., Carlos D.G.T. and Clemencia C.L. (2023). Green management of postharvest anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Journal of fungi. 9: 623, doi: 10.3390/jof9060623.

Zhou B., Luo Y., Nou X., Mwangi E., Poverenov E., Rodov V., Demokritou P. and Fonseca J.M. (2023). Effects of a novel combination of gallic acid, hydrogen peroxide and lactic acid on pathogen inactivation and shelf-life of baby spinach. Food Control. 143: 109284, doi: 10.1016/j.foodcont.2022.109284.