

ประสิทธิภาพสารเคมีอนุภาคนาโน CuO และ ZnO ในการยับยั้งการเจริญเส้นใย
เชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว
Efficacy of CuO and ZnO Nanoparticles on Growth Inhibition of
Pyricularia oryzae Causing Rice Blast Disease

ณัฐภพ พันธ์วรสุนทร¹ และ ปัฐวิภา สงกุมาร²
Phowarasoonorn, N.¹ and Songkumarn, P.²

Abstract

CuO and ZnO in nanoparticle and bulk forms were evaluated for the fungal growth inhibitory effect against two isolates of *Pyricularia oryzae* (M.001 and M.002) with poisoned food technique at the concentrations of 500, 1,000 and 1,500 ppm. It was found that CuO and ZnO at < 50 nm particle size showed better fungal growth inhibition effect than the bulk form of the two chemicals at all concentration levels tested. In addition, CuO nanoparticle was more effective in inhibiting growth of the two fungal isolates compared to ZnO nanoparticle. Indeed, CuO nanoparticle at the lowest concentration (500 ppm) showed 84.89% and 97.38% of the fungal growth inhibition against the two isolates, respectively and no significant difference was observed between the CuO nanoparticle treatment and the fungicide treatment. This research demonstrates the potential of CuO and ZnO nanoparticles for rice blast disease control.

Keywords: rice blast, nanoparticle, copper oxide, zinc oxide

บทคัดย่อ

การประเมินประสิทธิภาพสารเคมี CuO และ ZnO รูปแบบอนุภาคนาโนและเกรตพาคณิตซ์ไม่ระบุขนาดอนุภาค (bulk) ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราก่อโรคไหม้จำนวน 2 ไอโซเลท (M.001 และ M.002) โดยวิธี poisoned food ความเข้มข้น 500, 1,000 และ 1,500 ppm พบว่า สารเคมี CuO และ ZnO ขนาดอนุภาคน้อยกว่า 50 นาโนเมตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทได้สูงกว่ารูปแบบสารเคมีเกรตพาคณิตซ์ไม่ระบุขนาด เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าอนุภาคนาโน CuO สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทได้ดีกว่าอนุภาคนาโน ZnO โดยที่ความเข้มข้นต่ำสุด (500 ppm) นั้นอนุภาคนาโน CuO มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทเท่ากับ 84.89 และ 97.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดทดสอบที่เติมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา งานวิจัยนี้พบว่าสารเคมีอนุภาคนาโน CuO และ ZnO มีศักยภาพในการควบคุมโรคไหม้ของข้าว

คำสำคัญ: โรคไหม้ของข้าว อนุภาคนาโน คอปเปอร์ออกไซด์ ซิงค์ออกไซด์

คำนำ

ข้าวเป็นธัญพืชหลักที่มีความสำคัญทั้งในด้านการบริโภคภายในประเทศและยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศอีกด้วย โรคไหม้ของข้าวมีสาเหตุจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* จัดเป็นโรคสำคัญในข้าวสามารถสร้างผลกระทบเชิงปริมาณต่อผลผลิตข้าวในทุก ๆ ปี โดยบางปีอาจสูงถึง 18% ของผลผลิตข้าวทั้งหมด (Soanes และคณะ, 2012) การควบคุมโรคไหม้ของข้าวให้ได้ผลรวดเร็วมักใช้วิธีการพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ซึ่งสารเคมีดังกล่าวส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ใช้และผู้บริโภค รวมถึงสิ่งแวดล้อมหากมีการใช้ที่ไม่เหมาะสม การลดปริมาณการใช้สารเคมีโดยใช้สารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในปริมาณจำกัดหรือใช้สารเคมีปลอดภัยทดแทนจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว ปัจจุบันสารเคมีในรูปแบบอนุภาคนาโนถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น อนุภาคนาโนเงิน (Ag) ทองแดง (Cu) และสังกะสี (Zn) เป็นต้น (Elmer และคณะ, 2018) โดยคุณสมบัติที่มีขนาดเล็กทำให้สามารถเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสกับจุลินทรีย์ ส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่สัมผัสกับสารอนุภาคนาโนนั้น ๆ (Elmer และคณะ, 2018) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารเคมี CuO และ ZnO ในรูปแบบสารเคมีเกรตพาคณิตซ์ไม่ระบุขนาดอนุภาค (bulk) และรูปแบบอนุภาคนาโนใน

¹คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900

²ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900

การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคไหม้ของข้าวเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการใช้เป็นสารเคมีทางเลือกสำหรับการควบคุมโรคไหม้ของข้าวต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อรา *P. oryzae* ไอโซเลท M.001 และ M.002 ซึ่งแยกจากใบข้าวที่แสดงอาการโรคไหม้และได้รับการพิสูจน์โรคตามหลักการ Koch's postulate ถูกนำมาใช้ในงานวิจัยนี้ ทำการประเมินประสิทธิภาพสารเคมีในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราโดยวิธี poisoned food โดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร half PDA (Potato dextrose agar) ที่มีส่วนผสมของสารเคมีได้แก่ สารเคมี CuO และ ZnO เกรดพาณิชย์ไม่ระบุขนาดอนุภาค (bulk) และอนุภาคนาโนของสารเคมี CuO และ ZnO (<50nm) จากบริษัท Sigma-Aldrich (USA) ที่ความเข้มข้น 500 1,000 และ 1,500 ppm วางชิ้นส่วนของเชื้อราขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรที่กึ่งกลางจานขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร คว่ำด้านที่มีเชื้อราลงบนผิวหน้าอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (ไม่รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของชิ้นวุ้น) เปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อราบนอาหาร half PDA ผสมน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ โดยในการทดลองนี้อาหารผสมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราซิมาร์ต (Imidazoles + Triazole) จากบริษัท ADAMA Agriculture Espana S.A. (Spain) ซึ่งแนะนำให้ใช้สำหรับการควบคุมเชื้อราก่อโรคในข้าวที่ความเข้มข้น 100 ppm เพื่อใช้เปรียบเทียบศักยภาพการควบคุม วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 2 ซ้ำ ๆ ละ 3 จาน คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราในแต่ละความเข้มข้นโดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต} = (A-B)/A \times 100$$

โดย A = ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารผสมน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

B = ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารผสมสารเคมี

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมี CuO และ ZnO ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *P. oryzae* พบว่า สารเคมีทั้งสองชนิดทั้งในรูปแบบเกรดพาณิชย์ไม่ระบุขนาด (bulk) และในรูปแบบอนุภาคนาโน (<50 nm) และทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของ *P. oryzae* ไอโซเลท M.001 และ M.002 ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบทองแดงถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายเพื่อการป้องกันกำจัดโรคพืช (Borkow และ Gabbay, 2005) โดยมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคพืชได้ (Kasana และคณะ, 2016) ส่วนสารประกอบสังกะสี เช่น ZnO สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด (He และคณะ, 2011; Elamawi และคณะ, 2016) เมื่อพิจารณาจากผลของสารเคมีพบว่า อนุภาคนาโน CuO และ ZnO (<50nm) สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทได้ดีกว่าสารเคมีในรูปแบบไม่ระบุขนาด (bulk) โดยเมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นต่ำสุด (500 ppm) พบว่าอนุภาคนาโน CuO สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราไอโซเลท M.001 และ M.002 ได้สูงกว่าสารเคมีรูปแบบไม่ระบุขนาด (bulk) 2.64 เท่า และ 3.09 เท่า ตามลำดับ ในขณะที่อนุภาคนาโน ZnO สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราไอโซเลท M.001 และ M.002 ได้สูงกว่าสารเคมีรูปแบบไม่ระบุขนาด (bulk) 0.88 เท่า และ 0.65 เท่า ตามลำดับ (Fig.1) ทั้งนี้ประสิทธิภาพที่เพิ่มขึ้นในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราของสารเคมีในรูปแบบอนุภาคนาโนเมื่อเปรียบเทียบกับรูปแบบ bulk นั้น อาจเนื่องมาจากพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างสารเคมีอนุภาคนาโนกับจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น (Elmer และคณะ, 2018) จึงส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่า อนึ่งเมื่อพิจารณาถึงชนิดของสารเคมีพบว่า สารเคมีอนุภาคนาโน CuO มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. oryzae* ของทั้ง 2 ไอโซเลทได้ดีกว่าสารเคมีอนุภาคนาโน ZnO โดยที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด (500 ppm) นั้นอนุภาคนาโน CuO มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท โดยเฉลี่ยเท่ากับ 84.89 และ 97.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยผลดังกล่าวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดทดสอบที่มีการเติมสารป้องกันกำจัดเชื้อราซิมาร์ต (100 ppm) ในขณะที่อนุภาคนาโน ZnO สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราของทั้ง 2 ไอโซเลท โดยเฉลี่ยเท่ากับ 59.72 และ 54.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Fig.1) อย่างไรก็ตามสารเคมีแต่ละชนิดแสดงประสิทธิภาพแตกต่างกันในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชแต่ละสปีชีส์ ดังเช่น Manjunatha และคณะ, (2018) รายงานว่าสารเคมี CuO มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria alternata* ในเมล็ดข้าวได้ดีกว่าสารเคมี ZnO ในขณะที่งานวิจัยของ Choudhary และคณะ, (2018) รายงานว่า

เชื้อราก่อโรคในมะม่วง เช่น *Lasiodiplodia* มีความไวต่ออนุภาคนาโน ZnO มากกว่า CuO เป็นต้น งานวิจัยนี้พบว่า CuO ในรูปแบบอนุภาคนาโนมีศักยภาพที่จะนำไปใช้ทดแทนสารเคมี CuO ในรูปแบบที่ใช้ทั่วไป ซึ่งจะช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีดังกล่าวในพื้นที่เพาะปลูกส่งผลให้ลดปริมาณสารตกค้างในแหล่งปลูกได้ อนึ่งในงานวิจัยนี้ถึงแม้จะพบว่า ZnO มีประสิทธิภาพต่ำกว่า CuO แต่อย่างไรก็ตามสารเคมี ZnO ยังคงมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคใหม่ อีกทั้งสารเคมี ZnO ได้รับการขึ้นทะเบียนโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา โดยจัดให้อยู่ในรายชื่อสารเคมีที่ได้รับการยอมรับโดยทั่วไปว่าปลอดภัย (GRAS) ต่อมนุษย์และสัตว์ (Yusof และคณะ, 2019) ดังนั้นสารเคมี ZnO จึงมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นสารเคมีทางเลือกเพื่อการป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อไป

สรุปผล

งานวิจัยนี้พบว่า CuO และ ZnO มีประสิทธิภาพ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคใหม่ โดยสารเคมี CuO และ ZnO ในรูปแบบอนุภาคนาโน (<50 nm) มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสูงกว่าสารเคมีในรูปแบบเกร็ดพาวนิชไม่ระบุนาโน (bulk) และสารเคมีอนุภาคนาโน CuO มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสูงกว่าสารเคมีอนุภาคนาโน ZnO

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการศัตรูพืชและสัตว์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนงบประมาณส่วนหนึ่งเพื่อการวิจัย

เอกสารอ้างอิง*

- Borkow, G. and Gabbay, J., 2005, Copper as a Biocidal Tool, *Current Medicinal Chemistry*, 12(18): 2163-2175.
- Choudhary, M.A., Manan, R., Mirza, M.A., Khan, H.R., Qayyum, S., Ahmed, Z., 2018, Biogenic Synthesis of Copper Oxide and Zinc Oxide Nanoparticles and Their Application as Antifungal Agents, *SSRG International Journal of Material Science and Engineering (IJMSE)*, 4(1): 1-6.
- Elamawi, R.M., Bassiouni, S.M., Elkhoby, W.M., Zayed, B.A., 2016, Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Brown Spot Disease and Rice Productivity under Saline Soil, *Journal of Plant Protection and Pathology*, 7(3): 171-181.
- Elmer, W., Ma, C., White, J., 2018, Nanoparticles for Plant Disease Management, *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 6: 66-70.
- He, L., Liu, Y., Mustapha, A., Lin, M., 2011, Antifungal Activity Zinc Oxide Nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*, *Microbiology Research*, 166(3): 207-215.
- Kasana, R.C., Panwar, N.R., Kaul, R.K. and Kumar, P., 2016, Copper Nanoparticles in Agriculture: Biological Synthesis and Antimicrobial Activity, In: Ranjan, S., Dasgupta, N., Lichtfouse, E. (eds) *Nanoscience in Food and Agriculture 3. Sustainable Agriculture Reviews*, vol.23. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48009-1_5
- Manjunatha, N., Prajapati, M., Dunna, V., Maity, A., Wasnik, V., Gupta, C., Parmar, S., 2018, Effect of Cupric Oxide and Zinc Oxide Nanoparticles on Seed Mycoflora and Seed Quality of Fodder Crops, *Journal of Environmental Biology*, 39: 973-979.
- Soanes, D.M., Chakrabarti, A., Paszkiewicz, K.H., Dawe, A.L., Talbot, N.J., 2012, Genome-wide Transcriptional Profiling of Appressorium Development by the Rice Blast Fungus *Magnaporthe oryzae*, *PLoS Pathogens*, 8(2): e1002514. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002514>.
- Yusof, H.M., Mohamad, R., Zaidan, U., Rahman, N.A., 2019, Microbial Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Potential Application as an Antimicrobial Agent and a Feed Supplement in Animal Industry: a Review, *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10(1): 57. doi:10.1186/s40104-019-0368-z

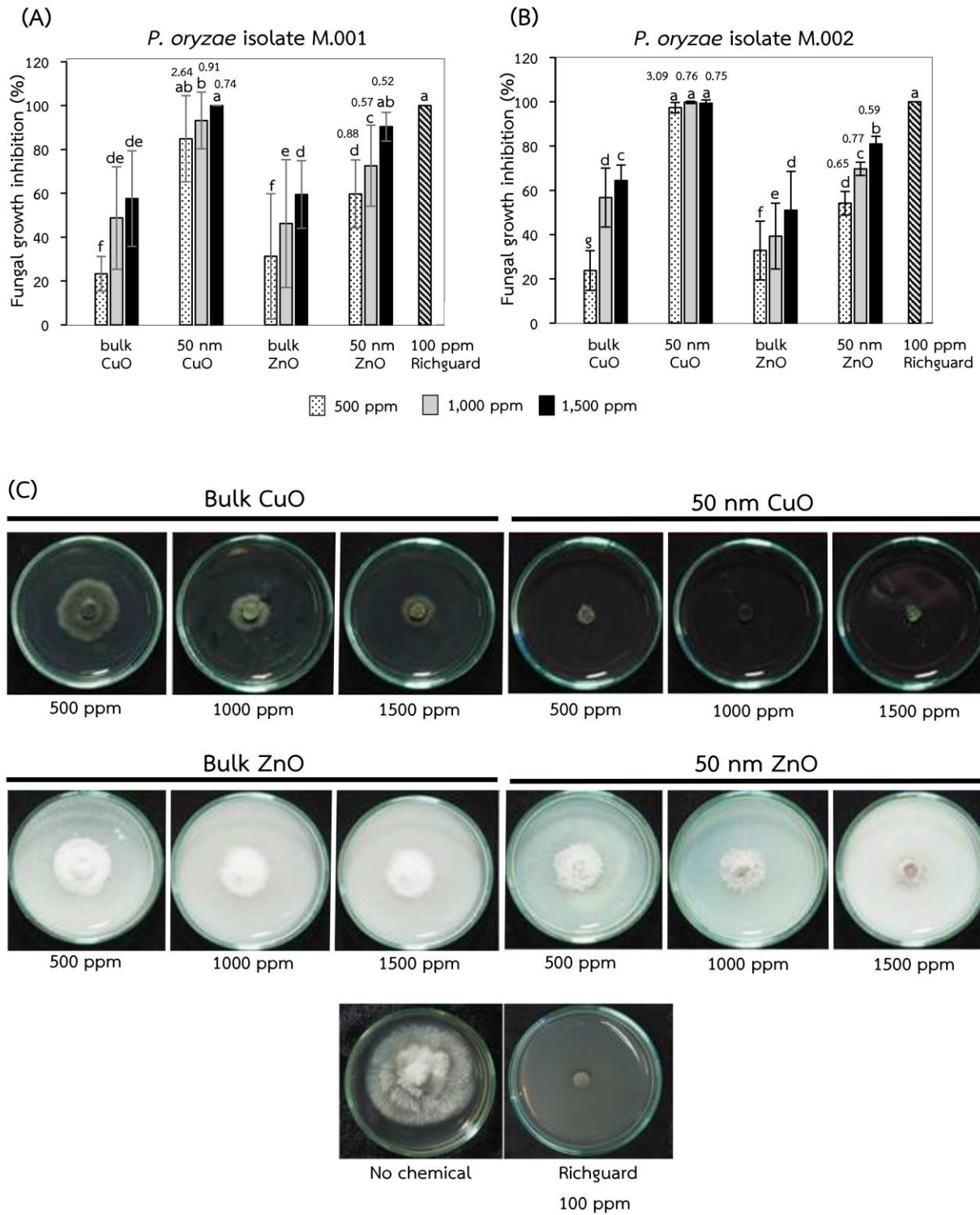


Figure 1 Inhibitory effect of CuO and ZnO bulks and nanoparticles (<50 nm) on *Pyricularia oryzae* mycelial growth. (A) Mean \pm standard derivative values of percentage fungal growth of the isolate M.001 and (B) M.002 on half potato dextrose agar amended CuO and ZnO in bulk and nano forms. Same letters are not significantly different as indicated by Duncan's new multiple-range test at $P < 0.05$. Numbers above bars indicates fold increase between a value from nanoparticle treatment and a value from bulk treatment. (C) *P. oryzae* isolate M.001 at 7 days after inoculation on unamended (no chemical) and amended half potato dextrose agar (CuO and ZnO bulks and nanoparticles at the concentration of 500, 1,000 and 1,500 ppm and Richguard at the concentration of 100 ppm).