



## การจัดจำแนกชนิด และการใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia* species สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว

### Identification and Chemical Control of *Rhizoctonia* species causing Sheath Bight Disease of Rice

กัญญารัตน์ สมเพ็ชร<sup>1</sup> พัชรวิภา ใจจักรคำ<sup>1</sup> และ อรอุมา เพ็ญชัย<sup>1,\*</sup>  
Kunyarut Sompach<sup>1</sup>, Patcharavipa Chaijuckum<sup>1</sup> and Onuma Piasai<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

<sup>1</sup> Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

รับเรื่อง: 3 พฤศจิกายน 2563 Received: 3 November 2020

ปรับแก้ไข: 9 ธันวาคม 2563 Revised: 9 December 2020

รับตีพิมพ์: 15 ธันวาคม 2563 Accepted: 15 December 2020

\* Corresponding author: agronj@ku.ac.th

**ABSTRACT:** The purpose of this were to study morphology and evaluate the efficiency of fungicides to control *Rhizoctonia* causing sheath rice disease. Diseased rice samples were collected from the north of Thailand. Fungi were isolated by tissue transplanting method and were identified base on morphological characteristics including number of nucleus, color, size of mycelial and sclerotia characteristic. Species identification was confirmed by molecular technique and PCR was conducted at internal transcribed spacer (ITS) rRNA gene region. Eighteen isolates of *Rhizoctonia solani*, 2 isolates of *R. oryzae* and 34 isolates of *R. oryzae-sativae* were identified and were confirmed as causal agent of sheath disease of rice. Six fungicide treatments, including azoxystrobin + tebuconazole, carbendazim, difenoconazole, mancozeb, prochloraz + propiconazole, and validamycin were evaluated for the inhibition of the fungal mycelium growth. The results demonstrated that growth of *R. oryzae-sativae* and *R. solani* inhibited by carbendazim and azoxystrobin + tebuconazole at 100%, 100% and 85.06% and 80.00%, respectively, while mancozeb and azoxystrobin + tebuconazole inhibited *R. oryzae* at 100% and 90.82%, respectively. *In vivo* experiments, azoxystrobin + tebuconazole exhibited strongest control of sheath rice disease caused by *R. solani*, *R. oryzae* and *R. oryzae-sativae*.

**Keywords:** Rice, rice sheath disease, *Rhizoctonia* spp., identification, fungicide

## บทคัดย่อ

งานนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะ สัมพันธวิทยาและทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกัน กำจัดเชื้อราในการควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia* สาเหตุ โรคกาบใบของข้าว เก็บตัวอย่างใบของข้าวที่เป็นโรค จากภาคเหนือของประเทศไทย แยกเชื้อโดยใช้วิธี tissue transplanting จัดจำแนกชนิดของเชื้อราโดยใช้ลักษณะทางสัมพันธวิทยา ได้แก่ จำนวนนิวเคลียส สี ขนาดของเส้นใย และลักษณะของเม็ดสเคอโรเดีย ยืนยันผลการจัดจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ ของยีนบริเวณ internal transcribed spacer (ITS) rRNA gene พบว่า สามารถ จำแนกเป็นเชื้อรา *R. solani* ได้จำนวน 18 ไอโซเลท เชื้อรา *R. oryzae* จำนวน 2 ไอโซเลท และเชื้อรา *R. oryzae-sativae* จำนวน 34 ไอโซเลท ทดสอบ ความสามารถในการก่อโรค พบว่า เชื้อรา *Rhizoctonia* spp. ทั้ง 3 ชนิด ก่อให้เกิดโรคกาบใบของข้าว ทดสอบ ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 6 กรรมวิธี ได้แก่ azoxystrobin + tebuconazole, carbendazim, difenoconazole, mancozeb, prochloraz + propiconazole และ validamycin เพื่อยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราในห้องปฏิบัติการ ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่า การเจริญเติบโตของเชื้อรา *R. oryzae-sativae* และ *R. solani* ถูกยับยั้งโดยสาร carbendazim และ azoxystrobin + tebuconazole ที่ร้อยละ 100 100 และ 85.06 80 ตามลำดับ ในขณะที่ สาร mancozeb และ azoxystrobin + tebuconazole ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *R. oryzae* ได้ร้อยละ 100 และ 90.82 ตามลำดับ การ ทดสอบในเรือนทดลอง พบว่า สาร azoxystrobin + tebuconazole มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกาบ ใบของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani*, *R. oryzae* และ *R. oryzae-sativae* ได้ดีที่สุด

**คำสำคัญ:** ข้าว, โรคกาบใบข้าว, *Rhizoctonia* spp., การกำจัดจำแนกชนิด, สารป้องกันกำจัดเชื้อรา

## บทนำ

ปัญหาที่สำคัญของการปลูกข้าวคือการเข้าทำลายของโรคและแมลง โรคข้าวมีสาเหตุเกิดจาก จุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และ ไร้นี้เดือนฝอย ซึ่งส่งผลกระทบต่อข้าวทั้งในด้านคุณภาพ และปริมาณ (Somkid, 1982; Ou, 1985) *Rhizoctonia* เป็นเชื้อราที่มีรายงานเป็นสาเหตุโรคข้าวที่สำคัญ อีกชนิดหนึ่ง เชื้อราที่มีการสร้างเฉพาะเส้นใย (Sterile mycelia) ซึ่งแตกแขนงแบบ T-shape cell และมีผนังกันแบบ dolipore septum และเมื่อเจริญเต็มที่ เส้นใยของราจะอัดตัวกันแน่นเป็นก้อน เรียกว่า sclerotia (El-Shafey *et al.*, 2019) เชื้อรา *Rhizoctonia* จะเข้าทำลายต้นข้าวในระยะแตกกอจนถึงระยะใกล้ เก็บเกี่ยวโดยจะแสดงอาการที่กาบใบข้าว เมื่อมีอาการ รุนแรงแผลจะมีลักษณะฉ่ำน้ำ สีเขียวปนเทา ต่อมาจะ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และลุกลามตามกาบใบไปจนถึง บนใบ (Ou, 1985) อย่างไรก็ตาม การระบาดของโรค ที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* ในระยะแรกจะมี ลักษณะอาการที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา ได้แก่ อาการกาบใบแห้งข้าว (Sheath blight) มีสาเหตุ เกิดจากเชื้อรา *R. solani* อาการกาบใบจุดรวมข้าว (Aggregate sheath spot) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *R. oryzae-sativae* และอาการโรคกาบใบจุดข้าว (Sheath spot) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *R. oryzae* ซึ่ง เมื่อเกิดการระบาดของโรคจะส่งผลให้ผลผลิตของข้าว ลดลงมากถึงร้อยละ 60 20 และ 10 ตามลำดับของ ความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรค (Nagaraj *et al.*, 2019) ทั้งนี้ การวินิจฉัยเชื้อรา *Rhizoctonia* ในระดับ ชนิดที่ถูกต้องโดยสังเกตจากลักษณะอาการของโรค ที่พบบนกาบใบนั้นค่อนข้างยากเนื่องจากลักษณะ อาการแผลมีความคล้ายคลึงกันมาก ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการนำตัวอย่างมาแยกเชื้อสาเหตุและศึกษา ลักษณะทางสัมพันธวิทยารวมถึงจัดจำแนกชนิดโดยใช้ เทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อให้สามารถวินิจฉัยเชื้อสาเหตุ ของโรคได้อย่างถูกต้อง นอกจากนี้ การควบคุมโรคกาบ ใบของข้าวในปัจจุบันนิยมใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราใน

การฉีดพ่น ได้แก่ flutolanil, tebuconazole, isoprothiolane และ triadimenol + tebuconazole ซึ่งพบว่า สารป้องกันกำจัดเชื้อราบางชนิดไม่สามารถควบคุมโรคนี้ได้ดีเท่าที่ควร (Groth and Bond, 2007; Pramesh *et al.*, 2016; Persaud *et al.*, 2019) ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกและจัดจำแนกชนิดเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุล และทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคกาบใบของข้าว เพื่อเป็นข้อมูลวินิจฉัยโรคข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. และเพื่อประกอบการพิจารณาการเลือกใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคกาบใบของข้าวให้มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคข้าว

เก็บตัวอย่างกาบใบข้าวที่แสดงอาการของโรคจากจังหวัดแพร่ น่าน เชียงราย พะเยา เชียงใหม่ และลำพูน ระหว่างเดือนมิถุนายน ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 โดยสังเกตอาการของโรคที่กาบใบข้าวที่ปรากฏแผลสีน้ำตาลเป็นวงรีซ้อน ๆ กัน ตรงกลางแผลมีสีเทา ถ้าอาการรุนแรงกาบใบของข้าวจะแห้งเป็นสีน้ำตาล และอาจพบเม็ดสเคอโรเดียที่บริเวณโคนต้นข้าว บันทึกข้อมูลสถานที่เก็บตัวอย่าง พิกัดทางภูมิศาสตร์ ชนิดพันธุ์ข้าว (Table 1) และนำตัวอย่างมาแยกเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการเชื้อรา ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

### การแยกเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบแห้งข้าว

แยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี tissue transplanting (Agrios, 2005) โดยตัดชิ้นส่วนกาบใบข้าวส่วนที่แสดงอาการเป็นโรค ขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร ฆ่าเชื้อบนพื้นผิวของชิ้นส่วนพืชด้วยสารละลายไฮโปคลอไรต์ (NaClO) ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

2 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูฆ่าเชื้อ จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ water agar (WA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28–30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อพบเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากเนื้อเยื่อพืช ใช้เข็มเย็บตัดปลายของเส้นใยนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) เพื่อใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จัดจำแนกชนิด และทดสอบต่อไป

### การจัดจำแนกชนิดเชื้อรา

#### การจัดจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เลี้ยงเชื้อราที่แยกได้จากข้อ 2 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (28–30 องศาเซลเซียส) ศึกษาลักษณะโคโลนี ขนาด และสีของเส้นใยหลังจากเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 7 วัน โดยใช้เข็มเย็บย้ายเส้นใยของเชื้อราวางบนสไลด์ จากนั้นหยดด้วย Shear's mounting agent ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ ศึกษาจำนวนนิวเคลียสภายในเส้นใย โดยย้อมเส้นใยด้วยสาร safanin O และสารละลาย 3%KOH บนกระจกสไลด์ และปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์นำไปตรวจนับจำนวนนิวเคลียส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound รุ่น Zeiss AXIO Scope. A1 ยี่ห้อ ZEISS (บริษัท Carl Zeiss สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี) โดยใช้กำลังขยาย 100X 400X และ 1,000X ศึกษาลักษณะรูปร่าง และสีของเม็ดสเคอโรเดียภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ รุ่น SMZ168 Series ยี่ห้อ Motic (บริษัท Motic Asia ฮองกง) โดยใช้กำลังขยาย 20X–40X

#### การจัดจำแนกชนิดโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล

เลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน ใช้เข็มเย็บชุดเส้นใยของเชื้อรานำไปสกัด DNA โดยใช้วิธีการ CTAB ดัดแปลงจากวิธีการของ Than *et al.* (2008) ตรวจปริมาณ DNA ต้นแบบ ด้วยเครื่อง nanodrop รุ่น NanoDrop One/OneC Microvolume UV-Vis

Spectrophotometer with Wi-Fi (บริษัท Thermo Fisher Scientific สหรัฐอเมริกา) เพิ่มปริมาณ DNA ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase chain reaction, PCR) โดยนำ DNA ต้นแบบ มาเพิ่มปริมาณด้วยเครื่องเทอร์โมไซเคลอร์ รุ่น FlexCycler2 (บริษัท Analytik Jena Far East สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี) การเพิ่มปริมาณ DNA ใช้ปริมาณทั้งหมด 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย dH<sub>2</sub>O 7 ไมโครลิตร DNA template 1 ไมโครลิตร 2x mastermix 10 ไมโครลิตร (ยี่ห้อ EconoTaq PLUS บริษัท Lucigen สหรัฐอเมริกา) ไพร์เมอร์ TIS1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') และ ไพร์เมอร์ ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') (White *et al.*, 1990) ความเข้มข้น 10 pmol อย่างละ 1 ไมโครลิตร ตั้งค่าเครื่องทำปฏิกิริยา PCR คือ initial denaturation ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ denaturation ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิ 52.1°C เป็นเวลา 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 30 วินาที โดยทำปฏิกิริยา จำนวน 30 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 10 นาที จำนวน 1 รอบ ตรวจสอบขนาดของ DNA โดยวิธี gel electrophoresis โดยใช้ 1.5% agarose ผสมกับ SYBR Green (ยี่ห้อ Invitrogen บริษัท Thermo Fisher Scientific สหรัฐอเมริกา) เปรียบเทียบขนาด แถบ DNA กับ DNA มาตรฐาน 100 bp DNA ladder (ยี่ห้อ Invitrogen บริษัท Thermo Fisher Scientific สหรัฐอเมริกา) โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 35 นาที นำเจลไปตรวจสอบแถบ DNA ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตด้วยเครื่อง UV Gel Documentation รุ่น SmartView Pro UVCI-1100 imager system (บริษัท Major Science ไต้หวัน) ส่งตัวอย่าง DNA ไปทำให้บริสุทธิ์ และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA ที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ที่บริษัท MacroGen ประเทศเกาหลี จากนั้น นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มา เปรียบเทียบค่าร้อยละความเหมือน (% Similarity) กับ ฐานข้อมูลใน GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) ด้วยโปรแกรม BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) เพื่อใช้เทียบเคียง ในการจัดจำแนกชนิด

nih.gov/genbank/) ด้วยโปรแกรม BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) เพื่อใช้เทียบเคียง ในการจัดจำแนกชนิด

### การทดสอบความสามารถในการก่อโรค

เพาะข้าวพันธุ์ KDML105, SPT1 และ RD6 บนกระดาษทิชชูให้ความชื้นในกล่องพลาสติกเป็นเวลา 7 วัน ย้ายต้นกล้าข้าวลงปลูกในกระถางพลาสติก ขนาด 5 นิ้ว จำนวน 4 ต้นต่อกระถาง เมื่อข้าวอายุ 60 วัน ปลูกเชื้อราโดยใช้เข็มเย็บเยื่อทำแผลบนกาบใบข้าว แล้ววางชิ้นวุ้นเชื้อราบริเวณแผล ปิดทับด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ และคลุมต้นด้วยถุงพลาสติกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ completely randomized designs (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ บันทึกรูปผลการทดลองโดยวัดความยาวของแผลที่ปรากฏบนกาบใบข้าว หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 และ 14 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS statistic

### การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบของข้าวในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 6 กรรมวิธี ได้แก่ azoxystrobin + tebuconazole, carbendazim, difenoconazole, mancozeb, prochloraz + propiconazole และ validamycin (Table 3) เพื่อยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยใช้วิธี poisoned food ดัดแปลงจากวิธีการของ Kumar *et al.* (2017) เตรียมสารป้องกันกำจัดเชื้อราผสมกับน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เขย่าให้เข้ากัน เติลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้น ใช้เครื่องเจาะจุกคอร์ก (Cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อราเจริญอยู่ ใช้เข็มเย็บเยื่อย้ายชิ้นวุ้นลงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมี แล้วบ่มจาน

เลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ บันทึกผลการทดลองเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมโดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ไม่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน โดยคำนวณร้อยละของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Growth inhibition, GI) จากสูตร  $\%GI = (R1-R2)/R1 \times 100$  โดย R1 คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อสาเหตุโรคพืชในอาหารเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีควบคุม R2 คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อสาเหตุโรคพืชในกรรมวิธีทดสอบ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยวิธี DMRT โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistic

### การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคกาบใบของข้าวในโรงเรือนทดลอง

ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราเพื่อควบคุมโรคกาบใบข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani*, *R. oryzae* และ *R. oryzae-sativae* ในโรงเรือนทดลอง โดยใช้สารเคมี 6 กรรมวิธี ได้แก่ azoxystrobin + tebuconazole, carbendazim, difenoconazole, mancozeb, prochloraz + propiconazole และ validamycin (Table 3) เพาะข้าวพันธุ์ KDML105 บนกระดาดที่ขุขี้ให้ความชื้นในกล่องพลาสติกเป็นเวลา 7 วัน ย้ายต้นกล้าข้าวลงปลูกในกระถางพลาสติกขนาด 6 นิ้ว จำนวน 3 ต้นต่อกระถาง เมื่อข้าวอายุ 60 วัน ปลูกเชื้อโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อทำแผลบนกาบใบข้าว วางชั้นวุ้นเชื้อราบริเวณแผลคลุมต้นด้วยถุงพลาสติกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อราแต่ละชนิดจำนวน 2 ครั้ง โดยครั้งที่ 1 พ่นหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และครั้งที่ 2 หลังจากพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อราครั้งที่ 1 เป็นเวลา 7 วัน วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ บันทึกผลการทดลองเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมหลังจากพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อราครั้งที่ 2

เป็นเวลา 7 วัน โดยวัดความยาวของแผลที่ปรากฏบนกาบใบข้าว และคำนวณร้อยละของการยับยั้งการเกิดโรค (Disease inhibition, DI) จากสูตร  $\%DI = (L1-L2)/L1 \times 100$  โดย L1 คือ ความยาวแผลที่ปรากฏบนต้นข้าวในกรรมวิธีควบคุม L2 คือ ความยาวแผลที่ปรากฏบนต้นข้าวในกรรมวิธีทดสอบ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยวิธี DMRT โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS statistic

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคข้าว

เก็บตัวอย่างข้าวที่แสดงอาการของโรคกาบใบของข้าวจากภาคเหนือของประเทศไทย ในจังหวัดแพร่ น่าน พะเยา เชียงราย เชียงใหม่ และลำพูน จำนวนรวม 30 ตัวอย่าง จากข้าว 15 พันธุ์ (Table 1) พบลักษณะอาการของโรคกาบใบข้าว ได้แก่ อาการกาบใบแห้ง แผลมีลักษณะฉ่ำน้ำ สีเขียวอมเทาหรือสีน้ำตาลแห้ง ขอบแผลสีน้ำตาล ลูกกลมเป็นแถบตามความยาวของกาบใบ จนถึงใบธง แผลมีความยาวขนาด 3-5 เซนติเมตร (Figure 1A) อาการกาบใบจุด แผลมีลักษณะเป็นวงรี ตรงกลางแผลสีเทาขอบแผลสีน้ำตาล แผลมีความยาวขนาด 0.5-2 เซนติเมตร (Figure 1G) และอาการกาบใบจุดรวม แผลเป็นวงรี เกิดรวมกันเป็นกลุ่ม ตรงกลางแผลสีเทาขอบแผลสีน้ำตาล แผลมีความยาวขนาด 0.5-1 เซนติเมตร (Figure 1M)

**Table 1** Sampling location of sheath diseases in rice collected from north in Thailand

Province	GPS	Cultivar <sup>1</sup>	Symptoms <sup>2</sup>	No. of sample
<b>Phrae</b>				
Phrae rice research center (Field)	47Q629366	Ex21/4*, Ex21/7*,	SB	5
	2017899	F5PY-147*, PY20* and PSL2		
Ban Kham Mi Ratana Panya, Nong Muang Khai	47Q627201	RD10	SS, SB	2
	2020171			
Ban Den Chai, Den Chai, Den Chai	47Q611450	SPT1	SB	1
	1990328			
Ban Wang Hong, Wang Hong, Meung	47Q622183	RD6	SB	1
	2017347			
Ban Pak Yang, Nong Muang Khai	47Q625994	PRE72	SB	1
	2023576			
Ban Choeng, Ban Kat, Sung Men	47Q625545	Sew	SB	1
	2000617			
<b>Nan</b>				
Ban Na Khoi, Na Khoi, Phu Phueng	47Q687399	RD6	SB, LB	2
	2070700			
Ban Ton Han, Pa ka, Tha Wang Pha	47Q688360	KDML105	SB	1
	2110862			
	47Q689177	KDML105	SS	1
	2110751			
Ban Fai Moon, Pa ka, Tha Wang Pha	47Q689793	RD6	SS	1
	2110489			
<b>Phayao</b>				
Ban Mae Sai, Mae Sai, Meung	47Q593847	KDML105	SB	1
	2114217			
Ban Mae Tam Bunyong, Mae Ka, Meung	47Q594492	KDML105	SB, LB	2
	2110961			

Table 1 Continued.

Province	GPS	Cultivar <sup>1</sup>	Symptoms <sup>2</sup>	No. of sample
<b>Chiang Rai</b>				
Ban Nong Sai Thong, Pa Thung, Phan	47Q574044	SPT1	SB, LB	2
	2162803			
Ban Pa Mun, Santisuk, Phan	47Q573922	RD14	SB	1
	2162504			
Ban Pa Mun, Santisuk, Phan	47Q579466	Maejo2	SB, LB	2
	2165757			
<b>Lumphon</b>				
Rimping District, Meung	47Q498625	RD6	SB, LB	2
	2055158			
<b>Chiang Mai</b>				
Ban Sanpayom, Makham Luang, San Pa Tong	47Q489688	KDML105	SS	1
	2057478			
Ban Kat, Ban Kat, Mae Wang	47Q481254	SPT1	SS	1
	2056290			

\* Rice varieties: Ex21/4, Ex21/7, F5PY-147, PY20, BC3F6-88 and CH9

<sup>1</sup> Rice cultivar: KDML105 = Khao Dawk Mali 105, SPT1 = San Pa Tong1, RD6 = Rice Department6, RD10 = Rice Department10, RD14 = Rice Department14, MJO2 = Maejo2, PSL2 = Phitsanulok2, Sew = Sew and PRE72 = Phrae72

<sup>2</sup> Symptom: SB = sheath blight, SS = sheath spot and LB = leaf blight

### การแยกและจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบของข้าว

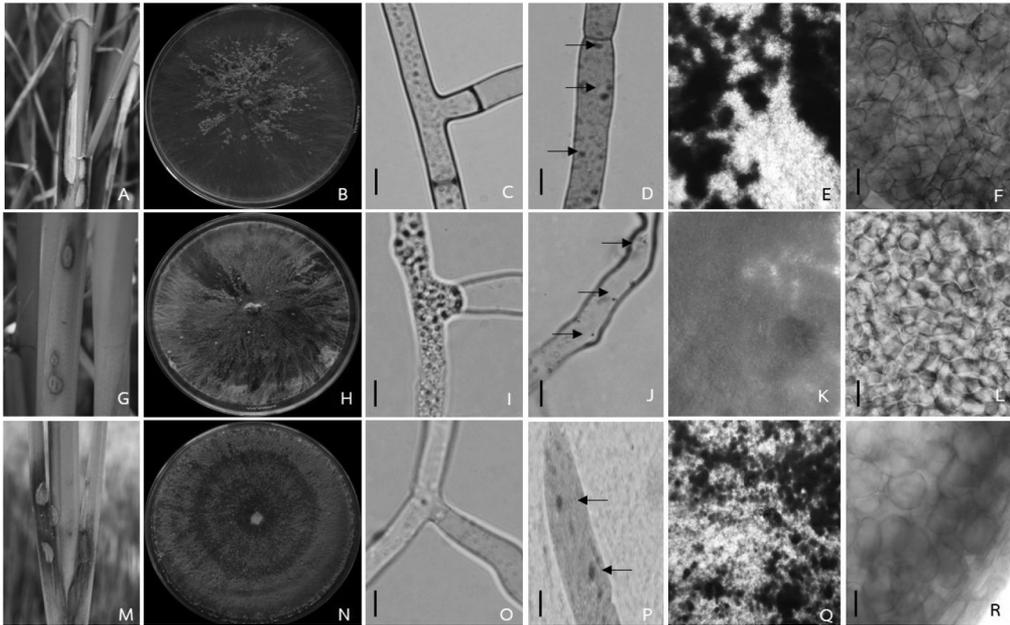
ผลการศึกษาพบเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. จำนวน 54 ไอโซเลท แยกได้จากตัวอย่างที่เก็บจากจังหวัดแพร่ 22 ไอโซเลท (PRE19001 ถึง 19022) น่าน 12 ไอโซเลท (NAN19001 ถึง 19012) เชียงราย 5 ไอโซเลท (CRI19001 ถึง 19005) พะเยา 6 ไอโซเลท (PYO19001 ถึง 19006) เชียงใหม่ 4 ไอโซเลท

(CMI19001 ถึง 19004) และลำพูน 5 ไอโซเลท (LPN19001 ถึง 19005) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. มีความแตกต่างกัน สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 เชื้อรา *Rhizoctonia* ที่มีการสร้างเส้นใยแบบไม่มีสี ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจนถึงน้ำตาลดำเมื่อมีอายุ 7 วัน (Figure 1B) เส้นใยมีขนาดกว้าง 7-11 ไมโครเมตร มีนิวเคลียสมากกว่า 2 นิวเคลียส (Multiple nucleus) (Figure 1D)

สร้างเม็ดสเคอโรเตียสีน้ำตาลจนถึงน้ำตาลดำ รูปร่างไม่แน่นอน (Figure 1E) เมื่อนำข้อมูลไปเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง (Kim, 1993; Mughal *et al.*, 2017) พบว่า เชื้อราจำนวน 18 ไอโซเลท มีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *Rhizoctonia solani* (Figures 1B–1F) กลุ่มที่ 2 เชื้อรามีการสร้างเส้นใยสีใส ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีขาว (Figure 1H) เส้นใยมีขนาดกว้าง 7–11 ไมโครเมตร มีนิวเคลียสมากกว่า 2 นิวเคลียส (Figure 1J) และสร้างเม็ดสเคอโรเตียสีส้มแซมมอน พบรูปร่างทั้งทรงกลม และไม่แน่นอน (Figure 1K) เมื่อนำข้อมูลไปเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง (Kim, 1993; Lanoiselet *et al.*, 2001) พบว่า เชื้อราจำนวน 2 ไอโซเลท มีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *Rhizoctonia oryzae* (Figures 1H–1L) และกลุ่มที่ 3 เชื้อรามีการสร้างเส้นใยสีขาว ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนเมื่อมีอายุ 7 วัน (Figure 1N) เส้นใยมีขนาดกว้างน้อยกว่า 7 ไมโครเมตร มีนิวเคลียส 2 นิวเคลียส (Figure 1P) และสร้างเม็ดสเคอโรเตียเริ่มแรกสีขาว ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล รูปร่างค่อนข้างกลม หรือไม่แน่นอน (Figure 1Q) เมื่อนำข้อมูลไปเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง (Kim, 1993; Lanoiselet *et al.*, 2001; Nagaraj *et al.*, 2019) พบว่า เชื้อราจำนวน 34 ไอโซเลท มีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *Rhizoctonia oryzae-sativae* (Figures 1N–1R)

ผลการจัดจำแนกชนิดโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล และการทำ PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1/4 บริเวณ ITS rRNA พบว่า ทุกไอโซเลทมีขนาดแถบของ DNA ขนาด 650–700 คู่เบส เมื่อนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (BLAST) ในฐานข้อมูล GenBank พบว่า สามารถจำแนกเชื้อราได้ 3 ชนิด ที่มีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *R. solani* ที่ระดับความเหมือนเท่ากับร้อยละ 93–99 เชื้อรา *R. oryzae* ระดับความเหมือนร้อยละ 99 และเชื้อรา *R. oryzae-sativae* ระดับความเหมือนร้อยละ 85–99 ผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานการพบเชื้อรา *R. solani*

ที่เป็นสาเหตุของโรคกาบใบแห้งของข้าว (Department of Agriculture, 2016) และรายงานการพบเชื้อรา *R. oryzae* สาเหตุของโรคกาบใบจุด และเชื้อรา *R. oryzae-sativae* สาเหตุโรคกาบใบจุดรวมในประเทศออสเตรเลีย (Lanoiselet *et al.*, 2001) งานวิจัยของ Pralhad *et al.* (2019) ซึ่งได้ทำการจัดจำแนกเชื้อรา *R. solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวในประเทศอินเดียด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยใช้ไพรเมอร์ TIS1/ITS4 พบว่า เชื้อรา *R. solani* มีแถบของ DNA ขนาด 700 คู่เบส นอกจากนี้ ผลการศึกษา ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Okubara *et al.* (2008) ที่จำแนกเชื้อรา *R. solani* และ *R. oryzae* โดยใช้เทคนิค Real-time PCR พบว่า เชื้อราทั้งสองชนิดนี้มีแถบ DNA ขนาด 680 คู่เบส



**Figure 1** Sheath symptoms on rice plants: sheath blight (A), sheath spot (G) and aggregate sheath spot (M) and morphological characteristics of *Rhizoctonia solani* (B–F), *R. oryzae* (H–L) and *R. oryzae-sativae* (N–R): colonies on PDA at 7 days (B,H,N), hypha with T-shape cell (C,I,O), multinucleate (D,J), binucleate (P), sclerotia under stereo microscope (E,K,Q) and cross section of sclerotia (F,L,R) (Scale bars = 5 μm)

### การทดสอบความสามารถในการก่อโรค

ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราที่ได้ยืนยันผลการจัดจำแนกแล้วจากข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลการศึกษาทางชีวโมเลกุล จำนวน 20 ไอโซเลท ดังนี้ เชื้อรา *R. solani* จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ CRI19001, CRI19004, PYO19004, NAN19001 และ LPN19003 เชื้อรา *R. oryzae* จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ LPN19004 และ LPN19005 และเชื้อรา *R. oryzae-sativae* จำนวน 13 ไอโซเลท ได้แก่ PRE19003, PRE19007, PRE19009, PRE19011, PRE19018, PRE19020, NAN19007, NAN19009, NAN19010, CRI19003, PYO19002, CMI19001 และ CMI19003 บนข้าวพันธุ์ KDML105, SPT1 และ RD6 หลังจากปลูกเชื้อ 14 วัน พบว่า

เชื้อรา *R. solani* ทุกไอโซเลทเป็นสาเหตุของโรคกาบใบแห้งของข้าว และสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ KDML105, SPT1 และ RD6 โดยระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Table 2) ลักษณะอาการของโรคที่ปรากฏบนกาบใบข้าวสอดคล้องกับรายงานของ Park *et al.* (2008) ซึ่งศึกษาวิธีการปลูกเชื้อ และพัฒนาการของโรคกาบใบแห้งข้าว โดยพบว่า ในช่วงแรกแผลที่ปรากฏบนต้นข้าวจะมีลักษณะเป็นแถบสีเขียวอมเทา ลักษณะฉ่ำน้ำ ตรงกลางแผลจะแห้ง และขอบแผลมีสีน้ำตาล ส่วนเชื้อรา *R. oryzae* เป็นสาเหตุโรคกาบใบจุดของข้าว พบว่า ไอโซเลท LPN19005 สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ KDML105 ได้ดีที่สุด โดยแผลมีขนาดยาวมากที่สุดเท่ากับ  $3.58 \pm 0.29$  เซนติเมตร ไอโซเลท

LPN19004 สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ SPT1 และ RD6 โดยแผลมีขนาดยาวเท่ากับ 4.88 และ 4.10 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Table 2) และเชื้อรา *R. oryzae-sativae* สาเหตุโรคกาบใบจุดรวมของข้าว พบว่า ไอโซเลท PRE19011 และ CMI19003 สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ KDML105 ได้ดีที่สุด โดยมีแผลมีขนาดยาวมากที่สุดเท่ากับ 11.00 และ 10.54 เซนติเมตร ตามลำดับ ไอโซเลท PRE19029 สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ SPT1 ได้ดีที่สุด โดยมีแผลมีขนาดยาวเท่ากับ

9.59 เซนติเมตร และไอโซเลท PRE19015 สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ RD6 ได้ดีที่สุด โดยมีขนาดแผลยาวสุดเท่ากับ 9.49 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Table 2) ลักษณะอาการที่ปรากฏบนใบข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *R. oryzae* และ *R. oryzae-sativae* สอดคล้องกับรายงานของ Lanoiselet *et al.* (2007) ซึ่งรายงานลักษณะอาการของโรคกาบใบจุด และกาบใบจุดรวมของข้าว โดยพบว่า ลักษณะอาการที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* ทั้ง 2 ชนิดนี้มีความใกล้เคียงกัน โดยแผลจะเป็นจุดฉ่ำน้ำ สีเขียวอมเทา และขอบแผลมีสีน้ำตาล

**Table 2** Lesion length on sheath rice after inoculated with *R. solani*, *R. oryzae* and *R. oryzae-sativae* for 7 and 14 days

Rhizoctonia species	Lesion length (cm) <sup>1</sup>					
	7 DAI <sup>2</sup>			14 DAI		
	KDML105 <sup>3</sup>	SPT1 <sup>4</sup>	RD6 <sup>5</sup>	KDML105	SPT1	RD6
<b><i>R. solani</i></b>						
CRI19001	5.09 ± 2.77 <sup>a</sup>	6.50 ± 1.02 <sup>a</sup>	6.39 ± 0.79 <sup>a</sup>	9.29 ± 3.98 <sup>a</sup>	9.75 ± 5.08 <sup>a</sup>	8.88 ± 0.76 <sup>a</sup>
CRI19004	8.80 ± 1.44 <sup>a</sup>	6.44 ± 1.91 <sup>a</sup>	5.00 ± 0.58 <sup>a</sup>	13.21 ± 3.71 <sup>a</sup>	8.71 ± 2.12 <sup>a</sup>	7.61 ± 1.36 <sup>a</sup>
PYO19004	7.84 ± 1.91 <sup>a</sup>	7.79 ± 1.13 <sup>a</sup>	7.15 ± 3.63 <sup>a</sup>	10.58 ± 2.89 <sup>a</sup>	10.96 ± 3.43 <sup>a</sup>	9.63 ± 6.40 <sup>a</sup>
NAN19001	9.09 ± 3.50 <sup>a</sup>	7.39 ± 0.54 <sup>a</sup>	8.17 ± 1.59 <sup>a</sup>	15.59 ± 6.49 <sup>a</sup>	13.03 ± 3.23 <sup>a</sup>	12.11 ± 2.42 <sup>a</sup>
LPN19003	6.99 ± 1.43 <sup>a</sup>	8.28 ± 1.84 <sup>a</sup>	7.54 ± 1.38 <sup>a</sup>	9.89 ± 1.86 <sup>a</sup>	9.72 ± 1.95 <sup>a</sup>	8.21 ± 2.27 <sup>a</sup>
control	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>
<b><i>R. oryzae</i></b>						
LPN19004	0.54 ± 0.47 <sup>b</sup>	3.17 ± 0.92 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.62 <sup>a</sup>	2.88 ± 2.79 <sup>ab</sup>	4.88 ± 1.44 <sup>a</sup>	4.10 ± 2.72 <sup>a</sup>
LPN19005	2.59 ± 1.06 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.33 <sup>b</sup>	0.17 ± 0.14 <sup>b</sup>	3.58 ± 0.29 <sup>a</sup>	2.08 ± 0.72 <sup>b</sup>	1.96 ± 0.44 <sup>ab</sup>
control	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>
<b><i>R. oryzae-sativae</i></b>						
PRE19003	2.96 ± 1.38 <sup>bc</sup>	0.63 ± 0.45 <sup>de</sup>	2.59 ± 0.36 <sup>b</sup>	6.38 ± 1.31 <sup>bcd</sup>	2.35 ± 0.99 <sup>cde</sup>	7.49 ± 3.85 <sup>ab</sup>
PRE19007	2.04 ± 1.06 <sup>cd</sup>	0.63 ± 0.45 <sup>de</sup>	2.68 ± 1.67 <sup>b</sup>	4.82 ± 2.24 <sup>e</sup>	0.79 ± 0.26 <sup>de</sup>	5.06 ± 3.20 <sup>b</sup>
PRE19009	4.09 ± 0.69 <sup>bc</sup>	3.67 ± 1.26 <sup>b</sup>	4.08 ± 0.52 <sup>ab</sup>	11.00 ± 2.01 <sup>a</sup>	6.55 ± 2.60 <sup>ab</sup>	6.92 ± 0.69 <sup>ab</sup>

Table 2 Continued.

Rhizoctonia species	Lesion length (cm) <sup>1</sup>					
	7 DAI <sup>2</sup>			14 DAI		
	KDML105 <sup>3</sup>	SPT1 <sup>4</sup>	RD6 <sup>5</sup>	KDML105	SPT1	RD6
PRE19011	4.92 ± 1.99 <sup>b</sup>	3.94 ± 1.40 <sup>b</sup>	4.97 ± 1.06 <sup>a</sup>	9.42 ± 0.62 <sup>abc</sup>	6.00 ± 1.80 <sup>abc</sup>	9.49 ± 1.74 <sup>a</sup>
PRE19018	2.67 ± 0.31 <sup>bc</sup>	2.13 ± 0.45 <sup>cde</sup>	2.99 ± 0.82 <sup>b</sup>	5.00 ± 1.44 <sup>de</sup>	5.67 ± 5.60 <sup>bcd</sup>	4.21 ± 1.48 <sup>b</sup>
PRE19020	7.25 ± 2.38 <sup>a</sup>	8.31 ± 0.39 <sup>a</sup>	2.21 ± 0.29 <sup>a</sup>	9.88 ± 2.93 <sup>ab</sup>	9.59 ± 1.31 <sup>a</sup>	8.21 ± 1.90 <sup>ab</sup>
NAN19007	2.66 ± 1.26 <sup>bc</sup>	1.60 ± 0.32 <sup>de</sup>	3.02 ± 0.64 <sup>b</sup>	8.42 ± 2.05 <sup>abcde</sup>	4.17 ± 1.61 <sup>bcd</sup>	6.32 ± 3.00 <sup>ab</sup>
NAN19009	3.03 ± 1.28 <sup>bc</sup>	1.50 ± 1.31 <sup>e</sup>	2.77 ± 1.07 <sup>b</sup>	6.49 ± 0.15 <sup>bcdde</sup>	4.54 ± 1.81 <sup>bcd</sup>	6.35 ± 2.88 <sup>ab</sup>
NAN19010	3.36 ± 1.71 <sup>bc</sup>	1.00 ± 0.33 <sup>ef</sup>	3.08 ± 2.08 <sup>b</sup>	6.65 ± 3.29 <sup>bcdde</sup>	3.25 ± 1.19 <sup>bcdde</sup>	4.25 ± 2.58 <sup>b</sup>
CRI19003	2.13 ± 0.45 <sup>c</sup>	2.28 ± 0.54 <sup>cde</sup>	3.17 ± 0.07 <sup>b</sup>	5.79 ± 1.34 <sup>cde</sup>	3.82 ± 0.94 <sup>bcdde</sup>	5.61 ± 0.59 <sup>ab</sup>
PYO19002	3.63 ± 0.25 <sup>bc</sup>	3.33 ± 1.04 <sup>bc</sup>	3.64 ± 0.13 <sup>ab</sup>	9.17 ± 1.51 <sup>abc</sup>	6.25 ± 2.29 <sup>abc</sup>	5.65 ± 1.80 <sup>ab</sup>
CMI19001	4.59 ± 0.81 <sup>b</sup>	2.93 ± 0.21 <sup>bcd</sup>	3.92 ± 0.44 <sup>ab</sup>	8.63 ± 3.40 <sup>abcd</sup>	3.23 ± 0.40 <sup>bcdde</sup>	7.22 ± 2.36 <sup>ab</sup>
CMI19003	3.77 ± 0.54 <sup>bc</sup>	2.21 ± 0.29 <sup>cde</sup>	3.32 ± 0.70 <sup>b</sup>	10.54 ± 1.73 <sup>a</sup>	5.71 ± 2.57 <sup>bcd</sup>	6.65 ± 2.01 <sup>ab</sup>
control	0.00 ± 0.00 <sup>d</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>f</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>f</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>e</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> Mean followed by the same letter are not significantly different by Duncan's new multiple range test (P < 0.05)

<sup>2</sup> DAI = days after inoculation, <sup>3</sup> KDML105 = Khao Dawk Mali 105, <sup>4</sup> SPT1 = San Pa Tong1,

<sup>5</sup> RD6 = Rice Department6

### การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวในห้องปฏิบัติการ

จากผลการศึกษาหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบว่า สารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* ได้ดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 100 รองลงมาคือ mancozeb และ azoxystrobin + tebuconazole โดยยับยั้งได้ร้อยละ 85.06 และ 80 ตามลำดับ และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Figure 2A และ Table 3) ส่วนการทดสอบกับเชื้อรา *R. oryzae* พบว่า สารป้องกันกำจัดเชื้อรา mancozeb มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

ได้ดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 100 รองลงมาคือ azoxystrobin + tebuconazole และ prochloraz + propiconazole โดยยับยั้งได้ร้อยละ 90.82 และ 85.06 ตามลำดับ และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Figure 2B และ Table 3) และการทดสอบกับเชื้อรา *R. oryzae-sativae* พบว่า สารป้องกันกำจัดเชื้อรา azoxystrobin + tebuconazole และ carbendazim มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 100 รองลงมาคือ mancozeb โดยยับยั้งได้ร้อยละ 73.65 และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Figure 2C และ Table 3) โดยจากผลการทดลองซึ่งพบว่า สาร azoxystrobin + tebuconazole ซึ่งเป็น

สารเคมีในกลุ่ม methoxy-acrylate + triazole ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *R. solani* ได้ดีนั้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Datta *et al.* (2016) ที่รายงานว่า สารป้องกันกำจัดเชื้อรา tebuconazole ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม triazole มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารป้องกันกำจัด

เชื้อรา difenoconazole, hexaconazole และ propiconazole ที่ให้ผลในการยับยั้งน้อยกว่า และ สอดคล้องกับรายงานของ Lanoiselet *et al.* (2005) ซึ่งพบว่า สารป้องกันกำจัดเชื้อรา azoxystrobin ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. oryzae* ได้ถึง ร้อยละ 50

**Table 3** Percent inhibition on mycelial growth of *R. solani*, *R. oryzae* and *R. oryzae-sativae* after incubated on PDA at 7 days

Treatment	Rate	Mycelium growth inhibition (%) <sup>1</sup>		
		<i>R. solani</i>	<i>R. oryzae</i>	<i>R. oryzae-sativae</i>
azoxystrobin+tebuconazole	0.5 mL/L	80.00 ± 1.38 <sup>b</sup>	90.82 ± 0.53 <sup>b</sup>	100.00 ± 0.00 <sup>a</sup>
cabendazim	1 mL/L	100.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>f</sup>	100.00 ± 0.00 <sup>a</sup>
difenoconazole	0.25 mL/L	4.00 ± 6.41 <sup>d</sup>	76.59 ± 2.33 <sup>d</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>e</sup>
mancozeb	3 g/L	85.06 ± 1.42 <sup>b</sup>	100.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	73.65 ± 2.05 <sup>b</sup>
prochloraz+propiconazole	0.75 mL/L	30.59 ± 8.87 <sup>c</sup>	85.06 ± 0.32 <sup>c</sup>	60.35 ± 1.69 <sup>c</sup>
validamycin	2.5 mL/L	0.00 ± 0.00 <sup>d</sup>	6.23 ± 2.58 <sup>e</sup>	31.18 ± 2.04 <sup>d</sup>
control		0.00 ± 0.00 <sup>d</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>f</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>e</sup>

<sup>1</sup> Mean followed by the same letter are not significantly different by Duncan's new multiple rang test (P < 0.05)

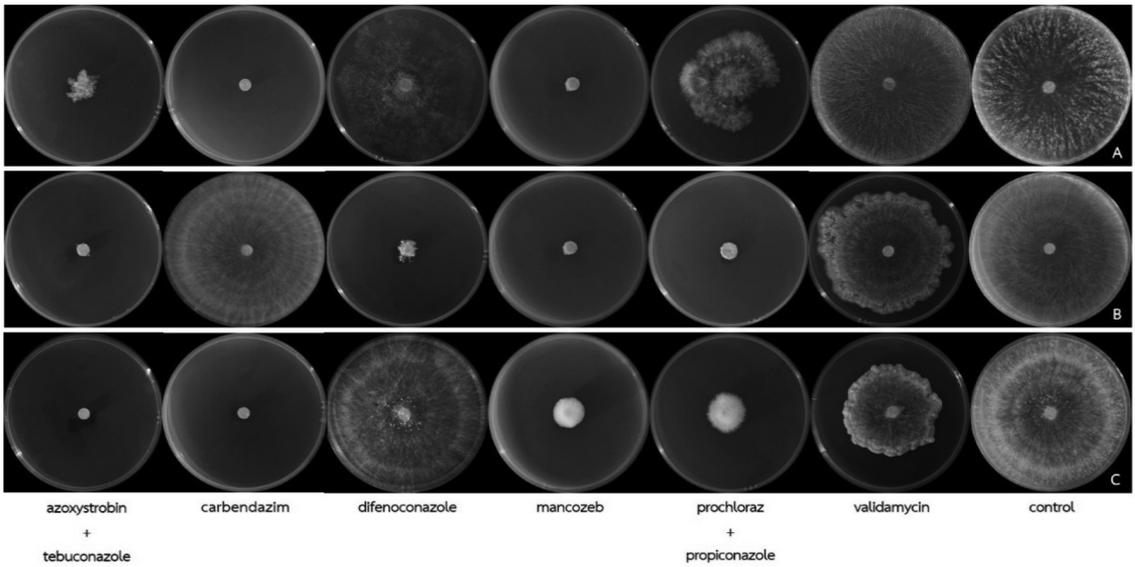


Figure 2 Effect of fungicides on mycelial growth of *R. solani* (A), *R. oryzae* (B) and *R. oryzae-sativae* (C) at 7 days after incubation

**การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวในโรงเรือนทดลอง**

หลังพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อราครั้งที่ 2 เป็นเวลา 7 วัน พบว่า สารป้องกันกำจัดเชื้อรา azoxystrobin + tebuconazole มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกาบใบแห้ง และโรคกาบใบจุด ได้ดีที่สุด โดยผลมีขนาดเล็กที่สุด เท่ากับ 4.75 และ 4.17 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีร้อยละของการยับยั้งการเกิดโรคมามากที่สุดเท่ากับ 55.17 และ 58 ตามลำดับ และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Figures 3A, 3H และ Table 4) และสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim และ azoxystrobin + tebuconazole มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกาบใบจุดรวม ได้ดีที่สุด โดยผลมีขนาดเล็กที่สุด เท่ากับ 0.25

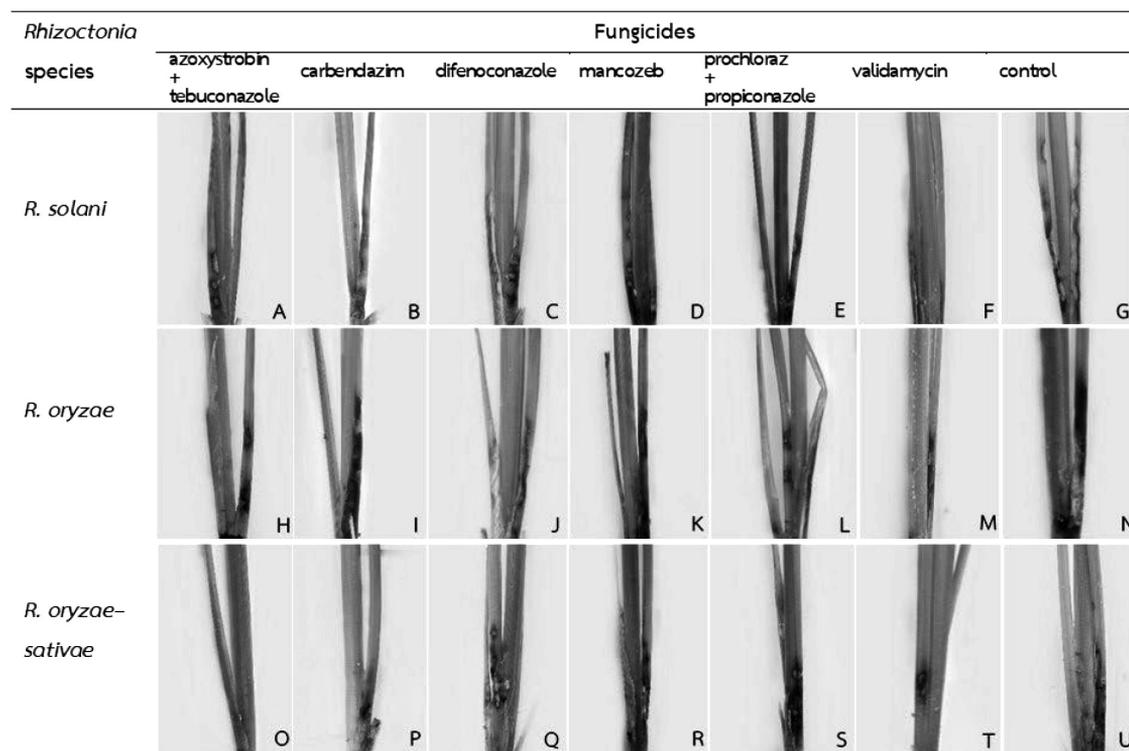
และ 0.58 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคมามากที่สุด ร้อยละ 97.27 และ 93.18 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Figures 3P, 3O และ Table 4) ผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Pramesh *et al.* (2016) ที่ศึกษาสารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดผสม เพื่อควบคุมโรคกาบใบแห้งข้าวในแปลงนา พบว่า การใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดผสมระหว่าง azoxystrobin 11% + tebuconazole 18.3% ความเข้มข้น 1,000 กรัมต่อเฮกตาร์ สามารถควบคุมโรคกาบใบแห้งข้าวได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา azoxystrobin, tebuconazole หรือ validamycin ชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียว

**Table 4** Effect of different fungicides on sheath disease in rice

Treatment	Lesion length (cm) <sup>1</sup>			Disease inhibition (%) <sup>1</sup>		
	7DA2A <sup>2</sup>			7DA2A		
	SB <sup>3</sup>	SS <sup>4</sup>	ASS <sup>5</sup>	SB	SS	ASS
azoxystrobin+tebuconazole	4.75 ± 1.26 <sup>d</sup>	4.17 ± 1.32 <sup>b</sup>	0.58 ± 0.96 <sup>d</sup>	55.17 ± 16.98 <sup>a</sup>	58.00 ± 14.30 <sup>a</sup>	93.18 ± 10.8 <sup>a</sup>
carbendazim	7.92 ± 1.92 <sup>bc</sup>	9.12 ± 2.10 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.29 <sup>d</sup>	27.98 ± 14.85 <sup>bcd</sup>	13.92 ± 19.70 <sup>b</sup>	97.27 ± 3.16 <sup>a</sup>
difenoconazole	9.96 ± 1.79 <sup>ab</sup>	8.63 ± 1.84 <sup>a</sup>	6.21 ± 0.97 <sup>b</sup>	9.67 ± 6.82 <sup>de</sup>	19.03 ± 15.50 <sup>b</sup>	24.83 ± 21.50 <sup>c</sup>
mancozeb	7.88 ± 1.07 <sup>bc</sup>	8.88 ± 1.28 <sup>a</sup>	6.29 ± 1.25 <sup>b</sup>	27.22 ± 14.96 <sup>cd</sup>	16.10 ± 14.30 <sup>b</sup>	25.63 ± 11.70 <sup>c</sup>
prochloraz+propiconazole	7.00 ± 0.36 <sup>cd</sup>	8.42 ± 0.62 <sup>a</sup>	5.70 ± 1.87 <sup>b</sup>	35.28 ± 9.87 <sup>abc</sup>	20.51 ± 8.71 <sup>b</sup>	33.28 ± 15.40 <sup>c</sup>
validamycin	5.83 ± 3.27 <sup>cd</sup>	8.25 ± 2.45 <sup>a</sup>	3.00 ± 2.12 <sup>c</sup>	48.87 ± 20.26 <sup>ab</sup>	23.06 ± 19.13 <sup>b</sup>	62.79 ± 28.8 <sup>b</sup>
control	11.00 ± 1.65 <sup>a</sup>	10.63 ± 0.53 <sup>a</sup>	8.46 ± 0.98 <sup>a</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>e</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>d</sup>

<sup>1</sup> Mean followed by the same letter are not significantly different by Duncan's new multiple range test (P < 0.05)

<sup>2</sup> 7 DA2A = 7 days after second application, <sup>3</sup> SB = sheath blight, <sup>4</sup> SS = sheath spot and <sup>5</sup> ASS = aggregate sheath spot



**Figure 3** Effect of fungicides to control sheath disease symptoms in KDML105 rice cultivar at 7 days after inoculated with *R. solani* (A-G), *R. oryzae* (H-N), *R. oryzae-sativae* (O-U) and applied with different fungicides

## สรุป

การสำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการของโรคจากแปลงนาในภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดแพร่ น่าน เชียงราย พะเยา เชียงใหม่ และลำพูน ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 สามารถแยกและจำแนกได้เชื้อรา *Rhizoctonia solani* จำนวน 18 ไอโซเลท เชื้อรา *Rhizoctonia oryzae* จำนวน 2 ไอโซเลท และเชื้อรา *Rhizoctonia oryzae-sativae* จำนวน 34 ไอโซเลท ผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรค พบว่า เชื้อรา *R. solani* เป็นสาเหตุของอาการกาบใบแห้ง เชื้อรา *R. oryzae* เป็นสาเหตุของอาการกาบใบจุด และเชื้อรา *R. oryzae-sativae* เป็นสาเหตุของอาการกาบใบจุดรวม ผลการศึกษาประสิทธิภาพของป้องกันกำจัดเชื้อราในห้องปฏิบัติการ พบว่า สารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *R. solani*, *R. oryzae* และ *R. oryzae-sativae* ได้ดีที่สุดร้อยละ 100 ได้แก่ carbendazim,

mancozeb และ azoxystrobin + tebuconazole ตามลำดับ การทดสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า azoxystrobin + tebuconazole เป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกาบใบข้าวที่แสดงอาการจากเชื้อรา *Rhizoctonia* ทั้ง 3 ชนิด คือ *R. solani*, *R. oryzae* และ *R. oryzae-sativae* ได้ดีที่สุด โดยแผลบนกาบใบมีขนาดเท่ากับ 4.75, 4.17 และ 0.58 เซนติเมตร ตามลำดับ และสามารถยับยั้งการเกิดโรคบนกาบใบข้าวได้ร้อยละ 55.17, 58.00 และ 93.18 ตามลำดับ

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยข้าวแพร่ ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ วัสดุอุปกรณ์ ในการจำแนกชนิดของเชื้อราโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล และเมล็ดพันธุ์ข้าวในการทดสอบในสภาพโรงเรือนทดลอง สำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- Department of Agriculture. 2016. Index of Plant Disease in Thailand. Department of Agriculture, Plant Pathology Research Group, Plant Protection Research and Development Office. 280 pp. (in Thai)
- Disatapom, S. 1982. Rice Disease and Prevention. Department of Agriculture, Plant Pathology Research Group, Plant Protection Research and Development Office. 48 pp. (in Thai)
- Agrios, G. 2005. Plant Pathology. 5<sup>th</sup> edition. Elsevier Academic Press, USA. 922 pp.
- Datta, S., P. Dey, A. Sarkar, J. Tarafdar and A. Chowdhury. 2016. Comparison among four triazole fungicides on growth and development of sheath blight of rice pathogen *Rhizoctonia solani* Kühn AG1-1A. Arch. Phytopathol. Plant Prot. 49: 239-251.
- El-Shafey, R.A., R.M. Elamawi, M.M. Saleh, A.M. Tphoon and A.A. Emeran. 2019. Morphological, pathological and molecular characterization of rice sheath blight disease causal organism *Rhizoctonia solani* AG-1 IA in Egypt. Arch. Phytopathol. Plant Prot. 52: 507-529.
- Groth, D.E. and J.A. Bond. 2007. Effects of cultivars and fungicides on rice sheath blight, yield, and quality. Plant Dis. 91: 1647-1650.

- Kim, W.G. 1993. Morphological and cultural characteristics of fungi causing rice sclerotial diseases. *Kr. J. Mycol.* 21: 16–22.
- Kumar, V., V.P. Chaudhary, D. Kumar, A. Kumar, S. Sagar and S. Chaudhary. 2017. Efficacy of botanicals and fungicides against *Rhizoctonia solani* inciting sheath blight disease on rice (*Oryza sativa* L.). *J. Appl. Nat. Sci.* 9: 1916–1920.
- Lanoiselet, V.M., G.J. Ash, E.J. Cother, M.J. Priest and A. Watson. 2001. First report of *Waitea circinate* causing sheath spot and *Rhizoctonia oryzae-sativae* causing aggregate sheath spot on rice in south-eastern Australia. *Australas. Plant Pathol.* 30: 369–370.
- Lanoiselet, V.L., E.J. Cother, G.J. Ash and J.D.I. Harper. 2005. Yield loss in rice caused by *Rhizoctonia oryzae* and *R. oryzae-sativae* in Australia. *Australas. Plant Pathol.* 34: 175–179.
- Lanoiselet, V.M., E.J. Cother and G.J. Ash. 2007. Aggregate sheath spot and sheath spot of rice. *Crop Prot.* 26: 799–808.
- Mughal, M.N., S. Bashir, N.A. Bhat and K.A. Bhat. 2017. Cultural and morphological variability and identification of anastomosis group of *Rhizoctonia solani* (*Thanatephorus cucumeris*) causing sheath blight of rice in Kashmir. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 6: 3787–3794.
- Nagaraj, B.T., G. Sunkad, P. Devenna, M.K. Naik and M.B. Patil. 2019. Characterization of *Rhizoctonia* species complex associated with rice sheath disease in Karnataka. *Agric. Res.* 8: 191–196.
- Ou, S.H. 1985. *Rice Diseases*. 2<sup>nd</sup> edition. Commonwealth Mycological Institute, Philippines. 380 pp.
- Okubara, P.A., K.L. Schroeder and T.C. Paulitz. 2008. Identification and quantification of *Rhizoctonia solani* and *R. oryzae* using real-time polymerase chain reaction. *Phytopathology* 98: 837–847.
- Park, D.S., R.J. Saylor, Y.G. Hong, M.H. Nam and Y. Yang. 2008. A method for inoculation and evaluation of rice sheath blight disease. *Plant Dis.* 92: 25–29.
- Persaud, R., A. Khan, W.A. Isaac, W. Ganpat and D. Saravanakumar. 2019. Plant extracts, bioagents and new generation fungicides in the control of rice sheath blight in Guyana. *Crop Prot.* 119: 30–37.
- Pralhad, S.P., P.U. Krishnaraj and S.K. Prashanthi. 2019. Morphological and molecular characterization of *Rhizoctonia solani* causing sheath blight in rice. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 8: 1714–1721.

- Pramesh, D., Maruti, A. Saddamhusen, K.M. Muniraju and G.S. Guruprasad. 2016. A new combination fungicide active ingredients for management of sheath blight disease of paddy. *Adv. Res.* 8: 1–7.
- Than, P., R. Jeewon, K.D. Hyde, S. Pongsupasamit, O. Mongkolporn and P.W.J. Taylor. 2008. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathol.* 57: 562–572.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J.W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, pp. 315–322. *In* M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.L. White, eds. *PCR Protocols: A Guide to Methods Applications*. Academic Press, San Diego, CA, USA.