ผลของสารฆ่าราบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อย

Effects of some Fungicides on Growth Inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides*, Causal Agent of Onion Twister Disease

จรรยาภรณ์ ภูคัง[1/] **และพรสุข ชัยสุข**[1/*]

Janyaporn Phukang[1/] and Pornsuk Chaisuk[1/*]

[1/]*ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200*

[1/]*Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand*

**Corresponding author: Email: poohporn@gmail.com*

(Received: 9 February 2016; Accepted: 2 May 2016)

Abstract: Leaf twister diseased of shallot and onion were collected from 5 plantation areas in Chiang Mai and Lamphun provinces. The causative pathogen was isolated by tissue transplanting technique. Five isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* exhibited white to gray colony color and light orange color of spore mass were found as concentric ring in the middle of the colonies after cultured on potato dextrose agar (PDA) for 7-9 days. Slide cultures of the fungal morphological studies revealed hyaline-septate hyphae and conidia were cylindrical with both rounded apices and single cell. The pathogenicity tests conducted on shallot seedlings showed severe symptoms of more lesions and twisted leaves numbers after inoculation with the isolates 2, 3 and 4 when comparing with the control trials. Six fungicides including carbendazim, azoxystrobin, difenoconazole, azoxystrobin mixed with difenoconazole, maneb and mancozeb were used in testing of fungicide efficacy. Each fungicide was mixed into PDA medium at different concentrations, including the concentration of the recommended rate, 1/2 of recommended rate, 1/4 of recommended rate and 1/8 of recommended rate. The results showed that carbendazim, at all concentrations, exhibited the most effective in inhibiting the growth of fungi at 100% inhibition. The inhibition was statistically significant different in all concentrations when compared to mancozeb, with the lowest efficiency in inhibiting the growth of the fungus at inhibition percentages of 19.33, 18.56, 14.33 and 12.67, respectively. In addition, the result of the soaking *C. gloeosporioides* culture disc in each fungicides at different concentrations showed that all concentrations of carbendazim inhibited the growth of the fungus with the inhibition percentages of 100.00, 100.00, 100.00 and 90.00, respectively, and the differences were statistically significant when compared to maneb, the fungicide with the lowest efficiency in inhibiting the growth of fungi at inhibition percentages of 2.78, 1.39, 1.39 and 0.00, respectively.

Keywords: Onion twister disease, *Colletotrichum gloeosporioides*, shallot, onion, fungicide

บทคัดย่อ: จากการเก็บตัวอย่างโรคหอมเลื้อยของหอมแดง และหอมหัวใหญ่ จากพื้นที่เพาะปลูกในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดลำพูน จำนวน 5 พื้นที่ มาแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธีการแยกเชื้อจากชิ้นพืช พบเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 5 ไอโซเลท มีลักษณะโคโลนีสีขาวจนถึงสีเทา สร้างกลุ่มสปอร์สีส้มอ่อนตรงกลางโคโลนีเป็นวงซ้อนกันหลายชั้น หลังเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 7-9 วัน เส้นใยใสไม่มีสี มีผนังกั้น conidia เป็นรูปทรงกระบอก หัวและท้ายมน มีเซลล์เดียว เมื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค พบว่า ต้นกล้าหอมแดงที่ผ่านการปลูกเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลท เกิดแผลที่ใบและแสดงอาการใบเลื้อยเป็นจำนวนมาก เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยไอโซเลท 2, 3 และ 4 แสดงอาการของโรครุนแรงที่สุด เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าราจำนวน 6 ชนิด คือ carbendazim, azoxystrobin, difenoconazole, azoxystrobin ผสม difenoconazole, maneb และ mancozeb ด้วยวิธีผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ, 1 ใน 2 ของอัตราแนะนำ, 1 ใน 4 ของอัตราแนะนำ และ 1 ใน 8 ของอัตราแนะนำ พบว่า สารฆ่ารา carbendazim ที่ทุกความเข้มข้น มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 100%, ในทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสารฆ่าราที่มีประสิทธิภาพต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา คือ mancozeb โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 19.33, 18.56, 14.33 และ 12.67% ตามลำดับ และจากการทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าราทั้ง 6 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นข้างต้น โดยแช่ก้อนเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในสารฆ่ารา พบว่า สาร carbendazim ทุกความเข้มข้น มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเช่นกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 100.00, 100.00, 100.00 และ 90.00 % ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสารฆ่าราที่มีประสิทธิภาพต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา คือ maneb โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ยที่ 2.78, 1.39, 1.39 และ 0.00% ตามลำดับ

คำสำคัญ: โรคหอมเลื้อย *Colletotrichum gloeosporioides* หอมแดง หอมหัวใหญ่ สารฆ่ารา

คำนำ

หอมหัวใหญ่ (*Allium cepa*) และหอมแดง (*Allium ascalonicum*) จัดอยู่ในวงศ์ Alliaceae เช่นเดียวกับกระเทียม กุ้ยช่าย หรือพืชวงศ์พลับพลึง เป็นพืชที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของไทย ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหาร และอุตสาหกรรมอื่น ๆ (นิจศิริ, 2542) นอกจากนี้ ยังมีการผลิตหัวพันธุ์เพื่อการส่งออก ซึ่งนอกจากจะสร้างรายได้ให้แก่ประเทศแล้ว ยังเป็นประโยชน์โดยตรงต่อเกษตรกร สามารถเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรหลังการทำนาปี โดยประเทศไทยมีการผลิตหอมแดงและหอมหัวใหญ่ปีละหลายล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) ปัญหาในการผลิตส่วนใหญ่เกิดจากการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรูพืชต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคหอมเลื้อยที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งสร้างความเสียหายให้แก่เกษตรกรอย่างมาก โดยเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเชื้อราที่เข้าทำลายส่วนเหนือดินของพืช ทำให้เนื้อเยื่อใบเกิดอาการยุบตัว และลำต้นส่วนเหนือดินเอนล้มคล้ายอาการเลื้อย (นิตยา, 2545; Ebenebe, 1980) การใช้สารเคมีเพื่อควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการแก้ไขปัญหาโรคนี้ สารฆ่าราที่เกษตรกรนิยมใช้ในการควบคุมโรคหอมเลื้อยมีหลายชนิด แบ่งได้เป็นสองกลุ่ม คือ สารฆ่าราชนิดดูดซึม (systemic fungicide) มักมีความจำเพาะกับเชื้อสาเหตุโรค และสารฆ่าราแบบสัมผัส (contact fungicide) ซึ่งเป็นสารที่สามารถป้องกันกำจัดเชื้อราได้อย่างกว้างขวาง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อราบางชนิดในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกจากใบของหอมและกระเทียมที่เป็นโรคหอมเลื้อยระหว่างกระบวนการผลิตพืช เพื่อการเลือกใช้สารฆ่าราที่มีประสิทธิภาพและระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมเชื้อราชนิดนี้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยก และการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อสาเหตุโรค

1.1 การแยกเชื้อสาเหตุโรค

สุ่มเก็บตัวอย่างหอมแดงและหอมหัวใหญ่ที่แสดงอาการเป็นโรคหอมเลื้อยจาก 5 แหล่ง ซึ่งได้แก่ หอมแดงจากแปลงเพาะปลูก อ. สารภี จ. เชียงใหม่ หอมแดงจากแปลงเพาะปลูก ต. ป่าพลู อ. บ้านโฮ่ง จ. ลำพูน หอมแดงจากแปลงเพาะปลูก หมู่บ้านดงฤาษี อ. บ้านโฮ่ง จ. ลำพูน หอมหัวใหญ่จากแปลงเพาะปลูก อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ และหอมแดง จากแปลงปลูก อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ มาแยกเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting จากนั้นแยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี hyphal tip culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เพื่อใช้สำหรับการทดลองต่อไป

1.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อสาเหตุโรค

เลี้ยงเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากข้อ 1.1 ด้วยวิธี slide culture บนอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ทุกวัน จนพบการสร้างสปอร์ ตรวจสอบลักษณะสปอร์ของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

2. การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุโรค

เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคที่ได้จากข้อ 1.1 แต่ละไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเททับด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วขูดเบา ๆ ด้วยกระจกสไลด์เพื่อให้สปอร์หลุดจากผิวหน้าอาหาร กรองแยกเส้นใยออกด้วยผ้าขาวบาง ปรับระดับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยให้เท่ากับ 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร จากนั้นบรรจุลงในขวดสเปรย์ นำไปพ่นลงบนต้นกล้าหอมแดง อายุ 15 วัน ที่ปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และสังเกตอาการของโรคเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คัดเลือกเชื้อราที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคมากที่สุดไว้สำหรับทดสอบต่อไป

3. การทดสอบผลของสารฆ่าราต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค

ในการทดสอบผลของสารฆ่าราต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค ใช้วิธีที่แตกต่างกัน 2 วิธี ดังนี้

3.1 Poisonous agar method

คัดเลือกสารฆ่าราที่เกษตรกรนิยมใช้ในการป้องกันกำจัดโรคหอมเลื้อยมา 6 ชนิด ได้แก่ carbendazim, azoxystrobin, difenoconazole, azoxystrobin ผสม difenoconazole, maneb และ mancozeb นำสารฆ่าราแต่ละชนิดผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แบ่งการทดลองของสารฆ่าราแต่ละชนิดเป็น 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ตามระดับความเข้มข้น ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่ผสมสารฆ่าราเชื้อ (ชุดควบคุม)
- กรรมวิธีที่ 2 ระดับความเข้มข้นเท่าอัตราแนะนำ
- กรรมวิธีที่ 3 ระดับความเข้มข้น 1 ใน 2 ของอัตราแนะนำ
- กรรมวิธีที่ 4 ระดับความเข้มข้น 1 ใน 4 ของอัตราแนะนำ
- กรรมวิธีที่ 5 ระดับความเข้มข้น 1 ใน 8 ของอัตราแนะนำ

โดยระดับความเข้มข้นที่ใช้นั้น มีความแตกต่างกันตามอัตราแนะนำของสารฆ่าราแต่ละชนิด (ตารางที่ 1) จากนั้นนำเชื้อราสาเหตุโรคไอโซเลทที่มีความสามารถในการก่อให้เกิดโรคมากที่สุดจากการทดลองข้อ 2 วางลงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารฆ่าราชนิดต่าง ๆ แล้วบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) สังเกตลักษณะการเจริญ และบันทึกขนาดโคโลนี หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (percent inhibition of radial growth; PIRG) จากสูตรต่อไปนี้

$$\%PIRG = \frac{\text{เส้นรัศมีโคโลนีชุดควบคุม} - \text{เส้นรัศมีโคโลนีชุดการทดลอง}}{\text{เส้นรัศมีโคโลนีชุดควบคุม}} \times 100$$

Table 1 The concentration of fungicides used in each treatment

Fungicides (common name)	Concentration (ppm)			
	Recommended rate	1/2 Recommended rate	1/4 Recommended rate	1/8 Recommended rate
Systemic fungicide:				
carbendazim	500	250	125	62.5
azoxystrobin	62.5	31.25	15.625	7.8125
difenoconazole	125	62.5	31.25	15.625
azoxystrobin + difenoconazole	325	162.5	81.25	40.625
Contact fungicide:				
maneb	1600	800	400	200
mancozeb	1920	960	480	240

3.2 Fungicide soaking method

นำ culture disc ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร ของเชื้อสาเหตุโรค ไอโซเลทที่มีความสามารถในการก่อให้เกิดโรคมากที่สุด แช่ในสารฆ่าเชื้อราแต่ละชนิด เช่นเดียวกับข้อ 3.1 เป็นเวลา 10 นาที แล้ววางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อเจริญเป็นเวลา 10 วัน สังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อรา และบันทึกขนาดโคโลนี จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) แบ่งการทดลองของสารฆ่าเชื้อราแต่ละชนิดเป็น 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ เช่นเดียวกับกรรมวิธีในข้อ 3.1

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การแยก และการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรค

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างหอมแดง และหอมหัวใหญ่ ที่แสดงอาการโรคหอมเลื้อย จากพื้นที่เพาะปลูกที่แตกต่างกัน 5 พื้นที่ พบการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนลำต้นและบริเวณส่วนเหนือดินของพืช โดยลักษณะแผลและอาการของพืชในแต่ละพื้นที่ที่ถูกเชื้อเข้าทำลายมีลักษณะไม่แตกต่างกัน คือ เนื้อเยื่อแผลยุบตัวลงเล็กน้อย มีสีเขียวซีดถึงสีน้ำตาล เมื่อมีความชื้นสูงจะพบกลุ่มสปอร์สีส้มอ่อนจนถึงสีน้ำตาลบนแผล ลำต้นยืดยาว และเลื้อย โดยเชื้อเข้าทำลายเฉพาะส่วนเหนือดิน (ภาพที่ 1)

จากการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคหอมเลื้อย สามารถแบ่งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้เป็น 5 ไอโซเลท ได้แก่

ไอโซเลท 1 แยกได้จากใบหอมแดงเป็นโรค ที่เก็บจากแปลงเพาะปลูก อ. สารภี จ. เชียงใหม่ พบลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีเส้นใยสีขาวฟูจนถึงเทา เจริญขึ้นมาเหนือผิวหน้าอาหาร ลักษณะคล้ายสำลี ภายในเวลา 7 วัน สามารถเจริญจนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และสร้างกลุ่มสปอร์สีส้มอมชมพูตรงกลางโคโลนี ซ้อนกันเป็นวงหลายชั้น (ภาพที่ 2a) เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบว่า เชื้อราสร้าง conidia รูปรี มีเซลล์เดียว เส้นใยไม่มีสี และมีผนังกั้น แต่ไม่พบการสร้าง setae (ภาพที่ 2b)

ไอโซเลท 2 แยกได้จากใบหอมแดงเป็นโรค ที่เก็บจากแปลงเพาะปลูก ต. ป่าพลู อ. บ้านโฮ่ง จ. ลำพูน พบลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีเส้นใยสีขาวฟูขึ้นมาเหนือผิวหน้าอาหาร ลักษณะคล้ายสำลี ภายในเวลา 7 วัน สามารถเจริญจนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และสร้างกลุ่มสปอร์สีส้มอมชมพูตรงกลางโคโลนี

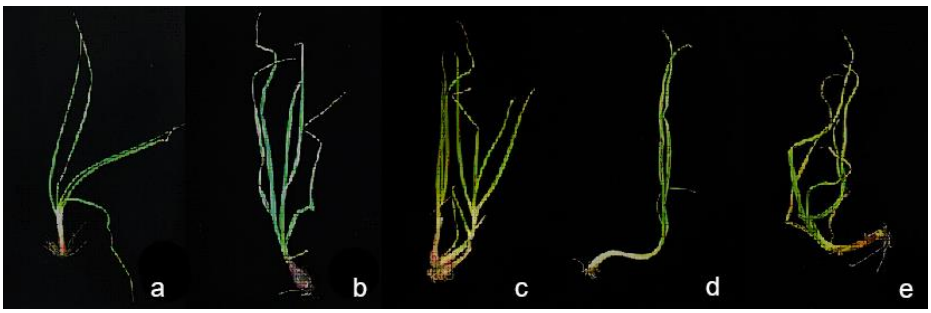


Figure 1 Onion twister symptom on *Allium* spp. from 5 locations
(a) shallot from Saraphi district, Chiang Mai province
(b) shallot from Pa Plu sub-district, Ban Hong district, Lamphun province
(c) shallot from Ban Hong sub-district, Ban Hong district, Lamphun province
(d) onion from Mae Wang district, Chiang Mai province
(e) shallot from Mae Wang district, Chiang Mai province

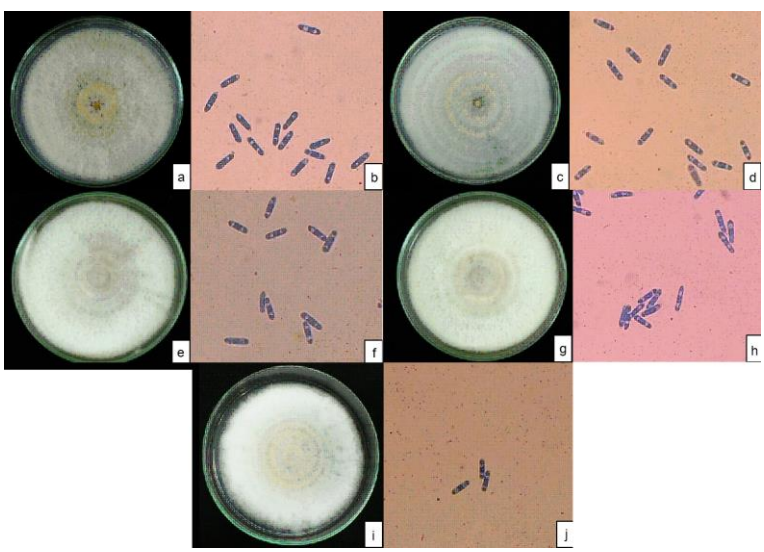


Figure 2 Colonies and conidia of *Colletotrichum gloeosporioides* five isolates
(a) colony of isolate 1 on PDA media for 7 days
(b) conidia of isolate 1 under the light microsope 400X
(c) colony of isolate 2 on PDA media for 7 days
(d) conidia of isolate 2 under the light microsope 400X
(e) colony of isolate 3 on PDA media for 7 days
(f) conidia of isolate 3 under the light microsope 400X
(g) colony of isolate 4 on PDA media for 7 days
(h) conidia of isolate 4 under the light microsope 400X
(i) colony of isolate 5 on PDA media for 9 days
(j) conidia of isolate 5 under the light microsope 400X

ซ้อนกันเป็นวงหลายชั้นอย่างหนาแน่น (ภาพที่ 2c) เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบว่า เชื้อราสร้าง conidia รูปรี มีเซลล์เดียว เส้นใยไม่มีสี และมีผนังกั้น แต่ไม่พบการสร้าง setae (ภาพที่ 2d)

ไอโซเลท 3 แยกได้จากใบหอมแดงเป็นโรค ที่เก็บจากแปลงเพาะปลูก หมู่บ้านดงฤาษี อ. บ้านโฮ่ง จ. ลำพูน พบลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีเส้นใยสีขาวฟูขึ้นมาเหนือผิวหน้าอาหาร ลักษณะคล้ายสำลี และมีเส้นใยสีเทาเจริญจากกลางโคโลนีเป็นรูปตัววีไปจนถึงขอบโคโลนี ใช้เวลา 7 วัน ในการเจริญจนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และสร้างกลุ่มสปอร์สีส้มอมชมพูตรงกลางโคโลนีซ้อนกันเป็นวงหลายชั้น (ภาพที่ 2e) เมื่อศึกษาลักษณะสัณฐานทางวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบว่า เชื้อราสร้าง conidia รูปรี มีเซลล์เดียว เส้นใยไม่มีสี และมีผนังกั้น ไม่พบการสร้าง setae (ภาพที่ 2f)

ไอโซเลท 4 แยกได้จากใบหอมหัวใหญ่เป็นโรคที่เก็บจากแปลงเพาะปลูก อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ พบลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีเส้นใยสีขาวฟูขึ้นมาเหนือผิวหน้าอาหาร ลักษณะคล้ายสำลี ภายในเวลา 7 วัน สามารถเจริญจนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และสร้างกลุ่มสปอร์สีส้มอมชมพูตรงกลางโคโลนีซ้อนกันเป็นวงหลายชั้น (ภาพที่ 2g) เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบว่า เชื้อราสร้าง conidia รูปรี มีเซลล์เดียว เส้นใยไม่มีสี และมีผนังกั้น แต่ไม่พบการสร้าง setae (ภาพที่ 2h)

ไอโซเลท 5 แยกได้จากใบหอมแดงเป็นโรค ที่เก็บจากแปลงปลูก อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ พบลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีเส้นใยสีขาวฟูขึ้นมาเหนือผิวหน้าอาหาร และเจริญอัดกันลักษณะคล้ายสำลี ภายในเวลา 9 วัน สามารถเจริญจนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และสร้างกลุ่มสปอร์สีส้มอมชมพูตรงกลางโคโลนีและซ้อนกันเป็นวงหลายชั้น (ภาพที่ 2i) เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบว่า เชื้อราสร้าง conidia รูปรี มีเซลล์เดียว เส้นใยไม่มีสี และมีผนังกั้น แต่ไม่พบการสร้าง setae (ภาพที่ 2j)

2. การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค

จากการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 5 ไอโซเลท เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน พบว่า ต้นกล้าหอมแดงที่ทำการปลูกเชื้อแต่ละไอโซเลท มีจำนวนแผลเพิ่มขึ้น พบอาการยุบตัวของเนื้อเยื่อบริเวณใบเล็กน้อย แผลมีสีเขียวคล้ำ เมื่อสังเกตบริเวณแผลสามารถมองเห็นกลุ่มสปอร์สีส้มอ่อนอมชมพู ใบแสดงอาการยืดยาวออกและเลี้ยว โดยทั้ง 5 ไอโซเลท มีจำนวนแผลที่แตกต่างกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า เชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท มีความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับหอมแดงได้รุนแรงต่างกัน โดยไอโซเลท 2 ไอโซเลท 3 และ ไอโซเลท 4 มีความรุนแรงของการเกิดโรคสูงที่สุด รองลงมาคือ ไอโซเลท 1 และไอโซเลท 5 ซึ่งลักษณะการก่อให้เกิดโรคต่อจำนวนแผลแตกต่างกันกับชุดควบคุม แต่ไอโซเลท 5 ไม่มีความแตกต่างของขนาดแผลเมื่อเปรียบเทียบกับกับชุดควบคุม (ตารางที่ 2 และภาพที่ 3) และได้คัดเลือกเชื้อไอโซเลท 4 ไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. ผลของสารฆ่าราต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

3.1 Poisonous agar method

จากการทดสอบผลของสารฆ่าราต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท 4 ด้วยวิธี poisonous agar method พบว่า เชื้อรามีความอ่อนแออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อสาร carbendazim มากที่สุด รองลงมาคือ difenoconazole, azoxystrobin ผสม difenoconazole, azoxystrobin, maneb และ mancozeb ตามลำดับ โดย carbendazim ที่ทุกระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้สูงที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เท่ากับ 100% และ mancozeb ที่ทุกระดับความเข้มข้น ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 1 ใน 8 ของอัตราแนะนำ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้น้อยที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เท่ากับ 19.33, 18.56 และ 14.33% ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 1 ใน 8 ของอัตราแนะนำ maneb สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้น้อยที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เท่ากับ 6.89% (ตารางที่ 3) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารฆ่าราชนิดดูดซึมสามารถเคลื่อนย้ายไปกับน้ำได้ อีกทั้งสารฆ่าราชนิด

Table 2 The size and number of the lesions on the shallot seedlings after inoculation with each of five isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* for 7 days

Isolate	Lesions size/plant[1/] (cm)	Lesions no./plant[1/] (lesions)
Control (non-inoculated)	0.00[c]	0.00[c]
Isolate 1	3.50[b]	1.33[b]
Isolate 2	7.23[a]	2.33[a]
Isolate 3	7.13[a]	2.67[a]
Isolate 4	7.17[a]	3.00[a]
Isolate 5	3.17[bc]	1.00[b]
$LSD_{0.05}$	3.42	0.72
CV (%)	40.99	23.70

[1/] Value with different letters within a column were significantly different according to least significant difference (LSD) at $P \leq 0.05$

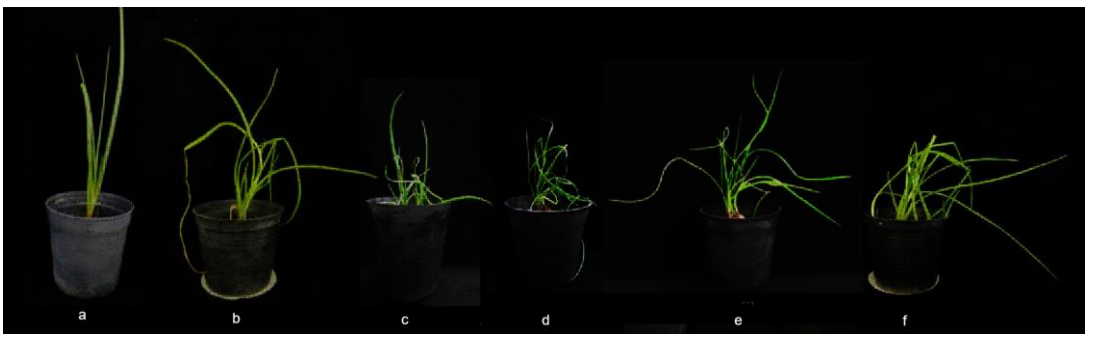


Figure 3 Onion twister symptom on shallot seedlings after *Colletotrichum gloeosporioides* five isolates inoculation for 7 days
(a) control (non-inoculated) (b) isolate 1 (c) isolate 2
(d) isolate 3 (e) isolate 4 (f) isolate 5

ดูดซึมที่นำมาทดลอง เป็นสารที่ค่อนข้างเจาะจงต่อเชื้อสาเหตุโรค (Lim, 1980) โดย carbendazim มีบทบาทในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในชั้น ascomycota ซึ่งเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเชื้อราในชั้นนี้ มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) และยับยั้งหน่วยย่อยของไมโตคอนเดรียที่จะสร้างสปินเดิลไฟเบอร์ (spindle fiber) จึงทำให้โครมาติด (chromatid) ไม่สามารถแยกจากกันเป็นนิวเคลียสใหม่ได้ มีผลต่อการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส (mitosis) ดังนั้น จึงไม่พบการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนผิวอาหารของที่ทดลอง (ธรรมศักดิ์, 2543)

3.2 Fungicide soaking method

จากการทดสอบผลของสารฆ่าราต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท 4 ด้วยวิธี fungicide soaking method พบว่า เชื้อรามีความอ่อนแอต่อสาร carbendazim มากที่สุด รองลงมาคือ azoxystrobin ผสม difenoconazole, azoxystrobin, difenoconazole, mancozeb และ maneb ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ carbendazim ที่ทุกระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้สูงที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราเท่ากับ 100.00, 100.00, 100.00 และ 90.00 % และที่ทุกระดับความเข้มข้น ยกเว้นระดับความเข้มข้น 1 ใน 4 ของอัตราแนะนำ maneb สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้น้อยที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราเท่ากับ 2.78, 1.39 และ 0.00% (เท่ากับ mancozeb) ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 1 ใน 4 ของอัตราแนะนำและระดับความเข้มข้น 1 ใน 8 ของอัตราแนะนำ

mancozeb มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เท่ากับ 0.00 และ 0.00 % (ตารางที่ 4) ซึ่งผลการทดลอง โดยรวมมีความสอดคล้องกับการทดลองด้วยวิธี poisonous media method ในข้อ 3.1

Table 3 Growth inhibition percentage of *Colletotrichum gloeosporioides* isolate 4 on PDA media by poisonous agar method

Fungicides (common name)	Growth inhibition percentage of *Colletotrichum gloeosporioides* isolate 4[1/]			
	Recommended rate	1/2 Recommended rate	1/4 Recommended rate	1/8 Recommended rate
Systemic fungicide:				
carbendazim	100.00[a]	100.00[a]	100.00[a]	100.00[a]
azoxystrobin	73.33[c]	58.78[d]	55.11[c]	46.89[d]
difenoconazole	100.00[a]	84.44[b]	75.78[b]	66.00[b]
azoxystrobin + difenoconazole	81.33[b]	79.11[c]	75.67[b]	63.00[c]
Contact fungicide:				
maneb	30.44[d]	22.33[e]	17.33[d]	6.89[f]
mancozeb	19.33[e]	18.56[f]	14.33[f]	12.67[e]
$LSD_{0.05}$	0.84	1.72	2.20	1.67
CV (%)	0.99	2.26	3.09	2.70

[1/] Value with different letters within a column were significantly different according to least significant difference (LSD) at $P \leq 0.05$

Table 4 Growth inhibition percentage of *Colletotrichum gloeosporioides* isolate 4 on PDA media by fungicide soaking method

Fungicides	Growth inhibition percentage of *Colletotrichum gloeosporioides* isolate 4[1/]			
	Recommended rate	1/2 Recommended rate	1/4 Recommended rate	1/8 Recommended rate
Systemic fungicide:				
carbendazim	100.00[a]	100.00[a]	100.00[a]	90.00[a]
azoxystrobin	52.22[b]	41.67[c]	36.67[c]	19.44[b]
difenoconazole	26.67[c]	17.78[d]	16.11[d]	4.44[c]
azoxystrobin + difenoconazole	49.58[b]	48.33[b]	46.11[b]	23.33[b]
Contact fungicide:				
maneb	2.78[e]	1.39[ef]	1.39[e]	0.00[c]
mancozeb	10.42[d]	2.78[e]	0.00[e]	0.00[c]
$LSD_{0.05}$	3.20	1.81	1.68	5.14
CV (%)	6.30	4.06	4.00	17.84

[1/] Value with different letters within a column were significantly different according to least significant difference (LSD) at $P \leq 0.05$

สรุป

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่ารา 6 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยของหอมแดง ไอโซเลทที่แยกจากใบของหอมหัวใหญ่ที่เป็นโรค พบว่า การทดสอบด้วยวิธี poisonous agar method และ fungicide soaking method ให้ผลการทดสอบประสิทธิภาพไปในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ carbendacim ที่ทุกความเข้มข้น มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ แม้จะมีรายงานว่า เชื้อราชนิดนี้ที่เข้าทำลายสตรอว์เบอรี่สามารถต้านทานสารฆ่ารา carbendacim ได้ก็ตาม (วรุตม์ และสรัญยา, 2557) ขณะที่ azoxystrobin ผสม difenoconazole, azoxystrobin, difenoconazole, mancozeb และ maneb มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราลดลงตามระดับความเข้มข้นที่ลดลงในชุดทดสอบ นอกจากนั้นยังพบว่า mancozeb และ maneb เป็นสารฆ่าราที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคหอมเลื้อยได้ต่ำสุดในทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสารฆ่าราอีก 4 ชนิดที่เหลือ แสดงให้เห็นว่าสารฆ่าราทั้งสองชนิดดังกล่าวไม่สามารถควบคุมโรคหอมเลื้อยได้ ดังนั้น carbendacim จึงเป็นสารฆ่าราที่เหมาะสมในการควบคุมโรคหอมเลื้อยของหอมแดงที่เกิดจากเชื้อ *C. gloeosporioides*

เอกสารอ้างอิง

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2543. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 371 หน้า.

นิจศิริ เรืองรังษี. 2542. เครื่องเทศ. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 205 หน้า.

นิตยา กันหลง. 2545. สมุดภาพโรคสำคัญของพืชสกุลหอมกระเทียมในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 197 หน้า.

วรุตม์ ใจปิน และสรัญยา ณ ลำปาง. 2557. ผลของเชื้อแอกติโนไมซีสจากดินต่อการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของสตรอว์เบอร์รีที่ต้านทานต่อคาร์เบนดาซิม. วารสารเกษตร 30(1): 1-10.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2558. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/ewt_news.php?nid=13577 (4 กันยายน 2558).

Ebenebe, A.C. 1980. Onion twister disease caused by *Glomerella cingulata* in Northern Nigeria. Plant Disease 64(11): 1030-1032.

Lim, T.K. 1980. Chemical control of mango anthracnose in Malaysia *in vitro* fungitoxicity of selected chemicals. Pertanika 3(1): 5-9.