การประเมินความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงอกร่อง ในจังหวัดจันทบุรี

Evaluation of fungicide carbendazim resistance in *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease of mango cv. Aokrong in Chanthaburi province

พิกุล นุชนวลรัตน์[1*] และ นภาพร จิตต์ศรัทธา[1]

Phikun Nuchnuanrat[1*] and Napaporn Jitsatta[1]

บทคัดย่อ

การแยกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพันธุ์อกร่องจากจังหวัดจันทบุรี ด้วยวิธีการ tissue transplanting สามารถแยกเชื้อราสาเหตุโรคได้ทั้งหมด 27 ไอโซเลต เมื่อทำการประเมินความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม โดยเลี้ยงเชื้อราทุกไอโซเลตบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ที่ผสมสารคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 100, 500 และ 1,000 ppm ผลการประเมินระดับความต้านทานของเชื้อราต่อสารคาร์เบนดาซิม พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 14 ไอโซเลต (51.85 เปอร์เซ็นต์) มีความต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมระดับสูง (highly resistance: HR) และมีจำนวน 13 ไอโซเลต (48.15 เปอร์เซ็นต์) ที่อ่อนแอต่อสารคาร์เบนดาซิม (sensitive: S) ไม่พบไอโซเลตที่มีระดับความต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมระดับปานกลาง (moderate resistance: MR) และระดับความต้านทานต่ำ (weakly resistance: WR) ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราจำนวน 9 ชนิด ในอัตราแนะนำข้างฉลาก ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราที่ต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมระดับสูงด้วยวิธี poisoned food technique พบว่าแมนโคเซบ แคปแทน โพรคลอราซ ไดฟีโคนาโซล+อะซ็อกซี่สโตรบิน และไดฟีโคนาโซล+โพรพิโคนาโซล มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ คาร์บอกซิน เบนโนมิล คาร์เบนดาซิม และคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเท่ากับ 87.78, 72.22, 64.89 และ 22.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้ให้ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับชนิดของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่เหมาะสมในการจัดการโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงอกร่องในจังหวัดจันทบุรี

คำสำคัญ: โรคแอนแทรคโนส มะม่วง คาร์เบนดาซิม ต้านทาน สารป้องกันกำจัดเชื้อรา

Abstract

Colletotrichum gloeosporioides, the causal agent of 'Aokrong' mango anthracnose disease was isolated by using tissue transplanting technique from infected fruits of orchards in Chanthaburi province. Twenty-seven isolates of fungi were obtained. The carbendazim resistance assays were conducted by growing all isolates on potato dextrose agar (PDA) containing the carbendazim at various concentrations 0.1, 1, 10, 100, 500 and 1,000 ppm. The fungal resistance to

[1] คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

[1] Faculty of Agricultural Technology, Rambhai Barni Rajabhat University

[*] Corresponding author. Email: pk501@hotmail.com

Received: May 10, 2021; Revised: June 4, 2021; Accepted: July 14, 2021

carbendazim was evaluated and classified. The results revealed that 14 isolates (51.85%) were classified as HR (highly resistance) phenotype and 13 isolates (48.15%) were S (sensitive) phenotype. None of the isolates were classified as MR (moderate resistance) or WR (weakly resistance) phenotype. The effectiveness of 9 fungicides at recommended concentrations to inhibit mycelial growth of HR phenotype *C. gloeosporioides was* tested using poisoned food technique. The results showed the reduction of mycelia growth of all tested fungicides to the fungi as compared to untreated control. Mancozeb, captan, prochloraz, difenoconazole+azoxystrobin and difeconazole+propiconazole showed 100% inhibition of mycelium growth of *C. gloeosporioides,* followed by carboxin, benomyl, carbendazim and copper hydroxide inhibited mycelium growth by 87.78, 72.22, 64.89 and 22.89%, respectively. This study provides preliminary information on the types of fungicide that are suitable for managing anthracnose of mango fruits in Chanthaburi province.

Keywords: anthracnose, mango, carbendazim, resistance, fungicide

บทนำ

จังหวัดจันทบุรีมีพื้นที่ปลูกมะม่วงอกร่อง (Aokrong) มากเป็นอันดับ 1 ของประเทศ โดยมีเกษตรกรผู้ปลูกมะม่วงจำนวน 528 ราย มีพื้นที่ปลูกจำนวน 2,250 ไร่ (Information Technology and Communication Center, Department of Agricultural Extension, 2016) มะม่วงอกร่องบ้านเสม็ดงาม ตำบลหนองบัว อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี เป็นมะม่วงที่มีพื้นที่ปลูกเป็นดินน้ำกร่อย ผลมะม่วงจึงมีรสชาติหวานอร่อย เป็นที่ต้องการของตลาด ในช่วงเดือนมกราคมที่มีมะม่วงออกนอกฤดูจะมีราคาสูงถึงกิโลกรัมละ 100-180 บาท ปัญหาสำคัญในการผลิตมะม่วง คือ ปัญหาจากโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. ซึ่งสามารถเข้าทำลายได้เกือบทุกส่วนของมะม่วง ทำให้เกิดอาการเป็นแผลจุดบนใบ กิ่ง หรือ ผล และหากการเข้าทำลายของโรครุนแรงก็จะทำให้มีอาการใบแห้ง ใบบิดเบี้ยว และร่วงหล่น ช่อดอกแห้งไม่ติดผล ผลเน่าร่วง ตลอดจนผลเน่าเสียหลังการเก็บเกี่ยว

สารเคมีที่นิยมใช้คือสารเคมีในการควบคุมโรคพืช คือสารกลุ่มเบนซิมิดาโซล (benzimidazole) ซึ่งเป็นสารชนิดดูดซึม (systemic fungicide) ที่มีฤทธิ์ตกค้างอยู่กับพืชได้นาน ได้แก่ คาร์เบนดาซิม (carbendazim) เบนโนมิล (benomyl) และไทอะเบนดาโซล (thiabendazole) สารกลุ่มนี้เป็นสารออกฤทธิ์แบบเฉพาะจุด กล่าวคือจะเข้าไปจับโปรตีนทูบูลิน (tubulin) โดยเข้าไปจับอย่างจำเพาะเจาะจงกับโปรตีน beta-tubulin subunit ซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของโครงสร้างไมโครทูบูล (microtubules) โครงสร้างนี้มีลักษณะคล้ายเส้นด้ายสำหรับดึงโครโมโซมให้แยกคู่ เมื่อไม่สามารถสร้างไมโครทูบูลได้ การแยกตัวของโครโมโซมคู่เหมือนจะถูกยับยั้งลงไป ดังนั้นเชื้อราจึงไม่สามารถแบ่งตัวได้ตามปกติ เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีผลควบคุมโรคได้ผลดี และรวดเร็ว หากเกษตรกรมีการใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิมต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน อาจทำให้เชื้อราสาเหตุโรคเกิดการต้านทานต่อสารเคมี (resistance to fungicide) เนื่องจากเชื้อราจะมีการปรับตัว หรือกลายพันธุ์ให้ต้านทานต่อสารเคมี เพื่อให้สามารถดำรงชีวิตอยู่รอด ทำให้ต่อมาการใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิมควบคุมโรคพืชไม่ได้ผล โดยความต้านทานสารเคมีกลุ่มเบนซิมิดาโซลนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของลำดับกรดอะมิโนของยีน beta-

tubulin (TUB) ณ ตำแหน่งจับของสารเบนซิมิดาโซล (benzimodazole binding site) ทำให้สารคาร์เบนดาซิมไม่สามารถจับที่ตำแหน่งดังกล่าวได้ (Ma, & Michailides, 2005)

จากการตรวจเอกสารรายงานวิจัยพบว่ามีรายงานการตรวจพบความต้านทานของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับสูง (Chaichana, & Nalumpang, 2007; Nalumpang et al., 2010; Kongtragoul, Nalumpang, Miyamoto, Izum, & Akimitsu, 2011) ส่วนการศึกษาประสิทธิภาพสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดต่าง ๆ พบว่ามีความหลากหลายของชนิดสารเคมีที่ใช้ในการศึกษา ทั้งสารเคมีชนิดสัมผัส (contact fungicide) และสารเคมีชนิดดูดซึม ผลการทดลองพบว่าสารเคมีแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงในแต่ละไอโซเลตแตกต่างกัน (Kumar, Reddy, Reddy, & Devi, 2007; Chaichana, 2010; Bincader, Pongpisutta, & Rattianakreekul, 2018; Likitmanchai, Thepchuasook, & Lertsuchatavanich, 2019) การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ประเมินความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงอกร่องในจังหวัดจันทบุรี และศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดต่าง ๆ ในการควบคุมเชื้อราที่มีความต้านทานต่อคาร์เบนดาซิม เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาและให้คำแนะนำเกษตรกรในการใช้สารเคมีควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงต่อไป

วิธีการศึกษา

1. การเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์

นำผลมะม่วงอกร่องที่แสดงอาการเป็นโรคแอนแทรคโนสจากบ้านเสม็ดงาม ตำบลหนองบัว จังหวัดจันทบุรี มาศึกษาอาการ จากนั้นทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ ด้วยเทคนิควิธี tissue transplanting (Dhingra, & Sinclair, 1995) โดยการตัดชิ้นส่วนของผิวบริเวณขอบแผลให้ติดบริเวณที่ไม่เป็นโรคขนาดประมาณ 0.50×0.50 เซนติเมตร ฆ่าเชื้อผิวด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรด์ความเข้มข้น 0.60 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ซับให้แห้ง ด้วยกระดาษเอนกประสงค์ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ นำไปวางบนอาหาร WA (water agar) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลาประมาณ 3 วัน ตัดปลายเส้นใยที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนของพืช วางลงบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) บ่มที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารทดลอง แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค single spore เมื่อได้เชื้อราบริสุทธิ์ใช้เข็มเขี่ยตัดปลายเส้นใยเชื้อราเก็บลงอาหาร PDA ในหลอดทดลอง (PDA slant) เก็บรักษาในตู้เย็นเพื่อใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

2. การทดสอบความต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงอกร่องต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมด้วยวิธี culture disc technique ดัดแปลงจาก Kongtragoul, & Nalumpang (2010) โดยทำการตัดปลายเส้นใย

ของเชื้อราแต่ละไอโซเลต ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จากการทดลองขั้นตอนที่ 1 นำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.1, 1, 10, 100, 500 และ 1,000 ppm เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อราชุดควบคุม (control) ซึ่งใช้อาหาร PDA ที่ไม่ผสมสารคาร์เบนดาซิม โดยทำการทดลองความเข้มข้นละ 4 ซ้ำต่อไอโซเลต เมื่อเชื้อราชุดควบคุมเจริญเต็มจานอาหารทดลอง คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเจริญ ดังสมการ (1)

จากนั้นนำเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเชื้อราที่ได้มาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราในแต่ละความเข้มข้น 5 ระดับการเจริญ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเจริญของเชื้อรา (เทียบชุดควบคุม)} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีชุดทดสอบ}}{\text{ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีชุดควบคุม}} \times 100 \quad (1)$$

-	=	เชื้อราที่เจริญได้ตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม
+	=	เชื้อราที่เจริญได้มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่เกิน 35 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม
++	=	เชื้อราที่เจริญได้มากกว่า 35 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่เกิน 65 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม
+++	=	เชื้อราที่เจริญได้มากกว่า 65 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่เกิน 65 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม
++++	=	เชื้อราที่เจริญได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ทำการประเมินระดับความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมเป็น 4 ระดับ ตามเกณฑ์ของ Peres, Souza, Peever, & Timmer (2004) คือ เจริญได้ $\geq$500 ppm=highly resistant (HR), เจริญได้ $\leq$100 ppm=moderately resistant (MR), เจริญได้ $\leq$10 ppm=weakly resistant (WR) และเจริญได้ $\leq$1 ppm=sensitive (S) รายละเอียดดังแสดงใน (Table 1) (Kongtragoul, & Nalumpang, 2010)

Table 1 Phenotype of the resistance levels of *C. gloeosporioides* to carbendazim fungicide.

resistance levels	carbendazim concentrations (ppm)					
	0.1	1	10	100	500[1/]	1,000
sensitive (S)	✓	×	×	×	×	×
	✓	✓	×	×	×	×
weakly resistance (WR)	✓	✓	✓	×	×	×
moderately resistance (MR)	✓	✓	✓	✓	×	×
highly resistance (HR)	✓	✓	✓	✓	✓	×
	✓	✓	✓	✓	✓	✓

[1/] Recommended concentration

× = Percentage of growth <10% compared with the control

✓ = Percentage of growth >10% compared with the control

3. การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค

นำสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่ได้รับการขึ้นทะเบียนจากกรมวิชาการเกษตร จำนวน 9 ชนิด ในอัตราแนะนำข้างฉลาก ได้แก่ คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ (copper hydroxide 77%WP) 10 กรัมต่อ 20 ลิตร, แมนโคเซบ (mancozep 80%WP) 60 กรัมต่อ 20 ลิตร, แคปแทน (captan 50%WP) 50 กรัมต่อ 20 ลิตร, คาร์บอกซิน (carboxin 75%WP) 15 กรัมต่อ 20 ลิตร, คาร์เบนดาซิม (carbendazim 50%SC) 60 มิลลิลิตรต่อ 20 ลิตร, เบนโนมิล (benomyl 50%WP) 20 กรัมต่อ 20 ลิตร, โพรคลอราซ (prochloraz 45%EW) 30 มิลลิลิตรต่อ 20 ลิตร, ไดฟีโคนาโซล+อะซ็อกซี่สโตรบิน (difeconazole+ azoxytrobin 20%+12.5%SC 10 มิลลิลิตรต่อ 20 ลิตร และไดฟีโคนาโซล+โพรพิโคนาโซล (difeconazole+ propiconazole 15%+15%EC) 15 มิลลิลิตรต่อ 20 ลิตร นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ไอโซเลต P8-1 ที่มีความต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) ด้วยวิธี poisoned food technique (Dhingra, & Sinclair, 1995) วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) ประกอบด้วย 10 ทรีตเม้นต์ ๆ ละ 4 ซ้ำ ทำการทดลองโดยนำสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรามาผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เทใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จากนั้นย้ายชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราไอโซเลตที่ต้านทานต่อสารคาร์เบน-ดาซิมระดับสูง (HR) เจริญอยู่ นำมาวางคว่ำลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช เปรียบเทียบกับลักษณะโคโลนี และเส้นใยเชื้อรากับชุดควบคุม (อาหาร PDA ที่ไม่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา) บันทึกลักษณะโคโลนี และการเจริญของเส้นใยบนอาหารทดลอง แล้วทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เพื่อใช้คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการยับยั้งจากสมการ (2) นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยที่ได้มาวิเคราะห์โดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test (DMRT)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = (A-B)/A \times 100 \qquad (2)$$

A = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม (0 ppm)

B = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช

ผลการศึกษา

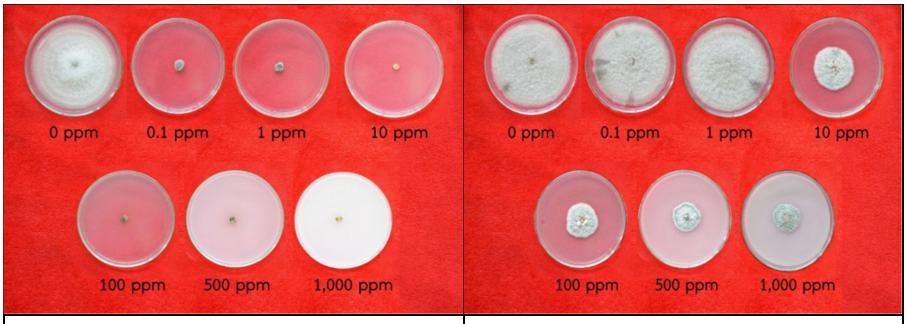
1. การเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างมะม่วงอกร่องจากสวนมะม่วง บ้านเสม็ดงาม ตำบลหนองบัว อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี ในเดือนเมษายน-มิถุนายน 2562 เมื่อทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ สามารถแยกเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสได้จำนวน 27 ไอโซเลต

2. การทดสอบความต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

หลังทำการทดลอง 7 วัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 27 ไอโซเลต มีความสามารถในการเจริญได้บนอาหาร PDA

ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แตกต่างกัน เมื่อนำเชื้อราแต่ละไอโซเลตมาคำนวณอัตราการเจริญ และจัดระดับความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม พบว่า มีเชื้อราที่อ่อนแอต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (S) จำนวน 13 ไอโซเลต (48.15 เปอร์เซ็นต์) และเชื้อราที่ต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) จำนวน 14 ไอโซเลต (51.85 เปอร์เซ็นต์) ในการทดลองครั้งนี้ ไม่พบเชื้อราที่ต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมระดับปานกลาง (MR) และเชื้อราที่ต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมระดับต่ำ (WR) โดยเชื้อราที่อ่อนแอต่อสารคาร์เบนดาซิม (S) จะไม่สามารถเจริญได้ หรือเจริญได้เพียงเล็กน้อยบนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 0.1-1 ppm ส่วนเชื้อราที่ต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) จะสามารถเจริญได้บนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมความเข้มข้นมากกว่า 100 ppm ดัง (Figure 1)



sensitive (S)	highly resistance (HR)

Figure 1 Sensitive and highly resistances to carbendazim of *C. gloeosporioides* isolates on potato dextrose agar amended with carbendazim at 0, 0.1, 1, 10, 100, 500 and 1,000 ppm.

3. การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการยับยั้งเชื้อรา

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราจำนวน 9 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงอกร่อง ไอโซเลต P8-1 ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) พบว่าเชื้อรามีการเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมีแต่ละชนิดแตกต่างกัน ดัง (Figure 2) สารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราที่ดีที่สุด คือ แมนโคเซบ แคปแทน โพรคลอราซ ไดฟีโคนาโซล+อะซ็อกซี่สโตรบิน และไดฟีโคนาโซล+โพรพิโคนาโซล โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ คาร์บอกซิน เบนโนมิล คาร์เบนดาซิม และคอปเปอร์-ไฮดรอกไซด์ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราเท่ากับ 87.78, 72.22, 64.89 และ 22.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดัง (Table 2)

อภิปรายผล

จากการประเมินความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม พบเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ที่ต้านทานสารคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) จำนวน 14 ไอโซเลต (51.85 เปอร์เซ็นต์) และเชื้อราที่อ่อนแอต่อสารคาร์เบนดาซิม (S) จำนวน 13 ไอโซเลต (48.15 เปอร์เซ็นต์) สาเหตุที่พบเชื้อราที่ต้านทานสารเคมีคาร์เบนดาซิมระดับสูง สืบเนื่องจากพฤติกรรมการใช้สารเคมีของเกษตรกรที่มีพฤติกรรมการใช้สารคาร์เบนดาซิม ซึ่งเป็นสารเคมีชนิดดูดซึมอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน โดยไม่สลับการใช้สารเคมีชนิดอื่นที่ออกฤทธิ์ต่อเชื้อราแตกต่างกัน ทำให้เชื้อราเกิดการปรับตัวเอง หรือกลายพันธุ์ให้ต้านทานเพื่อความอยู่รอด โดยความต้านทานต่อสารเคมีนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของลำดับกรดอะมิโนของยีน beta-tubulin (TUB) ณ ตำแหน่งจับของสารเบนซิมิดาโซล (Ma, & Michailides, 2005) สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Chaichana, & Nalumpang (2007) ที่รายงานผลการตรวจสอบความต้านทานต่อสารเคมีคาร์เบนดาซิมของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 40 ไอโซเลต พบเชื้อราที่ต้านทานสารคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) จำนวน 26 ไอโซเลต และเชื้อราที่อ่อนแอต่อสารคาร์เบนดาซิม (S) จำนวน 14 ไอโซเลต Nalumpang et al. (2010) รายงานผลการตรวจสอบความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในประเทศไทย พบเชื้อราที่ต้านทานสารคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) จำนวน 49 ไอโซเลต โดยเป็นไอโซเลตจากใบ จำนวน 2 ไอโซเลต และไอโซเลตจากผลจำนวน 47 ไอโซเลต Kongtragoul, Nalumpang, Miyamoto, Izumi, & Akimitsu (2011) รายงานผลการตรวจสอบความต้านทานของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ จากตลาด และสวนมะม่วงในประเทศไทย จำนวน 150 ไอโซเลต ต่อสารคาร์เบนดาซิม พบเชื้อราที่ต้านทานสารคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) จำนวน 113 ไอโซเลต และเชื้อราที่อ่อนแอต่อสารคาร์เบนดาซิม (S) จำนวน 37 ไอโซเลต

ผลการนำสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช 9 ชนิด ในอัตราแนะนำข้างฉลาก มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงอกร่อง ไอโซเลตที่ต้านทานสารเคมีคาร์เบนดาซิม พบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อราจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ แมนโคเซบ แคปแทน โพรคลอราซ ไดฟีโคนาโซล+อะซ็อกซี่สโตรบิน และไดฟีโคนาโซล+โพรพิโคนาโซล มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย ไอโซเลตที่ต้านทานสารคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Chaichana (2010) ที่รายงานว่า แคปแทน คาร์บอกซิน และแมนโคเซบ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่ต้านทานสารเคมีคาร์เบนดาซิมระดับสูง ดีที่สุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ เบนโนมิล มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราเท่ากับ 61.15 เปอร์เซ็นต์ ส่วนคาร์เบนดาซิมไม่มีผลการยับยั้งเชื้อรา Likitmanchai, Thepchuasook, & Lertsuchatavanich (2019) รายงานว่าไดฟีโคนาโซล+โพรพิโคนาโซล

อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ Bincader, Pongpisutta, & Rattianakreekul (2018) รายงานว่าโพรคลอราชความเข้มข้นตั้งแต่ 10-200 ppm, ไดฟีโคนาโซล+อะซ็อกซี่สโตรบิน ในอัตราแนะนำ คือ 325 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่มีความแตกต่างกับงานวิจัยของ Kumar, Reddy, Reddy, & Devi (2007) ที่รายงานผลประเมินความต้านทานสารเคมีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง จำนวน 7 ไอโซเลต พบว่า มี 3 ไอโซเลต ที่ตอบสนองสูงต่อแมนโคเซบความเข้มข้น 1,000 ppm (highly sensitive) ส่วนอีก 4 ไอโซเลต มีความต้านทานสารแมนโคเซบระดับสูง (highly resistant) และพบว่าเชื้อราทุกไอโซเลตมีความต้านทานต่อสารคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ความเข้มข้น 1,000 ppm

ผลการศึกษาครั้งนี้มีประโยชน์ในการแนะนำเกษตรกรผู้ปลูกมะม่วง โดยในแปลงที่พบเชื้อราที่มีความต้านทานสารเคมีคาร์เบนดาซิมระดับสูง สามารถใช้สารเคมีในกลุ่มอื่นในการควบคุมโรค ได้แก่ แมนโคเซบ แคปแทน โพรคลอราช ไดฟีโคนาโซล+อะซ็อกซี่สโตรบิน และไดฟีโคนาโซล+โพรพิโคนาโซล แต่เกษตรกรควรใช้สารเคมีด้วยความระมัดระวัง โดยไม่ควรใช้สารเคมีชนิดเดิมในการควบคุมโรคพืชอย่างต่อเนื่อง ควรทำการสลับหรือผสมด้วยกลุ่มสารเคมีที่มีกลไกออกฤทธิ์ต่อเชื้อราต่างกัน และควรใช้สารเคมีในอัตราแนะนำ เพื่อลดโอกาสเกิดความต้านทานต่อสารเคมี ส่วนแปลงที่ยังไม่พบเชื้อราที่ต้านทานสารคาร์เบนดาซิมจะยังสามารถใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม benzimidazole เช่น คาร์เบนดาซิม และเบนโนมิลในการควบคุมโรคในแปลงได้ แต่ควรสลับกลุ่มสารเคมีอื่นด้วย ได้แก่ แมนโคเซบ แคปแทน โพรคลอราช ไดฟีโคนาโซล+อะซ็อกซี่สโตรบิน หรือ ไดฟีโคนาโซล+โพรพิโคนาโซล เพื่อลดโอกาสเกิดความต้านทานต่อสารเคมี

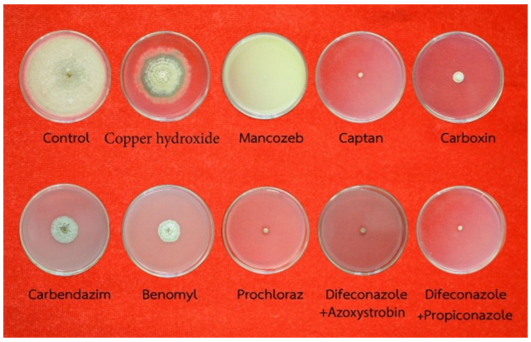


Figure 2 HR phenotype *C. gloeosporioides* colony response to nine fungicides amended in potato dextrose agar at recommended concentrations after incubation for 7 days.

Table 2 Efficacy of nine fungicides at recommended concentrations on percent inhibition of mycelia growth of the HR phenotype *C. gloeosporioides*.

treatments	% inhibition of mycelia growth[1/]
T1 control	0.00±0.00[f 2/]
T2 copper hydroxide 77%WP	22.89±0.61[e]
T3 mancozeb 80%WP	100.00±0.00[a]
T4 captan 50%WP	100.00±0.00[a]
T5 carboxin 75%WP	87.78±0.78[b]
T6 carbendazim 50%SC	64.89±0.61[d]
T7 benomyl 50%WP	72.22±0.78[c]
T8 prochloraz 45%EW	100.00±0.00[a]
T9 azoxystrobin+difenoconazole 20%+12.5%SC	100.00±0.00[a]
T10 difenoconazole+propiconazole 15%+15%EC	100.00±0.00[a]
C.V. %	0.34
F- test	**

Note: ** Significant difference at $P<0.01$.

1/ Mean of four replications±SD.

2/ Mean followed by different letters in each column are significantly different ($P<0.01$) based on Duncan's multiple range test (DMRT)

สรุป

ผลการแยกเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพันธุ์อกร่องจากบ้านเสม็ดงาม ตำบลหนองบัว อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี ได้จำนวน 27 ไอโซเลต เมื่อทำการประเมินความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม พบเชื้อราที่ต้านทานสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) จำนวน 14 ไอโซเลต (51.85 เปอร์เซ็นต์) และเชื้อราที่อ่อนแอต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (S) จำนวน 13 ไอโซเลต (48.15 เปอร์เซ็นต์) ไม่พบไอโซเลตที่มีระดับความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับปานกลาง (MR) และระดับความต้านทานต่ำ (WR)

สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราจำนวน 5 ชนิด ในอัตราแนะนำข้างฉลาก ได้แก่ แมนโคเซบ แคปแทน โพรคลอราซ ไดฟีโคนาโซล+อะซ็อกซี่สโตรบิน และไดฟีโคนาโซล+โพรพิโคนาโซล มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงอกร่อง ไอโซเลตที่ต้านทานสารเคมีคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR) ได้เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาครั้งนี้ให้ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับชนิดของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงอกร่องในจังหวัดจันทบุรี จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงประสิทธิภาพในการควบคุมโรคบนใบและบนผลมะม่วงต่อไป

คำขอบคุณ

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ปีงบประมาณ 2562 ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ที่ได้อนุมัติทุนอุดหนุนวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Bincader, S., Pongpisutta, R., & Rattanakreetakul, C. (2018). Responsiveness of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc causing anthracnose disease of mango cv. Nam Dork Mai See Tong to fungicides. *Agricultural Science Journal*, *49*(4)(Suppl.), 167-170. (in Thai)

Chaichana, S. (2010). *Characterization of Colletotrichum spp. resistant to a fungicide carbendazim in fruit*. (Master's thesis). Chiang Mai University, Chiang Mai. (in Thai)

Chaichana, S., & Nalumpang, S. (2007). Detection of fungicide carbendazim resistance in *Colletotrichum* spp. Causing anthracnose disease from mango fruits. *Agricultural Science Journal*, *38*(5), 205-208. (in Thai)

Dhingra, O. B., & Sinclair, J. B. (1995). *Basic plant pathology methods* (2nd ed.). Boca Raton: CRC Press.

Information Technology and Communication Center, Department of Agricultural Extension. (2016). *Agricultural production information system: Aok Rong*. Retrieved 21 January 2020, from http://www.agriinfo.doae.go.th/year59/plant/rortor/plant/rortor/fruit2/mango8.pdf (in Thai)

Kongtragoul, P., & Nalumpang, S. (2010). Characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* resistant to carbendazim. *Journal of Agriculture*, *26*(3), 203-212. (in Thai)

Kongtragoul, P., Nalumpang, S., Miyamoto, Y., Izumi, Y., & Akimitsu, K. (2011). Mutation at codon 198 of *TUB2* gene for carbendazim resistance in *Colletotrichum gloeosporioides* causing mango anthracnose in Thailand. *Journal of Plant Protection Research*, *51*(4), 378-384.

Kumar, A. S., Reddy, N. P. E., Reddy, K. H., & Devi, M. C. (2007). Evaluation of fungicidal resistance among *Colletotrichum gloeosporioides* isolates causing mango anthracnose in agri export zone of Andhra Pradesh, India. *Plant Pathology Bulletin*, *16*, 157-160.

Likitmanchai, V., Thepchuasook, T., & Lertsuchatavanich, U. (2019). Efficacy of fungicides to control *Colletotrichum gloeosporioides* causal agent of mango anthracnose disease. *The 14th National Plant Protection Conference*: *Precision agriculture approaches to Thai farming* (pp. 716-721). Cha Am: Thai Crop Protection Association. (in Thai)

Ma, Z., & Michailides, T. J. (2005). Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Protection, 24*(10), 853-863.

Nalumpang, S., Miyamoto, Y., Miyake, C., Izumi, Y., Akitmitsu, K., & Kongtragoul, P. (2010). Point mutations in the beta-tubulin gene conferred carbendazim-resistant phenotypes of *Colletotrichum gloeosporioides* causing Nam Dok Mai mango anthracnose. *Journal of Agricultural Technology*, *6*(2), 365-378.

Peres, N. A. R., Souza, N. L., Peever, T. L., & Timmer, L. W. (2004). Benomyl sensitivity of isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from citrus. *Plant Disease*, *88*(2), 125-130.