

การทดสอบความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

In vitro test of fungicide resistance on *Colletotrichum* spp. causing anthracnose
disease in mango

วีระณีย์ ทองศรี^{1*}, ธนัษพร ทัศนวุฒิกุล¹, แพรววนิต อภิณสกุลเงิน¹ และ เจนจิรา ชุมภูคำ¹
Veeranee Tongsri^{1*}, Tanutporn Thatsanawuttikul¹, Praeowanit Apithanasakulngeon¹
and Jenjira Chumpookam¹

บทคัดย่อ

มะม่วงเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งต่อการส่งออกของประเทศไทย อย่างไรก็ตามการผลิตมะม่วงมักประสบปัญหาจากโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ทำให้เกิดการสูญเสียของผลผลิตทั้งปริมาณและคุณภาพ การควบคุมโรคมักนิยมใช้สารเคมีเป็นหลัก แต่บ่อยครั้งไม่สามารถควบคุมโรคได้ เนื่องจากเชื้อราเกิดการพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีขึ้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบการก่อโรคของเชื้อราที่แยกได้และประเมินความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราของเชื้อราก่อโรคในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยใช้เชื้อราจำนวน 7 ไอโซเลทจากแหล่งปลูกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง 3 แหล่ง คือ จังหวัดลพบุรี พิจิตรและราชบุรี จากผลการทดลองพบว่าเชื้อราทุกไอโซเลทสามารถก่อให้เกิดโรคบนใบมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง โดย 2 ไอโซเลท คือ LD-03 (ลพบุรี) และ RB-D2 (ราชบุรี) ก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุด โดยมีขนาดแผลมากกว่า 2 เซนติเมตร เมื่อประเมินความต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อราทั้ง 7 ไอโซเลทพบว่าทุกไอโซเลทเกิดความต้านทาน (R) ต่อสารเคมี 3 ชนิด ได้แก่ pyraclostrobin, chlorothalonil และ mancozeb โดยมีค่า EC_{50} ตั้งแต่ 69.59, 217.30 และ 143.40 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ในขณะที่ 3 ไอโซเลท ได้แก่ LD-03 (ลพบุรี), PSG01 (พิจิตร) และ RB-G1 (ราชบุรี) เกิดความต้านทานปานกลาง (MR) ต่อสารเคมี difenoconazole โดยมีค่า EC_{50} ตั้งแต่ 16.72-34.14 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และมี 1 ไอโซเลท คือ PSD02 (พิจิตร) เกิดความต้านทาน (R) ต่อสารเคมี 2 ชนิด ได้แก่ difenoconazole และ prochloraz โดยมีค่า EC_{50} มากกว่า 1000 และ 155.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ สำหรับสารเคมีที่เชื้อราก่อโรคส่วนใหญ่ยังแสดงความอ่อนแอ (S) อยู่ คือ prochloraz โดยมีค่า EC_{50} ตั้งแต่ 0.28-5.37 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ควรนำไปทดสอบบนต้นมะม่วงในสภาพโรงเรือนหรือแปลงทดลองเพื่อยืนยันความมีประสิทธิภาพของสารเคมี prochloraz ก่อนที่จะแนะนำให้มีการใช้ในแหล่งปลูกของ 3 จังหวัดต่อไป

คำสำคัญ: โรคหลังการเก็บเกี่ยว ความไวต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา การควบคุมโรคพืช

Abstract

Mango is one of the economically important fruits for Thailand's exports. Anthracnose is indeed a significant threat to mango crops, caused by the fungus *Colletotrichum* spp. This disease can lead to severe losses in both the quantity and quality of mango yields. Disease control using fungicides is a common practice, but it's mainly ineffective because the fungus has developed fungicide resistance. This research aimed to assess the pathogenicity of fungal isolates and evaluate the resistance of pathogenic fungi to fungicides under laboratory conditions. Seven isolates of *Colletotrichum* were collected from 3 Nam Dok Mai Si Thong mango plantation areas including Lopburi, Phichit, and Ratchaburi provinces. The results revealed that all fungal isolates caused disease symptoms on Nam Dok Mai Si Thong mango leaves. Two isolates, LD-03 (Lopburi isolate) and RB-D2

¹ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

¹ Faculty of Agriculture, Kesetsart University

* Corresponding author. E-mail: fagrvt@ku.ac.th

(Ratchaburi isolate), were the most aggressive, producing lesions larger than 2 cm. Regarding the fungicide resistance test, all isolates were resistant (R) to 3 fungicides, pyraclostrobin, chlorothalonil, and mancozeb with EC_{50} values of 69.59, 217.30, and 143.40 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Moreover, 3 isolates, LD-03 (Lopburi isolate), PSG01 (Phichit isolate), and RB-G1 (Ratchaburi isolate) were moderately resistant (MR) to difenoconazole with EC_{50} values of 16.72 to 34.14 $\mu\text{g/ml}$. Furthermore, an isolate of PSD02 (Phichit isolate) was resistant (R) to 2 fungicides, difenoconazole and prochloraz with EC_{50} values of >1000 and 155.20 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Fortunately, almost all isolates had the susceptibility (S) to prochloraz with EC_{50} values of 0.28 to 5.37 $\mu\text{g/ml}$. Thus, the data obtained from this study should be further tested on mango trees in a greenhouse or experimental plot to confirm the effectiveness of prochloraz before recommending its use in the cultivation areas of the three provinces.

Keywords: postharvest diseases, fungicide sensitivity, plant disease control

บทนำ

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) เป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอันดับต้นๆ ของประเทศไทย จากรายงานของ Department of Agricultural Extension (2022) ระบุว่าประเทศไทยมีแหล่งปลูกมะม่วงที่สำคัญอยู่ที่ภาคเหนือ ซึ่งมีพื้นที่ปลูกมากกว่า 3 แสนไร่ รองลงมา คือ ภาคตะวันตกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีพื้นที่ปลูกภาคละมากกว่า 1 แสนไร่ ส่วนภาคตะวันออกและภาคกลาง มีพื้นที่ปลูกภาคละประมาณ 4 หมื่นไร่ และมีการส่งออกทั้งมะม่วงสดและแปรรูปคิดเป็นมูลค่าเกือบ 6 พันล้านบาท โดยมีประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ มาเลเซีย เกาหลีใต้ เวียดนาม ญี่ปุ่น และสิงคโปร์ อย่างไรก็ตาม การผลิตมะม่วงมักประสบปัญหาทางด้านโรคพืช โดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ซึ่งได้สร้างความเสียหายให้แก่มะม่วงทั้งในระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวมาอย่างต่อเนื่องในทุกแหล่งปลูกทั่วโลก (Jenny et al., 2019; Dofuor et al., 2023) การควบคุมโรคแอนแทรคโนสโดยใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา จึงเป็นวิธีการควบคุมหลักที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน (Nelson, 2008; Dofuor et al., 2023) สอดคล้องกับการศึกษาของ Batista et al., (2023) ที่มีการใช้สารเคมี pyraclostrobin, copper oxychloride และ tetraconazole สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสารเคมีข้างต้นได้ถูกแนะนำให้ใช้เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในสภาพแปลงปลูก นอกจากนี้ Dethoup et al., (2024) รายงานว่าสารเคมี prochloraz สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงในระยะหลังการเก็บเกี่ยวได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่ Kannan & Dhiya (2023) รายงานว่าสารเคมีที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ของมะม่วงมีหลายชนิด ได้แก่ mancozeb, tricyclazole และ copper oxychloride รวมทั้งสารผสม ได้แก่ zineb + hexaconazole และ tricyclazole + mancozeb แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สารเคมีชนิดเดิมต่อเนื่องเป็นเวลานาน อาจทำให้เชื้อราเกิดการพัฒนาให้มีความต้านทานต่อสารเคมีได้ ดังจากรายงานของ Kongtragoul et al., (2020) และ Keeratravee & Kongtragoul (2023) กล่าวว่า เชื้อรา *Colletotrichum* spp. บางไอโซเลตที่แยกได้จากมะม่วง พริก และไม้ดอกบางชนิดเกิดความต้านทานต่อสารเคมี azoxystrobin ในทำนองเดียวกันกับ Cao et al., (2017) พบว่า เชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้จากยางพาราสามารถปรับตัวให้ต้านทานต่อสารเคมี chlorothalonil เช่นเดียวกัน

จากปัญหาที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความต้านทานของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองต่อสารเคมีกำจัดเชื้อราที่มีการใช้ในส่วนมะม่วงเพื่อการพาณิชย์ในจังหวัดลพบุรี พิจิตรและราชบุรีเพื่อให้เกิดองค์ความรู้ในการจัดการโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่มีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีการศึกษา

1. เก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรคและแยกเชื้อราสาเหตุโรค

เก็บตัวอย่างใบและผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสจากแหล่งปลูกเพื่อการค้า 3 แห่ง ได้แก่ อำเภอโคกเจริญ จังหวัดลพบุรี อำเภอสามโก้ จังหวัดพิจิตร และอำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี แยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี tissue transplanting โดยตัดชิ้นส่วนพืชบริเวณรอยต่อของแผลกับเนื้อเยื่อปกติขนาด 0.50 ตารางเซนติเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวรอบนอกด้วยสารละลาย 1% sodium hypochlorite เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งข้อ 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half potato dextrose agar (half PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (25±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน เมื่อเส้นใยเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นพืช ใช้เข็มเย็บตัดปลายเส้นใยและนำมาเลี้ยงบนอาหาร half PDA ใหม่อีกครั้งจนได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นเก็บเชื้อราไว้ในอาหารเฉียง (slant agar) เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. ทดสอบความสามารถในการก่อโรค

นำเชื้อราทุกไอโซเลทที่แยกได้มาทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบมะม่วงในระยะเพสลาด (อายุ 3 สัปดาห์ หลังแตกใบอ่อน) โดยตัดบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา (อายุ 7 วัน) ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.50 เซนติเมตร ย้ายชิ้นส่วนของเชื้อราลงบนใบมะม่วงที่ผ่านการฆ่าผล จำนวน 6 ผลต่อใบ บ่มในกล่องขึ้นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน บันทึกขนาดแผลและจัดเป็นระดับคะแนนความรุนแรงของโรค 3 ระดับ ได้แก่ รุนแรงน้อย (ขนาดแผลน้อยกว่า 1 เซนติเมตร) รุนแรงปานกลาง (ขนาดแผล 1-2 เซนติเมตร) และรุนแรงมาก (ขนาดแผลมากกว่า 2 เซนติเมตร) จากนั้นแยกเชื้ออีกครั้ง เพื่อยืนยันลักษณะพื้นฐานของเชื้อราว่าเหมือนกับเชื้อราที่แยกได้จากครั้งแรก

3. ทดสอบความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช

3.1 เตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ

สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบมี 5 ชนิด ได้แก่ difenoconazole (25% a.i.), prochloraz (45% a.i.), pyraclostrobin (10% a.i.), chlorothalonil (70% a.i.) และ mancozeb (80% a.i.) โดยเตรียมอาหาร half PDA ผสมสารเคมีแต่ละชนิดให้ได้ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0, 0.1, 1, 10, 100 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ยกเว้น pyraclostrobin ที่เตรียมให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.01, 0.1, 1, 10 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม โดยสาร pyraclostrobin ในแต่ละความเข้มข้นมีการผสมสาร propyl gallate (PG) ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมลงไป เพื่อช่วยยับยั้งกระบวนการหายใจทางเลือก (alternative respiration) ของเชื้อรา (Miguez et al., 2004) ซึ่งให้สอดคล้องกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารเคมีใน class quinone outside Inhibitor (QoI) โดยความเข้มข้นของสาร PG ดังกล่าว ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแต่อย่างใด ความเข้มข้นของสารเคมีแต่ละชนิดคำนวณได้จากร้อยละของสารออกฤทธิ์ (active ingredient, a.i.)

3.2 ทดสอบความต้านทานของสารเคมีต่อการเจริญของเชื้อรา

เลี้ยงเชื้อรา *Colletotrichum* spp. แต่ละไอโซเลทบนอาหาร half PDA เมื่ออายุ 7 วัน ตัดขอบโคโลนีของเชื้อราด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.50 เซนติเมตร ย้ายชิ้นส่วนไปวางบนจานอาหารที่ผสมกับสารเคมีที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ตามข้อ 3.1 ส่วนชุดควบคุมใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อแทนสารเคมี ยกเว้นสารเคมี pyraclostrobin ที่ใช้อาหารผสมสาร PG ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมเป็นชุดควบคุม บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา และนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อราตามวิธีการของ Tongsri et al., (2023) จากสูตร (1)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา} = [(M_1 - M_2) / M_1] \times 100 \quad (1)$$

โดยที่ M_1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในชุดควบคุม

M_2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารผสมสารเคมี

จากนั้นประเมินค่าความเข้มข้นของสารเคมีที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (50% Effective concentration, EC_{50}) โดยวิเคราะห์ Probit ในโปรแกรม SPSS version 25.0 ซึ่งได้กำหนดระดับการตอบสนองต่อสารเคมีของเชื้อราแต่ละไอโซเลตด้วยค่า baseline ของค่า EC_{50} ดัง (Table 1)

Table 1 Phenotypic classification of *Colletotrichum* spp. isolates based on their response to different fungicides used in this study.

fungicides	fungicide class	phenotype (EC_{50} , $\mu\text{g/ml}$)			reference
		sensitive (S)	moderately resistant (MR)	resistant (R)	
difenoconazole 25% w/v EC	demethylation	<15	15-100	>100	modified from Chen et al., (2016)
prochloraz 45% w/v EW	inhibitors (DMI)				
pyraclostrobin 10% w/v CS	quinone outside inhibitor (Qol)	<5	5-49	>49	modified from Usman et al., (2021)
chlorothalonil 75% WP	chloronitriles	<100	-	≥ 100	modified from Moral et al., (2018)
mancozeb 80% WP	dithiocarbamates				

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยของขนาดแผลบนใบมะม่วง วิเคราะห์จากโปรแกรม Microsoft Excel version 2404 สำหรับค่า EC_{50} ของสารเคมีแต่ละชนิด วิเคราะห์จากค่า Probit ในโปรแกรม SPSS version 25.0

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

1. แยกเชื้อราสาเหตุโรคและทดสอบความสามารถในการก่อโรค

ผลการแยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนใบและผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง สามารถแยกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ได้ 7 ไอโซเลต โดย 3 ไอโซเลต ได้แก่ LD-01, LD-03 และ LG-02 ได้จากจังหวัดลพบุรี จำนวน 2 ไอโซเลต ได้แก่ PSG01 และ PSD02 ได้จากจังหวัดพิจิตร และ 2 ไอโซเลต ได้แก่ RB-G1 และ RB-D2 ได้จากจังหวัดราชบุรี เมื่อนำเชื้อรามาทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธี detached leaf พบว่าทุกไอโซเลตสามารถก่อโรคในระดับรุนแรงที่ต่างกัน โดยมี 2 ไอโซเลตที่ก่อโรครุนแรงที่สุด ได้แก่ LD-03 (จากลพบุรี) และ RB-D2 (จากราชบุรี) ซึ่งเริ่มปรากฏอาการเร็วที่สุดที่ 3 วันหลังการปลูกเชื้อ โดยมีคะแนนความรุนแรงของโรคอยู่ในระดับ +++ (ขนาดแผลมากกว่า 2 เซนติเมตร) (Table 2) และ (Figure 1) สอดคล้องกับรายงานของ Grice et al., (2023) รายงานว่าเชื้อรา *C. asianum* ที่สามารถก่อโรคได้รุนแรงในมะม่วงพันธุ์ Kensington Pride ยังสามารถก่อโรคในมะม่วงพันธุ์อื่น ๆ ได้ในระดับความรุนแรงที่แตกต่างกัน และเมื่อทำการแยกเชื้ออีกครั้งจากบริเวณแผล (re-isolation) พบว่า เชื้อราทุกไอโซเลตมีลักษณะของโคโลนีและรูปร่างของสปอร์เหมือนกับเชื้อราที่แยกได้ในครั้งแรก โดยโคโลนีของเชื้อราจะมีสีขาวอมเทาถึงเทาเข้ม ถึงแม้บางไอโซเลตมีการเจริญค่อนข้างช้า แต่ทุกไอโซเลตพบการสร้างกลุ่มสปอร์สีส้มอมชมพูบนผิวหน้าอาหาร และสปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกหัวท้ายมน ไม่ไม่มีสีและไม่มีผนังกัน มีขนาดเฉลี่ย $17.80\text{-}20.00 \times 2.70\text{-}5.10$ ไมโครเมตร ซึ่งมีความสอดคล้องกับกฎของ Koch (Koch's postulates) (Ross & Woodward, 2016)

Table 2 The severity of anthracnose disease on detached mango leaves cv. Nam Dok Mai Si Thong after inoculation with different isolates of *Colletotrichum* spp. at 7 days post-inoculation.

location	<i>Colletotrichum</i> isolate	diseased organ	disease severity score ^{1/}
Lopburi province	LD-01	leaf	++
	LD-03	leaf	+++
	LG-02	leaf	++
Phichit province	PSG01	fruit	+
	PSD02	fruit	+
Ratchaburi province	RB-G1	fruit	++
	RB-D2	fruit	+++

^{1/} +=lesion size <1 cm, ++=lesion size 1-2 cm, +++=lesion size >2 cm.

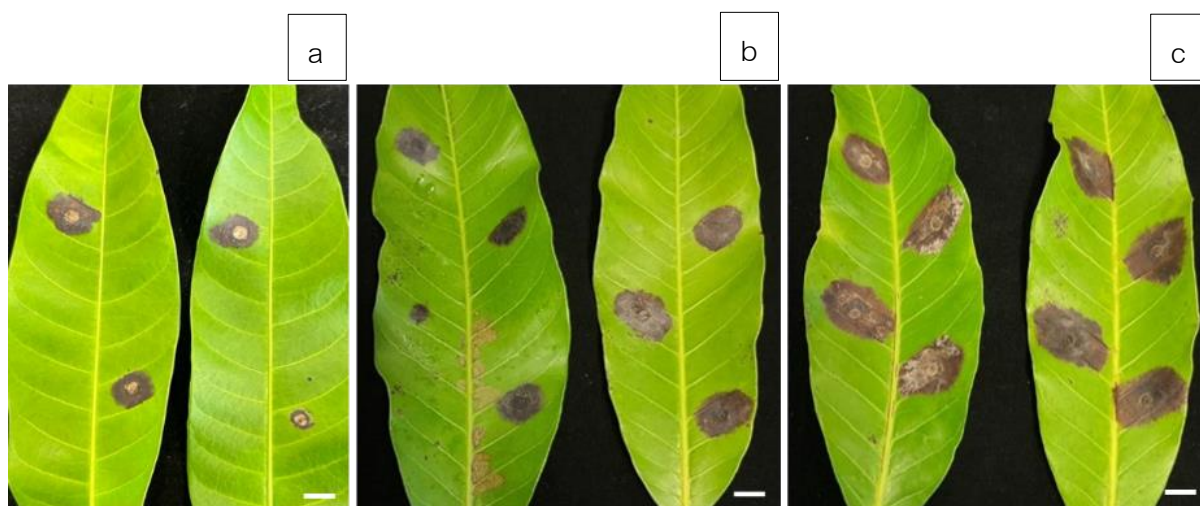


Figure 1 Symptoms on representative detached mango leaves cv. Nam Dok Mai Si Thong after inoculation with isolates PSG01 (a), LG-02 (b), and LD-03 (c) of *Colletotrichum* spp., scale bar=1 cm.

2. ทดสอบความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช

ผลการทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ต่อสารเคมีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า เชื้อรา ทั้ง 7 ไอโซเลทเกิดความต้านทานต่อสารเคมี 3 ชนิด ได้แก่ pyraclostrobin, chlorothalonil และ mancozeb โดยมีค่า EC₅₀ ตั้งแต่ 69.59, 217.30 และ 143.40 ppm ตามลำดับ (Table 3) สอดคล้องกับ Hu et al., (2023) รายงานว่าเชื้อรา ในกลุ่มของ *C. gloeosporioides* species complexes ซึ่งได้แก่ *C. siamense* และ *C. fruticola* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส ของสตรอว์เบอร์รีเกิดความต้านทานต่อสารเคมี pyraclostrobin สูงถึงร้อยละ 70 และ 100 ตามลำดับ เนื่องจากเกิดการ กลายพันธุ์ของยีน *cytochrome b* ที่ตำแหน่ง G143A ซึ่งไอโซเลทของเชื้อราที่ต้านทานต่อ pyraclostrobin มักเกิดความ ต้านทานข้าม (cross-resistance) ต่อสาร kresoxim-methyl และ azoxystrobin ในขณะที่ Kongtragoul et al., (2022) ระบุว่าเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 34 ไอโซเลทที่แยกได้จากมะม่วง พริก กัลยไม้ และลิ้นจี่จากแหล่งปลูกภาค

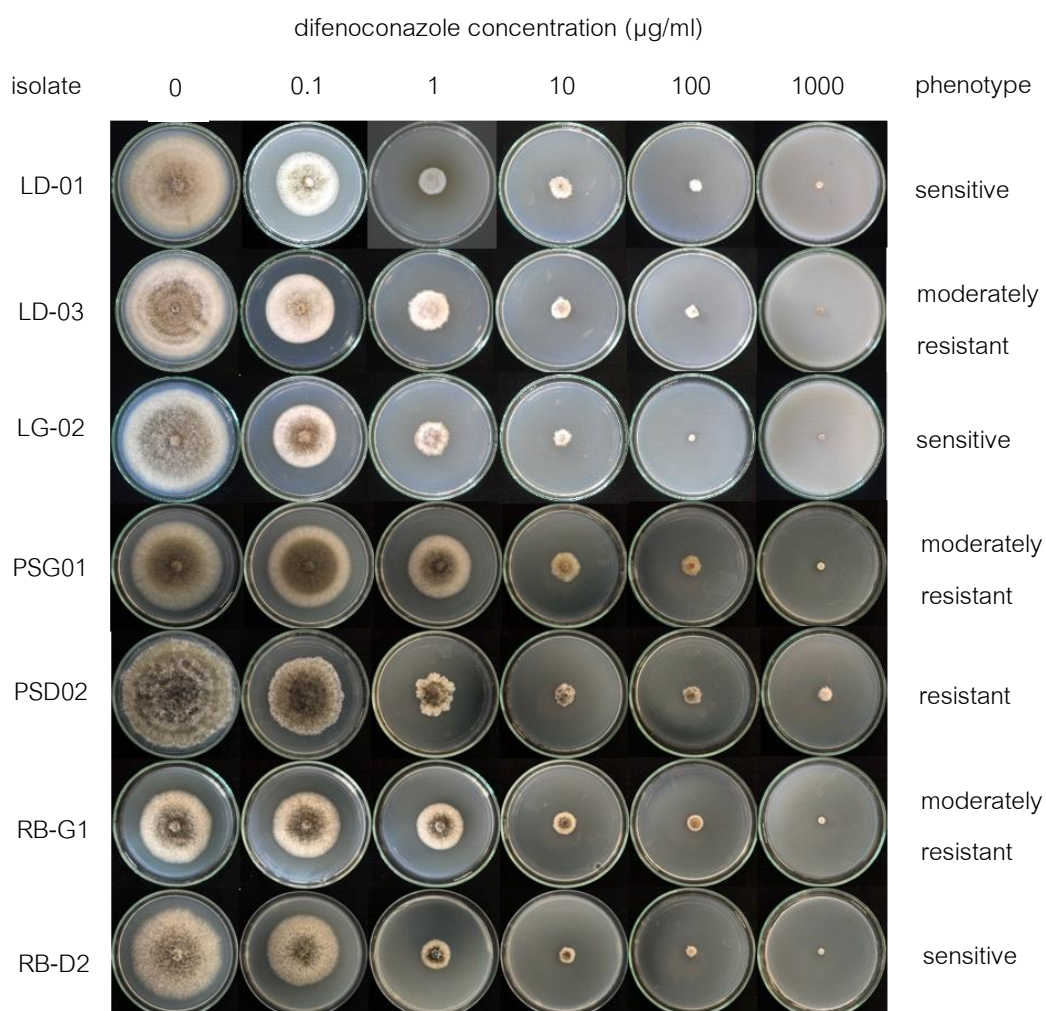
กลางของประเทศไทย ทุกไอโซเลทเกิดความต้านทานต่อสาร mancozeb และมี 8 ไอโซเลทที่ต้านทานต่อ benomyl และ carbendazim เช่นเดียวกับ Nuchuanrat & Jitsatta (2021) รายงานว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากมะม่วงอร่องร้อยละ 52 เกิดความต้านทานต่อสาร carbendazim ส่วนความต้านทานของเชื้อรา *Colletotrichum* ต่อสาร chlorothalonil พบในรายงานของ Cao et al., (2017) ที่กล่าวว่า เชื้อรา *C. acutatum* complex และ *C. gloeosporioides* species complexes ที่แยกได้จากยางพาราเกิดความต้านทานต่อสารเคมี chlorothalonil โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 151.44 และ 173.34 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม สารเคมี chlorothalonil ยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพืชหลายชนิด เช่น แตงโม และสตรอว์เบอร์รี่ (Jones et al., 2020; Pate, 2024) ซึ่ง chlorothalonil เป็นสารเคมีประเภทที่มีจุดจับจำเพาะหลายจุด (multisite activity) และมีความเสี่ยงต่ำที่จะทำให้เชื้อราเกิดความต้านทาน ซึ่งถ้าเชื้อราก็โรคชนิดนั้น ๆ ยังไม่พัฒนาความต้านทานต่อสาร chlorothalonil จึงควรใช้สารเคมีชนิดนี้สลับกับสารเคมีประเภทจุดจับจำเพาะจุดเดียว (single-site activity) เพื่อชะลอความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมีประเภท single-site activity โดย Jones et al., (2020) ได้กล่าวว่าหากเชื้อรายังไม่พัฒนาความต้านทานต่อสาร chlorothalonil จำเป็นจะต้องลดการใช้สารเคมีดังกล่าวให้น้อยลง เพื่อป้องกันหรือชะลอการพัฒนาความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมีชนิดนี้ให้ยาวนานที่สุด อันจะเป็นประโยชน์ต่อการนำ chlorothalonil มาสลับใช้กับสารประเภท single-site activity ได้อย่างยาวนานที่สุด เช่นเดียวกัน โดยอาจหาสารประเภทอื่นมาใช้ทดแทน chlorothalonil เช่น polyoxin D เป็นต้น

จากการทดลองในครั้งนี้ ยังพบว่า มีเชื้อรา 4 ไอโซเลท ได้แก่ LD-03, PSG01, PSD02 และ RB-G1 ได้พัฒนาความต้านทานทั้งในระดับต้านทานปานกลาง (MR , EC_{50} =16.72-34.14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และต้านทาน (R , EC_{50} >1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ต่อสารเคมี difenoconazole แล้ว ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากแหล่งปลูกทั้ง 3 จังหวัด (Table 3) และ (Figure 2) จึงอาจสันนิษฐานได้ว่าเชื้อราน่าจะมีการพัฒนาความต้านทานต่อ difenoconazole ในหลายพื้นที่แล้ว นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อราไอโซเลท PSD02 (จากจังหวัดพิจิตร) ที่นอกจากจะเกิดความต้านทานต่อ difenoconazole แล้ว ยังแสดงความต้านทาน (R , EC_{50} =155.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ต่อสารเคมี prochloraz (Table 3) และ (Figure 3) โดยสารเคมีทั้ง 2 ชนิดจัดอยู่ใน Class DMI ซึ่งมีกลไกยับยั้งการสังเคราะห์ sterol ในเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา (FRAC, 2024) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Ishi et al., (2021) ที่กล่าวว่าเชื้อรามีโอกาสพัฒนาต้านทานข้าม (cross-resistance) ต่อสารเคมีใน Class เดียวกันที่มีกลไกการออกฤทธิ์เหมือนกันได้ อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Gama et al., (2020) รายงานว่า เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคดอกส้มร่วงในประเทศบราซิลทั้ง 254 ไอโซเลทยังแสดงความอ่อนแอต่อสารเคมีใน Class DMI คือ difenoconazole และ tebuconazole นั่นอาจบ่งชี้ได้ว่าเชื้อราในแต่ละพื้นที่ที่มีการตอบสนองต่อสารเคมีได้แตกต่างกัน ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับประวัติการใช้สารเคมีในแต่ละพื้นที่ที่มีความแตกต่างกันนั่นเอง นอกจากนี้ การใช้สารเคมีผสมซึ่งแต่ละสารมีกลไกการออกฤทธิ์ต่างกัน จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงให้สูงขึ้น เช่น การใช้สาร mefentrifluconazole ผสมกับ pyraclostrobin (Wang et al., 2022) เป็นต้น

อย่างไรก็ตามควรจะทำการศึกษาทดสอบความต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อราบนเนื้อเยื่อพืชทั้งบนใบหรือบนผลรวมทั้งบนต้นกล้ามะม่วง เพื่อให้เกิดความสอดคล้องกับประสิทธิภาพของสารเคมีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากสารเคมีบางชนิดอาจไม่สามารถควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราไอโซเลทอ่อนแอต่อสารเคมีชนิดนั้น ๆ ได้ ดังจากรายงานของ Tongsri et al., (2023) ที่พบว่า สารเคมี dimethomorph และ etridiazole ไม่สามารถควบคุมโรคใบไหม้ของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* ทั้ง ๆ ที่เชื้อนั้นแสดงความอ่อนแอต่อสารเคมีทั้ง 2 ชนิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

Table 3 Sensitivity of *Colletotrichum* spp. isolates to five fungicides on culture medium.

isolates	difenoconazole		prochloraz		pyraclostrobin		chlorothalonil		mancozeb	
	EC ₅₀ (µg/ml)	phenotype ^{1/}	EC ₅₀ (µg/ml)	phenotype	EC ₅₀ (µg/ml)	phenotype	EC ₅₀ (µg/ml)	phenotype	EC ₅₀ (µg/ml)	phenotype
LD-01	12.68	S	0.75	S	256.00	R	572.00	R	919.00	R
LD-03	16.72	MR	0.31	S	71.00	R	623.00	R	582.00	R
LG-02	2.22	S	0.28	S	449.00	R	522.00	R	373.62	R
PSG01	34.14	MR	4.27	S	>100.00	R	777.06	R	181.01	R
PSD02	>1000.00	R	155.20	R	69.59	R	1,314.80	R	161.57	R
RB-G1	26.76	MR	5.37	S	125.78	R	663.84	R	191.87	R
RB-D2	8.50	S	0.87	S	>100.00	R	217.30	R	143.40	R

^{1/} S=sensitive, MR=moderately resistant, R=resistant.**Figure 2** Colony characteristics and phenotype of *Colletotrichum* spp. isolates grown on half PDA amended with difenoconazole at different concentrations after 7 days of incubation.

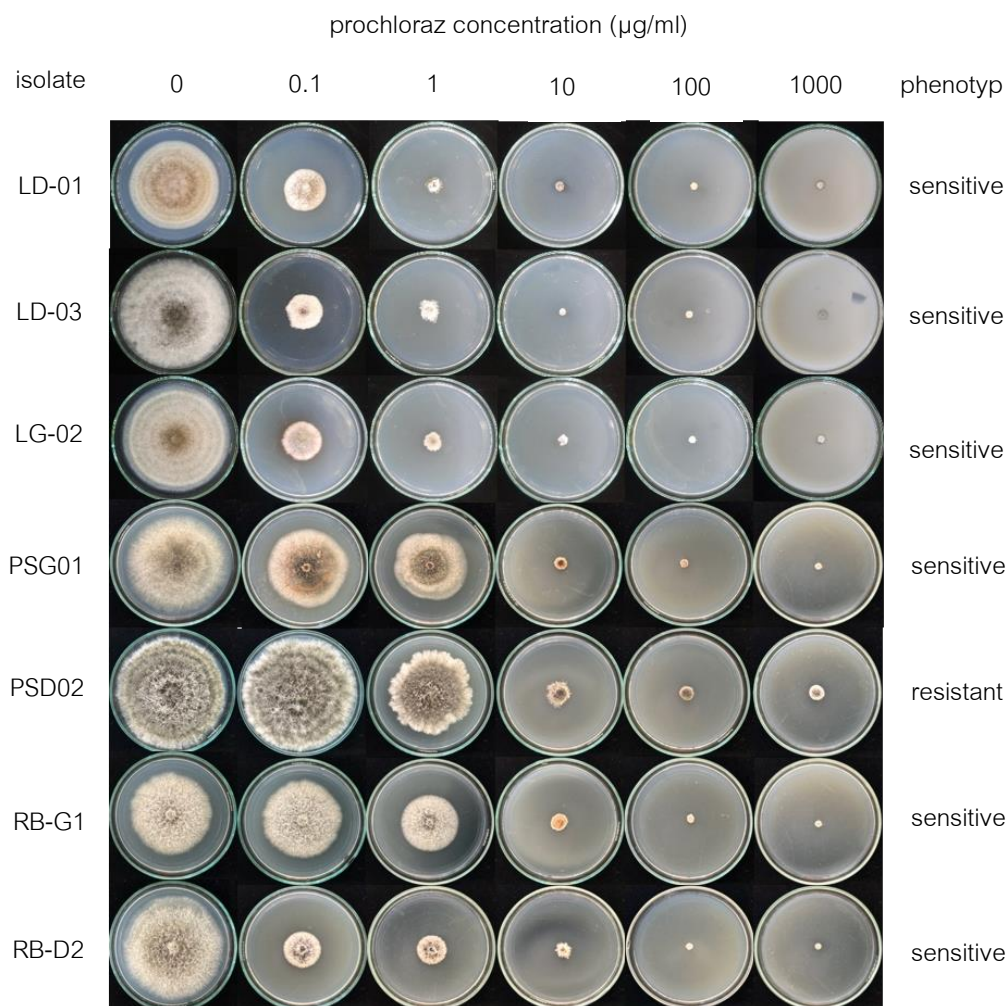


Figure 3 Colony characteristics and phenotype of *Colletotrichum* spp. isolates grown on half PDA amended with prochloraz at different concentrations after 7 days of incubation.

สรุป

เชื้อรา *Colletotrichum* ทั้ง 7 ไอโซเลทที่แยกได้จากใบและผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ปรากฏอาการของโรคแอนแทรคโนสจากทั้ง 3 แหล่งปลูก สามารถก่อให้เกิดโรคนบนใบมะม่วงได้ในระดับที่มีความรุนแรงแตกต่างกัน เมื่อทดสอบความต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าเชื้อราทุกไอโซเลทเกิดความต้านทานต่อสารเคมี 3 ชนิด ได้แก่ pyraclostrobin, chlorothalonil และ mancozeb และมีเชื้อรา 3 ไอโซเลทเกิดความต้านทานปานกลางต่อสารเคมี difenoconazole และมี 1 ไอโซเลทเกิดความต้านทานต่อสารเคมี 2 ชนิด คือ difenoconazole และ prochloraz อย่างไรก็ตามเชื้อราก่อโรคส่วนใหญ่ (6 จาก 7 ไอโซเลท) ยังมีความอ่อนแอต่อสารเคมี prochloraz ดังนั้นจึงควรทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีดังกล่าวในต้นมะม่วงเพื่อให้เกิดความมั่นใจที่จะแนะนำให้มีการใช้ในพื้นที่ปลูกมะม่วงทั้ง 3 แหล่งต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Batista, D. D. C., Alves-Júnior, M., Barbosa, M. A. G., Peruch, L. A. M., & Barbosa, M. A. G. (2023). Effects of agricultural practices and fungicides on the management postharvest anthracnose and stem-end rot of mango. *Australian Journal of Crop Science*, 17(9), 677-683. <https://doi.org/10.21475/ajcs.23.17.09.p3910>

- Cao, X., Xu, X., Che, H., West, J. S., & Luo, D. (2017). Distribution and fungicide sensitivity of *Colletotrichum* species complexes from rubber tree in Hainan, China. *Plant Disease*, 101(10), 1774-1780. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2024.107034>
- Chen, S. N., Luo, C. X., Hu, M. J., & Schnabel, G. (2016). Sensitivity of *Colletotrichum* species, including *C. fiorinae* and *C. nymphaeae*, from peach to demethylation inhibitor fungicides. *Plant Disease*, 100(12), 2435-2441. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105049>
- Department of Agricultural Extension. (2022). *Guideline document No. 3/2022: Quality mango production for export*. https://mediatank.doae.go.th/medias/file_upload/12-2022/3-1751705114510091.pdf (in Thai)
- Dethoup, T., Kaewkrajay, C., & Nujthet, Y. (2024). Field efficacy in controlling mango diseases of antagonist *Talaromyces tratensis* KUFA 0091 in fresh and dry formulations. *European Journal of Plant Pathology*, <https://doi.org/10.1007/s10658-024-02853-w>
- Dofuor, A. K., Quartey, N. K. A., Osabutey, A. F., Antwi-Agyakwa, A. K., Asante, K., Boateng, B. O., Ablormeti, F. K., Lutuf, H., Osei-Owusu, J., Osei, J. H. N., Ekloh, W., Loh, S. K., Honger, J. O., Aidoo, O. F., & Ninsin, K. D. (2023). Mango anthracnose disease: the current situation and direction for future research. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1168203. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1168203>
- FRAC. (2024, May 23). Fungicide Resistance Action Committee Code List[®]. <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2024.pdf>
- Gama, A. B., Baggio, J. S., Rebello, C. S., Lourenço, S. D. A., Gasparoto, M. C. D. G., Junior, G. J. D. S., Peres, N. A., & Amorim, L. (2020). Sensitivity of *Colletotrichum acutatum* isolates from citrus to carbendazim, difenoconazole, tebuconazole, and trifloxystrobin. *Plant Disease*, 104, 1621-1628. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-19-2195-RE>
- Grice, K. R. E., Bally, I. S. E., Wright, C. L., Maddox, C., Ali, A., & Dillon, N. L. (2023). Mango germplasm screening for the identification of sources of tolerance to anthracnose. *Australasian Plant Pathology*, 52, 27-41. <https://doi.org/10.1007/s13313-022-00899-0>
- Hu, S., Zhang, S., Xiao, W., Liu, Y., Yu, H., & Zhang, C. (2023). Diversity and characterization of resistance to pyraclostrobin in *Colletotrichum* spp. from strawberry. *Agronomy*, 13, 2824. <https://doi.org/10.3390/agronomy13112824>
- Ishi, H., Bryson, P. K., Kayamori, M., Miyamoto, T., Yamaoka, Y., & Schnabel, G. (2021). Cross-resistance to the new fungicide mefentrifluconazole in DMI-resistant fungal pathogens. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 171, 104737. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104737>
- Jenny, F., Sultana, N., Islam, M. M., Khandaker, M. M., & Bhuiyan, M. A. B. (2019). A review on anthracnose of mango caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Bangladesh Phytopathological Society*, 35(1&2), 65-74. <https://bps.net.bd/wp-content/uploads/2020/12/10.-A-REVIEW-ON-ANTHRACNOSE-OF-MANGO-CAUSED-BY-COLLETOTRICHUM-GLOEOSPORIOIDES.pdf>

- Jones, J. G., Korir, R. C., Walter, T. L., & Everts, K. L. (2020). Reducing chlorothalonil use in fungicide spray programs for powdery mildew, anthracnose, and gummy stem blight in melons. *Plant Disease*, 104, 3213-3220. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-20-0712-RE>
- Kannan, R., & Dhivya, V. (2023). *In-vitro* effect of different abiotic stresses on the growth and sporulation of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose of mango. *Indian Journal of Agricultural Research*, 57(2), 261-265. <https://doi.org/10.18805/IJARE.A-5916>
- Keeratirawee, K., & Kongtragoul, P. (2023). Synergistic effect of salicylhydroxamic acid in quinone outside inhibitor fungicides and its sensitivity on fruit rot pathogens. *Acta Horticulturae*, 1396. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2024.1396.17>
- Kongtragoul, P., Imamoto, K., & Ishii, H. (2020). Resistance to quinone-outside inhibitor (QoI) fungicides in *Colletotrichum* species isolated from anthracnose disease occurring in Thailand. *Current Applied Science and Technology*, 20(1), 79-89. <https://doi.org/10.14456/cast.1477.8>
- Kongtragoul, P., Somnuek, S., Udompongsuk, M., Prasom, P., & Jaenaksorn, T. (2022). Cross-resistance to benzimidazole group and mancozeb fungicides in *Colletotrichum* spp. causing anthracnose disease. *Science and Technology Asia*, 27(4), 400-408. <https://doi.org/10.14456/scitechasia.2022.95>
- Miguez, M., Reeve, C., Wood, P. M., & Hollomon, D. W. (2004). Alternative oxidase reduces the sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* to QOI fungicides. *Pest Management Science*, 60(1), 3-7. <https://doi.org/10.1002/ps.837>
- Moral, J., Agustí-Brisach, C., Agalliu, G., de Oliveira, R., Pérez-Rodríguez, M., Roca, L. F., Romero, J., & Trapero, A. (2018). Preliminary selection and evaluation of fungicides and natural compounds to control olive anthracnose caused by *Colletotrichum* species. *Crop Protection*, 114, 167-176. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.08.033>
- Nelson, S. C. (2008). *Mango anthracnose (Colletotrichum gloeosporioides)*. Cooperative Extension Service, Plant Disease, PD-48. <https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/server/api/core/bitstreams/10b3cac5-3241-44e8-b562-d1d2df17f6a9/content>
- Nuchnuanrat, P., & Jitsatta, N. (2021). Evaluation of fungicide carbendazim resistance in *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease of mango cv. Aokrong in Chanthaburi province. *RMUTSB Academic Journal*, 9(2), 164-173. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/rmutsb-sci/article/view/250724/173070> (in Thai)
- Pate, E. (2024). *Suggestions for anthracnose management in strawberries*. <https://onfruit.ca/wp-content/uploads/2024/05/2024-Anthraco-nose-Management-Suggestions.pdf>
- Ross, L. N., & Woodward, J. F. (2016). Koch's postulates: An interventionist perspective. *Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, 59, 35-46. <https://doi.org/10.1016/j.shpsc.2016.06.001>
- Tongsri, V., Nianwichai, P., Sichai, K., Songkumarn, P., Suttiviriya, P., & Kongtragoul, P. (2023). Sensitivity tests of dimethomorph, ethaboxam and etridiazole on *Phytophthora palmivora* causing stem rot and leaf blight of durian in eastern Thailand. *Agriculture and Natural Resources*, 57(4), 559-568. <https://doi.org/10.34044/j.anres.2023.57.4.01>

- Usman, H. M., Tan, Q., Karim, M. M., Adnan, M., Yin, W. X., Zhu, F. X., & Luo, C. X. (2021). Sensitivity of *Colletotrichum fructicola* and *Colletotrichum siamense* of peach in China to multiple classes of fungicides and characterization of pyraclostrobin-resistant isolates. *Plant Disease*, 105, 3459-3465. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0693-RE>
- Wang, S., Wang, X., He, Q., Lin, H., Chang, H., Liu, Y., Suna, H., & Song, X. (2022). Analysis of the fungicidal efficacy, environmental fate, and safety of the application of a mefentrifluconazole and pyraclostrobin mixture to control mango anthracnose. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103, 400-410. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12154>