

การประเมินความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราบางชนิดของรา *Colletotrichum* spp. ที่ก่อโรคในพริก

Evaluation of certain fungicide resistance of *Colletotrichum* spp., causal agent of disease in chilli

ฉัตรสุตา เผือกใจแผ้ว^{1*}, ชิชณพพงศ์ เพชรพรรณ¹ และ อรุมา เรืองวงศ์²

Chatsuda Phuakjaiphaeo^{1*}, Chisanuphong Phetphan¹
and On-Uma Ruangwong²

¹ สาขาวิชาอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

¹ Division of Plant Protection, Faculty of Agricultural Production, Maejo University

² ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช สาขาวิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

² Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

* Corresponding author: chatsuda_ph@mju.ac.th

บทคัดย่อ: โรคแอนแทรคโนสเป็นปัญหาสำคัญหนึ่งของการผลิตพริก ส่วนใหญ่ใช้สารเคมีในการควบคุมโรค ส่งผลให้เกิดการต้านทานของเชื้อสาเหตุได้ จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกชี้ฟ้าที่เก็บรวบรวมจากตลาดสดในอำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ได้จำนวน 18 ไอโซเลต เป็นเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (72.22%) และ *C. capsici* (27.78%) จากนั้นประเมินความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 4 ชนิด คือ เบนอิมิล คาร์เบนดาซิม ไชโปรโคนาโซล และโปรคลอราซ ด้วย poisoned food technique ผสมสารในอาหาร PDA ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10, 100, 500 และ 1,000 มก./ลิตร โดยแบ่งระดับความต้านทานออกเป็น 4 ระดับ พบว่า เชื้อราทุกไอโซเลตต้านทานสารคาร์เบนดาซิมในระดับสูง (Car^{HR}) ต้านทานต่อสารเบนอิมิลในระดับสูง (Ben^{HR}) และปานกลาง (Ben^{MR}) เท่ากับ 50% ต้านทานต่อสารไชโปรโคนาโซลในระดับสูง (Cyp^{HR}) ปานกลาง (Cyp^{MR}) และต่ำ (Cyp^{WR}) เท่ากับ 38.89% 11.11% และ 50% ตามลำดับ และต้านทานต่อสารโปรคลอราซในระดับสูง (Pro^{HR}) ปานกลาง (Pro^{MR}) และต่ำ (Pro^{WR}) เท่ากับ 55.56% 5.56% และ 33.33% แต่มี 1 ไอโซเลต (5.56%) ที่ไม่ต้านทาน (Pro^S) คือ ไอโซเลต CaA14 นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราจำนวน 2 ไอโซเลต (11.11%) ได้แก่ ไอโซเลต CaA17 และ CaA24 ต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราทั้ง 4 ชนิดในระดับสูง (HR) และจากการทดสอบการเกิดโรคบนผลพริกที่พ่นสารคาร์เบนดาซิม 500 มก./ลิตร (2 เท่าของอัตราแนะนำ) มีขนาดแผลของโรคแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าขนาดของแผลไม่ได้บ่งบอกถึงระดับความต้านทานของเชื้อรา

คำสำคัญ: ความต้านทาน; สารป้องกันกำจัดเชื้อรา; โรคแอนแทรคโนส; พริก; *Colletotrichum*

ABSTRACT: Anthracnose is one of the serious problem in chilli production and controlling it often involved fungicide uses, which may result in fungal pathogen resistance to fungicides. Infected chilli fruits by anthracnose disease were collected from fresh market in San Sai district, Chiang Mai province. Eighteen isolates were obtained and identified as *Colletotrichum gloeosporioides* (72.22%) and *C. capsici* (27.78%). Each isolate was assessed their fungicide resistant on PDA amended with 4 fungicides; benomyl, carbendazim, cyproconazole and prochloraz using poisoned food technique by mixed PDA with each of 4 fungicides at concentrations of 1, 10, 100, 500 and 1,000 mg/L. Fungicide resistances were divided into 4 levels. The results present that all isolates were highly resistant to carbendazim (Car^{HR}). Benomyl resistance at levels of high (Ben^{HR}) and moderate (Ben^{MR}) were equal to 50%. Cyproconazole resistance at levels of high (Cyp^{HR}), moderate (Cyp^{MR}) and weak (Cyp^{WR}) were 38.89%, 11.11% and 50%, respectively. Prochloraz resistance at levels of high (Pro^{HR}), moderate (Pro^{MR}) and weak (Pro^{WR}) were 55.56%, 5.56% and 33.33%, respectively; however, only 1 isolate (5.56%), *C. gloeosporioides* isolate CaA14 was sensitive to this fungicide (Pro^S). In addition, 2 isolates (11.11%), *C. gloeosporioides* isolate CaA17 and CaA24 showed highly resistance to all 4 fungicides. Furthermore, pathogenicity on applied chilli fruits with carbendazim

(500 mg/L, 2X recommended rate) occurred the disease lesion with different sizes, for this reason, the lesion size on chilli fruit did not indicate the fungicide resistant of the fungal pathogen.

Keywords: resistance; fungicide; anthracnose; chilli; *Colletotrichum*

บทนำ

พริกเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย ในปี 2562 มีพื้นที่ปลูกทั้งหมด 167,443 ไร่ พื้นที่เก็บเกี่ยว 343,566 ไร่ ผลผลิต 283,515 ตัน คิดเป็นมูลค่ามากกว่า 12,800 ล้านบาท แต่พบว่ามีจำนวนลดลงจากปีก่อนหน้าเป็นอย่างมาก (กรมวิชาการเกษตร, 2563) ปัญหาสำคัญหนึ่งของการปลูกพริก คือ โรคแอนแทรคโนส สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. โรคนี้จัดเป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญ สร้างความเสียหายได้ทั้งในโรคเก็บ การขนส่ง และจำหน่าย ทั้งนี้เชื้อราสาเหตุมีความสามารถในการเข้าทำลายแบบแฝง (latent infection) โดยเชื้อราเข้าทำลายพืชตั้งแต่ระยะที่ยังอ่อนโดยไม่ปรากฏอาการให้เห็น จนกระทั่งพืชเข้าสู่ระยะสุกแก่จึงพบการระบาดของโรค (สิริวรรณ และศานิต, 2553) การป้องกันกำจัดโรคเกษตรกรรมมักใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราโดยเฉพาะสารชนิดดูดซึม เช่น คาร์เบนดาซิม เบนโนมิล และไซโปรโคนาโซล ซึ่งออกฤทธิ์แบบเฉพาะจุด ส่งผลชักนำให้เชื้อราเกิดการปรับตัวเองเพื่อความอยู่รอด จนเกิดการกลายพันธุ์เป็นสายพันธุ์ที่ต้านทานสารป้องกันกำจัดเชื้อราขึ้น อาทิ เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่ต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมในระดับสูง เกิดจุดกลายพันธุ์ตรงตำแหน่ง codon ที่ 198 บนยีน *TUB2* ของเชื้อรา นอกจากนี้ลักษณะการกลายพันธุ์นี้สามารถถ่ายทอดสู่รุ่นลูกหลานได้ (พรประภา และสร้อยยา, 2553) จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพืชหลายชนิด เช่น พริก มะม่วง ต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา โดยเฉพาะสารคาร์เบนดาซิม (Kongtragoul et al., 2011; Suwan and Na-Lampang, 2013) ทำให้เกษตรกรไม่สามารถควบคุมโรคนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินระดับความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราเบนโนมิล คาร์เบนดาซิม ไซโปรโคนาโซล และโปรคลอราซของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capcisi* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกชี้ฟ้าที่เก็บรวบรวมจากตลาดสด 3 แห่งในอำเภอสนทราย จังหวัดเชียงใหม่ ในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นแนวทางศึกษาหาสารเคมีชนิดอื่นหรือสารชีวภาพทดแทน สำหรับลดความเสี่ยงในการต้านทานหรือดื้อยาของเชื้อราสาเหตุโรค

วิธีการศึกษา

การแยกเชื้อและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกชี้ฟ้า

เก็บรวบรวมพริกชี้ฟ้าที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสจากตลาดสด 3 แห่งในพื้นที่อำเภอสนทราย จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2563 จากนั้นแยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี tissue transplanting และวางชิ้นส่วนพืชบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มไว้ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิห้อง (30 °C) เป็นเวลา 3 วัน แล้วแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตามวิธีการของ Than et al. (2008) จากนั้นทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริกด้วยวิธี detached fruit ทำการทดลอง 4 ซ้ำ โดยวางชิ้นส่วนที่มีเชื้อราเจริญอยู่บนผลพริกที่ทำแผลด้วยเข็มเย็บหลอดเชื้อ จำนวน 3 แผลต่อจุด บ่มผลพริกชี้ฟ้าไว้ในกล่องชื้น เป็นเวลา 3 วัน บันทึกอาการของโรคที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับบริเวณที่วางด้วยชิ้นส่วน PDA

การประเมินระดับความต้านทานของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 4 ชนิด

ทดสอบความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ด้วยวิธี poisoned food technique โดยผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 4 ชนิด ได้แก่ เบนโนมิล (benomyl) คาร์เบนดาซิม (carbendazim) ไซโปรโคนาโซล (cyproconazole) และโปรคลอราซ (prochloraz) ในอาหาร PDA โดยสารแต่ละชนิดมีความเข้มข้นเท่ากับ 5 ระดับความเข้มข้นคือ 1, 10, 100, 500 และ 1,000 มก./ลิตร จากนั้นตัดเจาะเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราแต่ละไอโซเลตด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ย้ายเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) ทำการทดลอง 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรากับชุดควบคุมที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ไม่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา บ่มเชื้อไว้ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิห้อง (28±2 °C) เป็นเวลา 5-7 วัน บันทึกการเจริญของเส้นใยเชื้อราโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีและคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา จากนั้นประเมินระดับความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 4 ชนิด ตามเกณฑ์ของ พรประภา และสร้อยยา (2553) โดยแบ่งระดับความต้านทานออกเป็น 4 ระดับ ได้แก่ (1) ระดับไม่ต้านทาน (Sensitive; S) คือ เชื้อราเจริญได้ $\geq 10\%$ บนอาหาร PDA ผสมสารที่ความเข้มข้น ≤ 1 มก./ลิตร (2) ระดับต้านทานต่ำ (Weakly resistant; WR) คือ เชื้อราเจริญได้ $\geq 10\%$ บนอาหาร PDA ผสมสารที่ความเข้มข้น ≤ 10

มก./ลิตร (3) ระดับต้านทานปานกลาง (Moderately resistant; MR) คือ เชื้อราเจริญได้ $\geq 10\%$ บนอาหาร PDA ผสมสารที่ความเข้มข้น ≤ 100 มก./ลิตร และ (4) ระดับต้านทานสูง (Highly resistant; HR) คือ เชื้อราเจริญได้ $\geq 10\%$ บนอาหาร PDA ผสมสารที่ความเข้มข้น ≥ 500 มก./ลิตร

การทดสอบการเกิดโรคของเชื้อราที่ต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมบนผลพริกชี้ฟ้า

การทดสอบการเกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่ต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมบนผลพริกชี้ฟ้าที่พันธุ์สารคาร์เบนดาซิม ระดับความเข้มข้น 500 มก./ลิตร (2 เท่าของอัตราแนะนำ) ด้วยวิธี detached fruit วางเชื้อลงบนผลพริกชี้ฟ้าที่ทำแผลด้วยเข็มเย็บปลอดเชื้อ จำนวน 3 แผล วางแผนการทดสอบแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี บ่มผลพริกชี้ฟ้าไว้ในกล่องขึ้นเป็นเวลา 4 วัน จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลของโรคเปรียบเทียบกับบริเวณที่วางด้วยขึ้น PDA แล้ววิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละไอโซเลต ด้วยค่า Least significant difference (LSD) ที่ $P > 0.05$ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistix version 8.0 จากนั้นจัดกลุ่มตามระดับความสามารถในการเกิดโรค จำนวน 5 กลุ่ม (Suwan and Nalumpang, 2013) ได้แก่ 1) ไม่สามารถเกิดโรค (N) 2) เกิดโรคในระดับต่ำ (L) ขนาดแผล 0.1-5.0 มม. 3) เกิดโรคในระดับปานกลาง (M) ขนาดของแผล 5.1-10.0 มม. 4) เกิดโรคในระดับรุนแรง (H) ขนาดของแผล 10.1-15.0 มม. และ 5) เกิดโรคในระดับรุนแรงมาก (VH) ขนาดของแผลมากกว่า 15.1 มม.

ผลการศึกษา

เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกชี้ฟ้า

แยกเชื้อราจากพริกชี้ฟ้า จำนวน 25 ตัวอย่าง ได้ 18 ไอโซเลต (72%) เมื่อศึกษาลักษณะบนอาหาร PDA แบ่งเชื้อออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 จำนวน 13 ไอโซเลต (72.22%) มีเส้นใยเจริญฟูสีขาวเทาอมส้ม ด้านหลังโคโลนีมีเทาอมส้มอ่อน เมื่อเชื้อราเจริญเต็มที่พบโคนินเดียเจริญรวมกันเป็นกลุ่ม คล้ายหยดน้ำ สีส้ม เจริญเรียงซ้อนกันเป็นวง ลักษณะโคนินเดียเป็นเซลล์เดี่ยว ใส รูปทรงกระบอกหัวท้ายมน (cylindrical) ขนาด $3.5-5.2 \times 11.4-14.8$ ไมครอน จากลักษณะดังกล่าวสามารถจำแนกเบื้องต้นเป็นเชื้อรา *C. gloeosporioides* และกลุ่มที่ 2 จำนวน 5 ไอโซเลต (27.78%) มีเส้นใยเจริญฟูหนา สีเทาอมเขียว ด้านหลังโคโลนีมีสีเทาเขียว พบการสร้าง sclerotia เจริญปะปนอยู่ ลักษณะโคนินเดียเป็นเซลล์เดี่ยว ใส รูปรางคล้ายพระจันทร์เสี้ยว (fusiform) ขนาด $2.6-3.7 \times 23.1-28.2$ ไมครอน จากลักษณะดังกล่าวสามารถจำแนก เป็นเชื้อรา *Colletotrichum capsici* จากนั้นทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค พบว่า เชื้อราที่แยกได้ทุกไอโซเลตทำให้เกิดโรคบนผลพริกชี้ฟ้าได้ หลังปลูกเชื้อ 3 วัน พบจุดฉ่ำน้ำ แผลยุบตัวลง ตรงกลางแผลมีสีน้ำตาล และรอบแผลเป็นสีเหลือง

ระดับความต้านทานของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 4 ชนิด

จากการประเมินระดับความต้านทานของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 4 ชนิด บนอาหาร PDA พบว่ามีเชื้อราจำนวน 2 ไอโซเลต (11.11%) ได้แก่ *C. gloeosporioides* ไอโซเลต CaA17 และ CaA24 ต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราทั้ง 4 ชนิดในระดับสูง (HR) และมีเพียงเชื้อราไอโซเลตเดียว ($n = 1$; 5.56%) เท่านั้นที่ต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดเดียว (คาร์เบนดาซิม) ในระดับสูง ทั้งนี้เชื้อราส่วนใหญ่ ($n = 10$; 55.56%) ต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 2 ชนิดในระดับสูง คือ คาร์เบนดาซิมและไซโปรโคนาโซล หรือ เบโนมิลและคาร์เบนดาซิม หรือ คาร์เบนดาซิมและไพโรคลอราซ (Table 1)

Table 1 Resistance of different *Colletotrichum* spp. to 4 fungicides (benomyl, carbendazim, cyproconazole, prochloraz) as the percentage of mycelial growth inhibition and relative resistance levels according to an experiment conducted on PDA with different concentrations of fungicides added

<i>Colletotrichum</i> spp. isolates		Percent of mycelial growth inhibition ^{1/} and resistance level ^{2/}							
		benomyl		carbendazim		cyproconazole		prochloraz	
<i>C. capsici</i>	CaA1	40.83 ^{E3/}	MR ^{2/}	32.50 ^D	HR	35.00 ^D	HR	100.00 ^A	WR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA2	24.17 ^G	HR	25.83 ^E	HR	100.00 ^A	WR	100.00 ^A	WR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA3	60.83 ^C	MR	0.00 ^I	HR	100.00 ^A	WR	10.83 ^{EF}	HR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA5	68.33 ^B	MR	0.00 ^I	HR	27.50 ^{FG}	HR	100.00 ^A	WR
<i>C. capsici</i>	CaA6	38.33 ^{EF}	MR	8.33 ^H	HR	100.00 ^A	WR	0.00 ^G	HR
<i>C. capsici</i>	CaA11	20.83 ^H	HR	25.00 ^E	HR	48.33 ^C	MR	0.00 ^G	HR
<i>C. capsici</i>	CaA12	18.33 ^{HI}	HR	24.17 ^E	HR	100.00 ^A	WR	24.17 ^D	HR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA14	0.00 ^L	HR	37.50 ^C	HR	100.00 ^A	WR	100.00 ^A	S
<i>C. capsici</i>	CaA15	46.67 ^D	MR	19.17 ^F	HR	76.67 ^B	MR	8.33 ^F	HR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA17	15.00 ^{JK}	HR	40.83 ^B	HR	26.67 ^G	HR	30.00 ^C	HR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA22	16.67 ^{UK}	HR	0.00 ^I	HR	100.00 ^A	WR	11.67 ^E	HR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA24	18.33 ^{HI}	HR	0.00 ^I	HR	29.17 ^{EF}	HR	29.17 ^C	HR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA25	14.17 ^K	HR	17.50 ^{FG}	HR	100.00 ^A	WR	44.17 ^B	MR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA26	69.17 ^B	MR	15.83 ^G	HR	100.00 ^A	WR	9.17 ^{EF}	HR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA27	70.83 ^B	MR	47.50 ^A	HR	100.00 ^A	WR	100.00 ^A	WR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA28	35.83 ^F	MR	0.00 ^I	HR	30.83 ^E	HR	100.00 ^A	WR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA31	17.50 ^J	HR	38.33 ^C	HR	27.50 ^{FG}	HR	100.00 ^A	WR
<i>C. gloeosporioides</i>	CaA33	79.17 ^A	MR	41.67 ^B	HR	38.83 ^D	HR	24.17 ^D	HR
%CV		5.06		7.79		2.26		3.72	
LSD _{0.05}		2.61		2.30		2.20		2.61	

^{1/} Percentage of mycelial growth inhibition = mycelial growth on PDA mixed with 100 mg/L of each of 4 fungicides compared to control.

^{2/} Resistant response against 4 fungicides on PDA: HR = highly resistant ($\geq 10\%$ of mycelial growth at ≥ 500 mg/L), MR = moderately resistant ($\geq 10\%$ of mycelial growth at ≤ 100 mg/L), WR = weakly resistant ($\geq 10\%$ of mycelial growth at ≤ 10 mg/L) and S = sensitive ($\geq 10\%$ of mycelial growth at ≤ 1 mg/L), respectively.

^{3/} Means followed by a common letter in each column are not significantly different by LSD at $P < 0.05$.

การเกิดโรคของเชื้อราที่ต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมบนผลพริกชี้ฟ้า

จากการทดสอบการเกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่ทุกไอโซเลตแสดงความต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมเป็น Car^{HR} บนผลพริกชี้ฟ้าที่พ่นด้วยสารคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 500 มก./ลิตร (2 เท่าของอัตราแนะนำ) พบว่าหลังบ่มผลพริกไว้ 2 วัน เชื้อราทุกไอโซเลตสามารถก่อให้เกิดแผลจุดสีน้ำตาล ฉ่ำน้ำ เนื้อเยื่อผิวยุบตัวลงเล็กน้อย ซึ่งเป็นอาการเริ่มแรกของโรคแอนแทรคโนส เมื่อเวลาผ่านไป 4 วัน แผลขยายตัวขึ้น มีขนาดแตกต่างกันในแต่ละไอโซเลต บางไอโซเลตจะสร้าง spore mass สีส้มบนแผล โดยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลต CaA31 ($n = 1$; 5.56%) ก่อให้เกิดแผลขนาดใหญ่ที่สุด ขนาด 22.5 มม. แตกต่างกับไอโซเลตอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Figure 1) มีความรุนแรงของโรคระดับสูงมาก มีลักษณะแผลแห้ง เป็นวงเรียงซ้อนกัน แผลขยายตามขนาดทั้งด้านกว้างและยาวของผล รองลงมาได้แก่ เชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลต CaA17 CaA22 และ CaA24 ($n = 3$; 16.67%) ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคระดับสูง มีขนาดแผลเฉลี่ย 13.93 มม. (ค่าระหว่าง 12-15 มม.) แตกต่างกับไอโซเลตอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แผลยุบตัวลงขนาดใหญ่เป็นรูปวงกลมถึงวงรี เป็นวงเรียงซ้อนกัน และบริเวณกลางแผลแห้ง สำหรับเชื้อราส่วนใหญ่ ($n = 11$; 61.11%) ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคระดับปานกลาง มีขนาดแผลเฉลี่ย 7.73 มม. (ค่าระหว่าง 6-

10 มม.) แผลเป็นจุลฉ่ำน้ำ สีน้ำตาล ยุบตัวลง และเชื้อราจำนวน 3 ไอโซเลท (16.67%) ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคต่ำ มีขนาดแผลเฉลี่ย 3.77 มม. (ค่าระหว่าง 3-5 มม.) แผลเป็นจุลฉ่ำน้ำ สีน้ำตาลดำ และยุบตัวลงเล็กน้อย

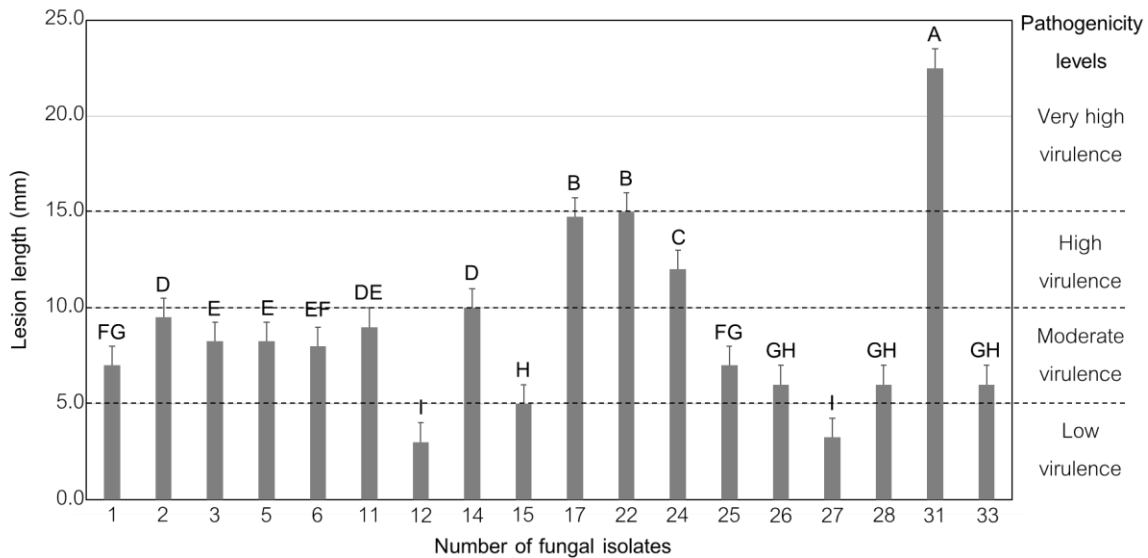


Figure 1 Pathogenicity level of *Colletotrichum* spp. isolates highly resistant to carbendazim as determined by lesion length on chilli fruits at 4 day post inoculation (dpi)

วิจารณ์

จากการแยกเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสจากผลพริกชี้ฟ้าพบว่าสาเหตุส่วนใหญ่ (72.22%) เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* และที่เหลือเกิดจากเชื้อรา *C. capsici* สอดคล้องกับรายงานของ รัตติกาล และคณะ (2561) ซึ่งพบเชื้อรา *C. gloeosporioides* มากที่สุด รองลงมาคือ *C. capsici* เข้าทำลายผลพริกในพื้นที่จังหวัดขอนแก่นและชัยภูมิ นอกจากนี้ รายงานของ ธารทิพย์ และคณะ (2561) และ Than et al. (2008) พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* และ *C. capsici* เป็นเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในแหล่งปลูกพริกของประเทศไทย จากการประเมินความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 4 ชนิด พบว่า เชื้อราทุกไอโซเลทต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมในระดับสูง (Car^{HR}) สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่ามากกว่า 50% ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้จากมะม่วง พริก สตรอว์เบอร์รี และมันเทศ มีความต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมในระดับสูง (Kongtragoul et al., 2011; Suwan and Na-Lampang, 2013; Han et al., 2018) เนื่องจากสารนี้เป็นหนึ่งในสารเคมีกลุ่มเบนซิมิดาโซลที่มีการแนะนำให้เกษตรกรใช้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ส่งผลให้เกิดการต้านทานหรือดื้อยาและเป็นอุปสรรคต่อการจัดการโรค (Saxena et al., 2016) จากการเกิดโรคบนผลพริกที่พื้นสารคาร์เบนดาซิม พบขนาดแผลของโรคที่เกิดจากเชื้อราในกลุ่ม Car^{HR} แตกต่างกันไป มีความรุนแรงของโรคระดับต่ำถึงสูงมาก แสดงให้เห็นว่าขนาดแผลของโรคไม่สอดคล้องกับระดับความต้านทานสารเคมี เช่นเดียวกับรายงานของ Fan et al. (2016) พบว่าความรุนแรงในการก่อโรคบนผลมะเขือเทศของเชื้อรา *Botrytis cinerea* ระหว่างกลุ่มที่ไม่ต้านทานและต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งขนาดแผลของโรคไม่มีความสัมพันธ์กับค่า EC_{50} ของสารคาร์เบนดาซิม เนื่องจากความเสถียรของการต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราขึ้นอยู่กับความแปรผันทางพันธุกรรม สอดคล้องกับรายงานของ Suwan and Na-Lampang (2013) พบว่า ความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกชี้ฟ้าในระดับสูงมาก มีขนาดแผล 15.3-25.0 มม. เกิดจากการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราที่ต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมในระดับสูง (Car^{HR}) และระดับต่ำ (Car^{WR}) ส่วนความต้านทานต่อสารเบนโนมิลที่เป็นสารอีกชนิดหนึ่งในกลุ่มเบนซิมิดาโซล พบว่าเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ต้านทานในระดับสูงและปานกลาง (50%) แต่หากยังมีใช้สารชนิดนี้อย่างต่อเนื่อง อาจส่งผลให้เกิดการดื้อยาได้ในอนาคต ซึ่งพบได้ในเชื้อรา *C. truncatum* 87 ไอโซเลทของพริกหยวกในประเทศสาธารณรัฐตรีเนดัดและโตเบโกที่มีความต้านทานต่อสารเบนโนมิลในระดับสูงทั้งหมด (Ramdial et al., 2016) สำหรับความต้านทานต่อสารไซโปรโคนาโซล (สารเคมีกลุ่มไตรอะโซล) และไพโรคลอราซ (สารเคมีกลุ่มอิมิดาโซล) มีความต้านทานในระดับสูงเท่ากับ 38.89% และ 55.56% ตามลำดับ แตกต่างจากรายงานของ Senders et al. (2000) พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของโวกาโดและมะม่วงในประเทศแอฟริกาใต้ไม่ต้านทานต่อสารไพโรคลอราซ นอกจากนี้ Zhang et al. (2013) ยังพบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของมะม่วงในประเทศจีนที่ต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิม ถูกยับยั้งการเจริญของเส้นใยด้วยสารไพโรคลอราซ Zhang et al. (2017) กล่าวว่าสารไพโรคลอราซยับยั้งเชื้อรา *C. truncatum* ได้ดี ควร

แนะนำให้เกษตรกรในประเทศจีนใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสในแปลงปลูกพริก แต่ไม่ควรแนะนำสารเคมีกลุ่มไตรอะโซล เพราะต้องใช้ความเข้มข้นของสารเคมีระดับสูงเพื่อยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค ดังนั้นการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกชี้ฟ้า ควรใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราแบบหมุนเวียนสลับกลุ่มสารเคมีเพื่อลดความเสี่ยงต่อการต้านทานของเชื้อราสาเหตุโรค รวมทั้งเลือกใช้สารเคมีชนิดอื่นร่วมด้วย อาทิ ไมโคลบิวทานิล อะซอกซิสโตรบิน+ไดฟโนโคนาโซล อีกทั้งยังสามารถใช้สารอื่นทดแทน แต่ยังคงมีศักยภาพในการควบคุมโรค เช่น แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. (ปัทมวรรณ และพิศาล, 2556; รัตติกาล และคณะ, 2561) ราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. และสารสกัดจากพืช (Oo and Oh, 2016)

สรุป

โรคแอนแทรคโนสของพริกชี้ฟ้าเกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ซึ่งทุกไอโซเลทมีความต้านทานต่อสารคาร์เบนดาซิมในระดับสูง รองลงมาคือ สารโพคลอราซ สารเบนโนมิล และสารไซโปรโคนาโซล ตามลำดับ เชื้อราส่วนใหญ่ต้านทานระดับสูงต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 2 ชนิด ซึ่ง 70% ของเชื้อกลุ่มนี้จะต้านทานเฉพาะสารเคมีในกลุ่มเบนซิมิดาโซล คือ สารเบนโนมิลและสารคาร์เบนดาซิม ทั้งนี้เชื้อราไอโซเลท CaA17 และ CaA24 ต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราทั้ง 4 ชนิด และมีเพียงไอโซเลท CaA14 ที่ไม่ต้านทานต่อสารโพคลอราซเท่านั้น นอกจากนี้ผลการทดสอบชี้ให้เห็นว่าขนาดของผลบนผลพริกไม่ได้แสดงถึงระดับความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2563. สถานการณ์การผลิตพริก. แหล่งข้อมูล: http://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2020/10/สถานการณ์พริก_ตุลาคม63.pdf. ค้นเมื่อ 26 ตุลาคม 2563.
- ธารทิพย์ ภาสบุตร, อภิรัชต์ สมฤทธิ์, อมรรักษ์ คิดใจเดียว, และมะโนรัตน์ สุดสงวน. 2561. ศึกษาชนิดและเขตการแพร่กระจายของรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก. หน้า 326-352. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2561 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- พรประพา คงตระกูล และ สรัญญา ณ ลำปาง. 2553. ลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ต้านทานสารคาร์เบนดาซิม. วารสารเกษตร. 26: 203-212.
- ปัทมวรรณ มณีสวรรณ และ พิศาล ศิริธร. 2556. ผลของแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* BFP011 ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. แก่นเกษตร. 41: 327-332.
- รัตติกาล ยุทธศิลป์, นฤทัย วรสถิตย์, กุศล ถมมา, วิมลรัตน์ คำขำ และปภัสนร์ สีลารักษ์. 2561. การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. แก่นเกษตร. 46: 1595-1600.
- สิริวรรณ สมิตธิอาภรณ์ และ ศานิต สวัสดิ์กัญจน์. 2553. ผลของสารสกัดมะรุมและฟ้าทะลายโจรต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41: 305-308.
- Fam, F., N. Li, G.Q. Li and Luo, C.X. 2016. Occurrence of fungicide resistance in *Botrytis cinerea* from greenhouse tomato in Hubei Province, China. Plant Disease. 100: 2414-2421.
- Han, Y.C., X.G. Zeng, F.Y. Xiang, Q.H. Zhang, C. Guo, F. Chen, and Y.C. Gu. 2018. Carbendazim sensitivity in populations of *Colletotrichum gloeosporioides* complex infecting strawberry and yams in Hubei Province of China. Journal of Integrative Agriculture. 17: 1391-1400.
- Kongtragoul, P., S. Nalumpang, Y. Miyamoto, Y. Izumi, and K. Akimitsu. 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: 377-384.
- Oo, M.M. and S.K. Oh. 2016. Chilli anthracnose (*Colletotrichum* spp.) disease and its management approach. Korean Journal of Agricultural Science. 43: 153-162.
- Ramdial, H., F.N. Hosein, and S.N. Rampersad. 2016. Detection and molecular characterization of benzimidazole resistance among *Colletotrichum truncatum* isolates infecting bell pepper in Trinidad. Plant Disease. 100: 1146-1152.
- Sanders, G. M., L. Korsten and F.C. Wehner. Survey of fungicide sensitivity in *Colletotrichum gloeosporioides* from different avocado and mango production areas in South Africa. European Journal of Plant Pathology. 106: 745-752.

- Saxena, A., R. Raghuwanshi, V.K. Gupta, and H.B. Singh. 2016. Chilli anthracnose: The epidemiology and management. *Frontiers in Microbiology*. 7:1527. doi: 10.3389/fmicb.2016.01527.
- Suwan, N. and S. Na-Lamphang. 2013. Characterization and evaluation of carbendazim-resistance response of *Colletotrichum* species. *Journal of Agricultural Technology*. 9: 1883-1894.
- Than, P.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 disease on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathology*. 57: 562-572.
- Zhang, L.H., M. Li, Z.Y. Gao, Z.K. Zhang, F.Z. Yang, Y.X. Xie, M.J. Hu, and Y. Yang. 2013. Screening and cross-resistance analysis of alternative fungicides against carbendazim-resistant *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. from mango (*Mangifera indica* L.). *Acta horticulturae*. 992: 415-421.
- Zhang, C., Y. Diao, W. Wang, J. Hao, M. Imran, H. Duan, and X. Liu. 2017. Assessing the risk for resistance and elucidating the genetics of *Colletotrichum truncatum* that is only sensitive to some DMI fungicides. *Frontiers in Microbiology*. 8:1779. doi: 10.3389/fmicb.2017.01779.