ผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคของข้าว

Effect of fungicides on the growth of rice pathogenic fungi

อนันต์ วงเจริญ[1*]

Anan Wongcharoen[1*]

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราทั้งแบบดูดซึม ได้แก่ carbendazim (500 µg/ml) tricyclazole (375 µg/ml) thiophanate-methyl (700 µg/ml) และ difenoconazole (0.25 µl/ml) และสารเคมีแบบสัมผัส ได้แก่ edifenphos (0.768 µl/ml) mancozeb (2,000 µg/ml) copper hydroxide (770 µg/ml) และ iprodione (500 µg/ml) ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่สำคัญได้แก่ *Curvularia lunata* (CUR) *Bipolaris oryzae* (BIPO) *Bipolaris* sp. ไอโซเลต BSK1 (BIP), *Fusarium* sp. ไอโซเลต FSK1 (FUS1) และไอโซเลต FSK2 (FUS2) สาเหตุโรคเมล็ดด่าง *Magnaporthe grisea* (MAG) สาเหตุโรคไหม้ และ *Rhizoctonia solani* (RHI) สาเหตุโรคกาบใบแห้ง ทดสอบโดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารที่ผสมสารเคมี พบว่า สารแบบดูดซึมที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ CUR BIPO และ BIP ดีที่สุด ได้แก่ difenoconazole โดยมีการยับยั้งเท่ากับ 95 100 และ 90% ตามลำดับ ส่วนสารแบบสัมผัสที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ CUR BIPO และ BIP ได้ 100% ได้แก่ mancozeb และ iprodione สารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ FUS1 และ FUS2 เท่ากับ 100% ได้แก่ carbendazim thiophanate-methyl และ mancozeb สารที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา MAG เท่ากับ 100% ได้แก่ carbendazim thiophanate-methyl difenoconazole edifenphos และ mancozeb สารเคมีที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ RHI เท่ากับ 100% ได้แก่ carbendazim thiophanate-methyl edifenphos mancozeb และ iprodione

คำสำคัญ: โรคเมล็ดด่าง โรคไหม้ โรคกาบใบแห้ง ความต้านทานสารเคมีกำจัดเชื้อรา tricyclazole

ABSTRACT: The objective of this study is to evaluate the effect of fungicides (systemic: carbendazim (500 μg/ml), tricyclazole (375 μg/ml), thiophanate methyl (700 μg/ml) and difenoconazole (0.25 μl/ml), contact: edifenphos (0.768 μl/ml), mancozeb (2,000 μg/ml), copper hydroxide (770 μg/ml) and iprodione (500 μg/ml) on inhibition of the growth of important rice pathogenic fungi including *Curvularia lunata* (CUR), *Bipolaris oryzae* (BIPO), *Bipolaris* sp. isolate BSK1 (BIP), *Fusarium* sp. isolate FSK1 (FUS1) and FSK2 (FUS2) causing of kernel spotting, *Magnaporthe grisea* (MAG) causing of rice blast and *Rhizoctonia solani* (RHI) causing of sheath blight. The test was done in culture agar added with the fungicides. The results showed that systemic fungicide, difenoconazole, was the most effective to inhibit CUR BIPO and BIP with inhibition of 95, 100 and 90% respectively. The contact fungicides that had completely inhibited the growth of BIPO BIP and CUR were mancozeb and iprodione. MAG was completely inhibited (100%) by carbendazim, thiophanate-methyl, difenoconazole, edifenphos and mancozeb. Fungicides that completely suppressed the growth of FUS1 and FUS2 were carbendazim, thiophanate-methyl and mancozeb. Fungicides that completely inhibited the mycelial growth of RHI were carbendazim, thiophanate-methyl, edifenphos, mancozeb and iprodione.

Keywords: kernel spotting, rice blast, sheath blight, fungicide resistance, tricyclazole

[1] ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002
Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand

* Corresponding author: wanan@kku.ac.th

บทนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ปลูกข้าวมากที่สุด แต่มีผลผลิตต่อไร่ต่ำที่สุด สาเหตุสำคัญคือข้าวเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา ได้แก่ โรคเมล็ดด่าง (kernel spotting) จากเชื้อราหลายชนิด เช่น *Curvularia lunata* *Bipolaris oryzae* (syn. *Helminthosporium oryzae*) *Bipolaris* spp. และ *Fusarium* spp. เป็นต้น โรคไหม้ (blast) จากเชื้อรา *Magnaporthe grisea* (anamorph: *Pyricularia grisea*) โรคกาบใบแห้ง (sheath blight) จากเชื้อ *Rhizoctonia solani* ปัจจุบันการป้องกันกำจัดโรคข้าวยังคงใช้สารเคมีอยู่ เนื่องจากพื้นที่ปลูกมีขนาดใหญ่จึงสะดวกต่อการควบคุมโรค แต่การใช้สารเคมีที่ไม่ถูกวิธี ได้แก่ การใช้สารที่ไม่เหมาะสมต่อสกุล (Genus) ของเชื้อโรค และการใช้สารแบบดูดซึมที่มีสารออกฤทธิ์ (active ingredient) เพียงชนิดเดียวต่อเนื่องเป็นเวลานาน ทำให้เชื้อเกิดการดื้อยา สาเหตุเหล่านี้ทำให้ไม่สามารถควบคุมการระบาดของโรคได้ และยังเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิตอีกด้วย อีกทั้งเชื้อรายังเกิดความต้านทานข้าม (cross-resistance) ระหว่างกลุ่มของสารเคมีได้ (Taga et al., 1979)

แนวทางในการแก้ปัญหาการดื้อยา ได้แก่ การใช้สารออกฤทธิ์ต่างกลุ่มฉีดพ่นสลับกัน และต้องคำนึงถึงความเสี่ยงต่อการดื้อยาที่ได้มีรายงานใน FRAC (2012) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของสารกำจัดเชื้อราทั้งประเภทสัมผัส (contact) และดูดซึม (systemic) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวต่างๆ ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ

วิธีการศึกษา

เชื้อราสาเหตุโรคของข้าว

เชื้อราสาเหตุโรคข้าวในการศึกษานี้ แยกเชื้อจากต้นข้าวในสภาพธรรมชาติ (Table 1) และคัดเลือกไอโซเลตที่ผ่านการทดสอบการก่อโรค (pathogenicity test) โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 °ซ เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. มาเจาะอาหารบริเวณที่มีปลายของเส้นใยเจริญ ย้ายชิ้นวุ้นลงบนใบของต้นข้าวที่มีอายุประมาณ 60 วัน และตรวจสอบการเกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน

Table 1 List of rice pathogenic fungi used in this study.

Pathogen	Source of isolate	Disease	Location
Curvularia lunata (CUR)	infected seed	Kernel spotting	Mueang, Khon Kaen
Bipolaris oryzae (BIPO)	infected seed	Kernel spotting	Mueang, Khon Kaen
Bipolaris sp. isolate BSK1 (BIP)	infected seed	Kernel spotting	Mueang, Khon Kaen
Fusarium sp. isolate FSK1 (FUS1)	infected seed	Kernel spotting	Mueang, Khon Kaen
Fusarium sp. isolate FSK2 (FUS2)	infected seed	Kernel spotting	Mueang, Khon Kaen
Magnaporthe grisea (MAG)	Infected leaf	Leaf blast	Kosum Phisai, Maha Sarakham
Rhizoctonia solani (RHI)	infected sheath	Sheath blight	Mueang, Khon Kaen

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อรา

เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. เจาะอาหารบริเวณที่มีปลายของเส้นใยเจริญ ย้ายชิ้นวุ้นลงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารเคมีกำจัดเชื้อราชนิดต่างๆ โดยใช้ความเข้มข้นสูงสุดตามที่ฉลากระบุ จากนั้นบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน บันทึกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยทั้ง 2 ด้าน ที่ทำมุมตั้งฉากกัน คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากสูตร P = (C-T)/C x 100 โดย P = เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง C = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในกรรมวิธีควบคุม และ T = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในกรรมวิธีทดสอบ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) กรรมวิธีสอบ ได้แก่ อาหาร PDA ที่ผสมสารเคมีจำนวน 8 ชนิด ดังรายละเอียดใน **Table 2** และกรรมวิธีควบคุม ได้แก่ อาหาร PDA ที่ไม่ได้ผสมสารเคมี ทุกกรรมวิธีทำการทดสอบ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติ SPSS v.19 for Window

Table 2 List of fungicides used in this study.

Common name	Concentration	Chemical group	Systemic/ non-systemic	FRAC code	Risk of resistance
Carbendazim (WP)	500 µg/ml	benzimidazoles	Systemic	1	High
Thiophanate-methyl (WP)	700 µg/ml	thiophanates	Systemic	1	High
Tricyclazole (WP)	375 µg/ml	Triazolobenzo- thiazole	Systemic	16.1	Not Known
Difenoconazole (EC)	0.25 µl/ml	triazoles	Systemic	3	Medium
Edifenphos (EC)	0.768 µl/ml	phosphoro-thiolates	Contact	6	Low to medium
Mancozeb (WP)	2,000 µg/ml	dithio-carbamates	Contact	M3	Low
Copper hydroxide (WP)	770 µg/ml	inorganic	Contact	M1	Low
Iprodione (WP)	500 µg/ml	dicarboximides	Contact	2	Medium to high

ผลการศึกษา

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคข้าว

สารเคมีแต่ละชนิด มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวแต่ละชนิดแตกต่างกัน ดังแสดงใน **Table 3** สารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ CUR ได้ 100% พบเฉพาะในสารแบบสัมผัส ได้แก่ mancozeb และ iprodione สารที่ยับยั้งเชื้อ BIPO เท่ากับ 100 % ได้แก่ สารแบบดูดซึม difenoconazole และ แบบสัมผัส mancozeb และ iprodione รองมา ได้แก่ สารแบบสัมผัส edifenphos และ copper hydroxide สารที่ยับยั้งเชื้อ BIP เท่ากับ 100% ได้แก่ สารแบบสัมผัส mancozeb และ iprodione สารที่ยับยั้งเชื้อ FUS1 และ FUS2 ได้ 100% พบในสารแบบดูดซึม carbendazim และ thiophanate-methyl และแบบสัมผัส mancozeb สารที่ยับยั้งเชื้อ MAG เท่ากับ 100% ได้แก่ สารแบบดูดซึม carbendazim thiophanate-methyl และ difenoconazole และสารแบบสัมผัส mancozeb และ edifenphos สารที่ยับยั้งเชื้อ RHI เท่ากับ 100% ได้แก่ สารแบบดูดซึม carbendazim และ thiophanate-methyl และแบบสัมผัส edifenphos mancozeb และ iprodione

Table 3 Inhibition of rice pathogenic fungi by different fungicides in agar medium.

Fungicide	Inhibition (%) [1/]						
	CUR	BIPO	BIP	FUS1	FUS2	MAG	RHI
Carbendazim	30 f	4 d	4 d	100 a	100 a	100 a	100 a
Thiophanate methyl	19 g	0 d	0 e	100 a	100 a	100 a	100 a
Tricyclazole	48 e	17 c	11 c	45 d	30 e	69 c	0 d
Difenoconazole	95 b	100 a	90 b	91 b	91 b	100 a	87 b
Edifenphos	84 d	93 b	86 b	71 c	78 d	100 a	100 a
Mancozeb	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Copper hydroxide	88 c	90 b	88 b	70 c	83 c	73 bc	60 c
Iprodione	100 a	100 a	100 a	71 c	77 d	77 b	100 a

[1/] BIPO : *Bipolaris oryzae*, BIP : *Bipolaris* sp. isolate BSK1, CUR: *Curvularia lunata*, MAG: *Magnaporthe grisea*, FUS1: *Fusarium* sp. isolate FSK1, FUS2 : *Fusarium* sp. isolate FSK2, RHI : *Rhizoctonia solani*

Means within a column followed by same letter are not significantly different at P<0.05 by DMRT

สรุปและวิจารณ์

สารเคมีแบบดูดซึมที่ค่อนข้างเจาะจงต่อเชื้อสาเหตุโรค ได้แก่ carbendazim และ thiophanate-methyl ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่สร้างสปอร์ใส (hyaline) ได้แก่ FUS1 FUS2 MAG และ RHI ในขณะที่ difenoconazole ยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้หลายชนิด (broad spectrum) จึงเหมาะต่อการใช้สลับกับสาร carbendazim และ thiophanate-methyl ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม Methyl Benzimidazole Carbamates ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดการดื้อยา และยังมีความเสี่ยงที่จะเกิดความต้านทานข้าม (cross-resistance) ระหว่างสารเคมีที่เป็นสมาชิกในกลุ่มนี้ (FRAC, 2012; Brown et al., 1984)

สารแบบสัมผัสที่ยับยั้งเชื้อราทดสอบได้ทุกชนิด คือ mancozeb จึงใช้เพื่อป้องกันการเกิดโรคต่างๆ ได้ทุกระยะของพืช อีกทั้งมีความเสี่ยงต่ำต่อการดื้อยา จึงเหมาะที่จะใช้สลับกับสารแบบดูดซึม หรือสารที่มีความเสี่ยงต่อการดื้อยาสูง เพื่อป้องกันการดื้อยา ถึงแม้ว่า edifenphos จะมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อ BIPO และ MAG ได้ดี แต่การใช้ควรคำนึงถึงการดื้อยา เนื่องจากมีรายงานการดื้อยาของเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ และยังต้านทานข้ามต่อ iprobenfos ได้ (Annamalai and Lalithakumari, 1992; Kim et al., 2008) สาร iprodione ยับยั้งเชื้อที่สร้างสปอร์สีเข้ม ได้แก่ CUR BIPO และ BIP ได้ดี แต่การใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานาน อาจทำให้เกิดการดื้อยาได้ (Solel et al., 1996; Hamada et al., 2011)

ในการทดสอบนี้ เชื้อ MAG ถูกยับยั้งโดย tricyclazole (375 µg/ml) ได้เพียง 69% Serghat et al. (2002) พบว่า การใช้ tricyclazole เข้มข้น 300 และ 750 µg/ml ลดความรุนแรงของโรคได้ 75 และ 100 % ตามลำดับ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพของสาร tricyclazole ต่อการควบคุมโรคไหม้ในระดับเรือนทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Annamalai, P. and D. Lalithakumari. 1992. Development of resistance in *Bipolaris oryzae* against edifenphos. **Mycol. Res.** 96: 454-460.

Brown, M.C., G.S. Taylor and H.A.S. Epton. 1984. Carbendazim resistance in the eyespot pathogen *Pseudocercosporella herpotrichoides*. Plant Pathol. 33:101–111.

Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). 2012. FRAC code list 2012: fungicides sorted by mode of action. Available: http://www.frac.info/. Accessed Dec.18, 2012.

Hamada, M.S., Y. Yin and Z. Ma. 2011. Sensitivity to iprodione, difenoconazole and fludioxonil of *Rhizoctonia cerealis* isolates collected from wheat in China. Crop Prot. 30: 1028-1033.

Kim, Y.S., J.Y. Oh, B.K. Hwang and K.D. Kim. 2008. Variation in sensitivity of *Magnaporthe oryzae* isolates from Korea to edifenphos and iprobenfos. Crop Prot. 27:1464–1470.

Serghat, S., A. Mouria, A.O. Touhami and A. Douira. 2002. In vivo effect of some fungicides on the development of *Pyricularia grisea* and *Helminthosporium oryzae.* Phytopathol. Mediterr. 41: 235–246.

Solel, Z., T., L.W. Timmer and M. Kimchi. 1996. Iprodione resistance of *Alternaria alternata* pv. *citri* from Minneola tangelo in Israel and Florida. Plant Dis. 80:291-293.

Taga, M., H. Nakagawa, M. Tsuda and A. Ueyama. 1979. Identification of three different loci controlling kasugamycin resistance in *Pyricularia oryzae.* Phytopathol. 69: 463-466.