ความต้านทานของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำของกล้วยไม้ต่อสารเคมีเมทาแลกซิลและการจัดการ

Resistance of Black Rot Disease *Phytophthora palmivora* in Mokara Orchids to Mancozeb and Management

วรางคนา โชติเศรษฐี[1/] นพดล สัทยาสัย[1/] ทัศนาพร ทัศคร[2/]

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดลองความต้านทานของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำของกล้วยไม้ต่อสารเคมีเมทาแลกซิล ในการเก็บตัวอย่างโรคเน่าดำจากแปลงปลูกกล้วยไม้ม็อคคาร่า พันธุ์คาลิปโซ่ ใน อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี สามารถแยกเชื้อสาเหตุโรคได้ จำนวน 10 ไอโซเลท ผลการทดสอบสาร metalaxyl ความเข้มข้น 1,000 ppm - 4,000 ppm ทั้ง 10 ไอโซเลท พบว่า ทุกไอโซเลทยังไม่มีแนวโน้มต้านทานสาร metalaxyl ในระดับห้องปฏิบัติการ

คำหลัก: โรคเน่าดำ, ม็อคคาร่า, สารป้องกันกำจัดโรคพืช

รหัสการทดลอง 03-29-60-01-02-00-03-60

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากเป็นพืชที่มีการส่งออกทั้งในรูปของดอกกล้วยไม้และต้นกล้วยไม้โดยมีมูลค่าการส่งออกปละประมาณ 1,500 ล้านบาท คิดเป็นร้อยละ 90 ของมูลค่าการส่งออกไม้ดอกไม้ประดับ (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2544) ตลาดส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อิตาลี เนเธอร์แลนด์และไต้หวัน กล้วยไม้ที่เกษตรกรนิยมปลูกมีหลายสกุล เช่น กล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย ม็อคคารา ออนซิเดียม แวนด้า แอสโคเซนดา อะแรนดา และคัทลียา ซึ่งแหล่งปลูกที่สำคัญคือ จังหวัด นครปฐม กรุงเทพฯ สมุทรสาคร นนทบุรี ราชบุรี อยุธยา ปทุมธานี ชลบุรีและสุพรรณบุรี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544)

ปจจุบันการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ยังมีปัญหาในด้านเทคโนโลยีการผลิตและการจัดการผลิตในสวนที่ถูกต้อง ซึ่งปัญหาด้านโรคพืชมีผลทำให้ผลผลิตกล้วยไม้ต่ำและไม่ได้มาตรฐาน (กรมวิชาการเกษตร, 2542)โดยเฉพาะโรคเน่าดำของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Phytophthora palmivora* (Butl.) ที่ระบาดทำความเสียหายให้กับกล้วยไม้ได้หลายสกุล และเกิดได้กับทุกส่วนของกล้วยไม้ตั้งแต่ ราก ใบ ยอด และดอก อาการของโรคที่พบคือ จะเกิดจุดกลม ชุ่มน้ำสีน้ำตาลออนจนถึงสีน้ำตาลเข้ม จากนั้นแผลจะลุกลามขยายทำให้ใบเน่า ถ้าอาการรุนแรงจะเข้าทำลายส่วนยอดและลำต้นทำให้เกิดอาการยอดเน่าดำ (นิยมรัฐ, 2544) เกิดในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย สกุลแวนด้า ที เอ็ม เอ แวนด้าไซเดียนา อะแรนคริสติน อะแรนดาอารา แคทลียา ม็อคคารา (อมรรัตน์, 2556) พบทุกแหล่งปลูกกล้วยไม้ โดยเฉพาะช่วงที่อากาศเย็นและมีความชื้นสูง สภาพที่เหมาะสมของเชื้อราคือ ช่วงฤดูหนาว อุณหภูมิเฉลี่ย 25-28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ และแสงแดดต่ำกว่า 5 ชั่วโมงต่อวัน โรคระบาดโดยสปอร์ของเชื้อราติดไปกับดิน น้ำฝน หรือน้ำระหว่างการให้น้ำ (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2553)

สารเคมีเมทาแลกซิล (metalaxyl) เป็นสารเคมีที่มีการใช้อย่างกว้างขวางในการควบคุมเชื้อราที่อยู่ใน Class Oomycetes เช่น Phytophthora, Pythium และ Bremia เป็นต้น โดยผลของการใช้สารเคมีจะไปยับยั้งการสร้างสปอร์และการเจริญเส้นใยของเชื้อราในพืชอาศัย นอกจากนี้ยังมีผลต่อการงอกของสปอร์และซูโอสปอร์ (zoospore) ด้วย (Lee et al., 1999) การออกฤทธิ์ของสารเคมีเมทาแลกซิลต่อเชื้อราจะมีการออกฤทธิ์โดยยับยั้งบริเวณที่มีการสังเคราะห์ rRNA โดยเข้ารบกวนกิจกรรมของ RNA polymerase I-template complex ซึ่งการออกฤทธิ์ดังกล่าวของสารเคมีอาจทำให้ เชื้อรามีการปรับตัวจนทำให้ เกิดความต้านทานต่อสารเคมีขึ้นได้ เกษตรกรมักใช้สารเคมีประเภทดูดซึม Metalaxyl ซึ่งหากมีการใช้สารเคมีต่อเนื่องกันเป็นระยะเวลานาน จะทำให้เชื้อสาเหตุโรคเกิดการต้านทานสารเคมีได้ ทำให้การป้องกันกำจัดไม่ได้ผลเท่าที่ควร เกษตรกรจำเป็นต้องใช้สารเคมีในปริมาณมากขึ้นทำให้การผลิตมีต้นทุนสูงขึ้น (ครรชิต, 2547) ตามคำแนะนำควรใช้ในอัตรา 30-50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งเป็นสารเฉพาะเจาะจง ไม่ควรใช้ติดต่อกันเกิน 3 ครั้ง (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2553)

ในกล้วยไม้นั้นโรคเน่าดำเกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* จึงมีความเสี่ยงที่จะเกิดความต้านทานกับสารเคมี metalaxyl ขึ้นได้เช่นเดียวกัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น ถุงพลาสติก ยางรัด กระดาษ

2.อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.สารเคมี metalaxyl 25 % WP, mancozeb 80% WP, propamocarb hydrochloride 72.2% SL, fosetyl-aluminium 80% WP, etridiazole 24 % EC

4.อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กระดาษ ปากกา กล้องถ่ายรูป

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 10 ซ้ำ 8 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 metalaxyl 25 % WP ความเข้มข้น 1,000 ppm

กรรมวิธีที่ 2 metalaxyl 25 % WP ความเข้มข้น 1,500 ppm

กรรมวิธีที่ 3 metalaxyl 25 % WP ความเข้มข้น 2,000 ppm

กรรมวิธีที่ 4 metalaxyl 25 % WP ความเข้มข้น 2,500 ppm

กรรมวิธีที่ 5 metalaxyl 25 % WP ความเข้มข้น 3,000 ppm

กรรมวิธีที่ 6 metalaxyl 25 % WP ความเข้มข้น 3,500 ppm

กรรมวิธีที่ 7 metalaxyl 25 % WP ความเข้มข้น 4,000 ppm

กรรมวิธีที่ 8 ไม่ผสมสารเคมี metalaxyl เป็นตัวเปรียบเทียบ

วิธีดำเนินการ

1.เก็บตัวอย่างโรคเน่าดำของกล้วยไม้ม็อคคาร่า พันธุ์คาลิปโซ่ สาเหตุจากเชื้อรา P. *palmivora* จากแหล่งปลูก จ.กรุงเทพมหานคร จ.นครปฐม จ.ราชบุรี จ.สมุทรสาคร จำนวนอย่างน้อย 2 แห่งของแต่ละจังหวัด เก็บและแยกเชื้อในวันเดียวกัน โดยตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติ เป็นชิ้นส่วนขนาด 2x2 มิลลิเมตร ตัวอย่างละ 15-20 ชิ้น เลี้ยงบนอาหารวุ้นมันฝรั่งผสม BRNAP ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยที่เจริญออกมาจากชิ้นเนื้อเยื่อ เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะอีกครั้ง แล้วจึงนำเส้นใยเชื้อที่งอกเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง เพื่อรอทำการทดสอบต่อไป (อมรรัตน์, 2556)

2.เตรียมเชื้อรา จาก stock เลี้ยงให้เชื้อเจริญเต็มอาหารเลี้ยงเชื้ออาหารวุ้นแครอทจนอายุ 5 วัน เพื่อรอทำการทดสอบต่อไป

3. เตรียมสารเคมี metalaxyl ตามคำแนะนำอัตรา 30-50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรคือความเข้มข้น 1,500, 2,000 และ2,500 ppm ปราณีและคณะ (2557) ได้ทำการทดสอบ metalaxyl ความเข้มข้น 2,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ความเข้มข้น 4,000 ppm เป็นอัตรา 2 เท่าของคำแนะนำ

4.ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโต ของเชื้อรา โดยวิธี poison food technique นำสาร metalaxyl ความเข้มข้นต่างๆผสมกับอาหารวุ้นมันฝรั่งที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรเจาะวุ้นตรงปลายเส้นใยของเชื้อราที่เลี้ยงไว้ จำนวน 1 ชิ้น วางกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางที่อุณหภูมิ ห้อง จนเชื้อราในกรรมวิธีเปรียบเทียบเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

การบันทึกข้อมูล

1.วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง หาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยใชสูตร

$$L = 100 - [\frac{\text{ขนาดเสนผาศูนยกลางของเชื้อราในจานที่มีสาร}}{\text{ขนาดเสนผาศูนยกลางของเชื้อราในจานควบคุม}} \times 100]$$

2.ทำการเก็บเชื้อราที่แสดงความต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl ใน stock แล้วนำมาวางบนสารเคมีซ้ำอีก 2 ครั้งเพื่อยืนยันว่าเชื้อสามารถเจริญบนอาหารที่ผสมสารเคมีได้จริง

3.วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2560

ห้องปฏิบัติการโรคพืช อาคารปฏิบัติการอารักขาพืช จ.กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างโรคเน่าดำของกล้วยไม้ม็อคคาร่า พันธุ์คาลิปโซ่ ใน 4 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร จำนวน 4 สวน จ.นครปฐม จำนวน 11 สวน จ.สมุทรสาคร จำนวน 4 สวน จ.ราชบุรี จำนวน 2 สวน รวมทั้งหมดจำนวน 21 สวนนั้น เมื่อนำตัวอย่างโรคมาแยกเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าตัวอย่างจากสวน อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี จำนวน 1 สวน สามารถแยกเชื้อสาเหตุโรคได้ จำนวน 10 ไอโซเลท ผลการทดสอบสาร metalaxyl ความเข้มข้นต่างๆ ทั้ง 10 ไอโซเลท ดัง Table1

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำของกล้วยไม้ม็อคคาร่า พันธุ์คาลิปโซ่ ยังไม่มีแนวโน้มต้านทานสาร metalaxyl ความเข้มข้นที่ 1,000 ppm - 4,000 ppm ในระดับห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2542. มาตรฐานกลวยไมของประเทศไทยและการผลิตกลวยไมอยางถูกตองและเหมาะสม. ศูนย์ผลักดันสินค้าเกษตรเพื่อการสงออก, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวง เกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 40 น.

กรมสงเสริมการเกษตร. 2544. ทะเบียนเกษตรกรผูปลูกกลวยไมเพื่อการสงออกปี 2544. กลุมไมดอกไมประดับ , กองสงเสริมพืชสวน, กรมสงเสริมการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 655 น.กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2553. โรคไม้ดอกไม้ประดับ. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 163 น.

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2554. หนังสือคำแนะนำแผนการทดลองการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 48-49.

ครรชิต ธรรมศิริ. 2547. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. อักษรสยามการพิมพ์. กรุงเทพฯ.นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คูมือโรคไมดอกไมประดับและการปองกันกำจัด. กลุมงานวิจัยโรคพืชผักไมดอกและไมประดับ, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 90 น.

ปราณี เริ่มกระโทก วรัญญู แก้วดวงตา พนิดา อริมัตสึ และวราภรณ์ สุทธิสา. 2557. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยในการควบคุมโรคเน่าดำของกล้วยไม้หวายเอียสกุล. แก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ 1 : 2557. 578-582.

ศูนยสารสนเทศการเกษตร. 2544. สถิติการค้าสินค้าเกษตรกรรมไทยกับตางประเทศปี 2544. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พีระวรรณ พัฒนวิภาส และยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี. 2555.ผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ต่อการเจริญของ รา *Phytophthora palmivo*. รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2555. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 1163-1174.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2556. เอกสารวิชาการ พืชที่เป็นโรคไฟทอปธอรา. กองแผนงานและวิชาการ. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 182 น.

Lee, T.Y., E. Mizubuti and W.E. Fry. 1999. Genetics of metalaxyl resistance in *Phytophthora infestans*. Fungal Genet. Biol. 26: 118-130.

Mukalazi J., E. Adipala, T. Sengooba, J.J. Hakiza, M. Olanya, H.M. Kidanemariam. 2001. Metalaxyl resistance, mating type and pathogenicity of Phytophthora infestans in Uganda. Crop Prot. 20: 379-388.

Cating R.A., Palmateer A. J., Stiles C. M., Rayside P. A., and Davison D. A. 2013. Black Rot of Orchids Caused by *Phytophthora palmivora* and *Phytophthora cactorum*. The Plant Pathology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Original publication date, January 2009. 260pp.

Table1 Resistance of Black Rot Disease in Mokara Orchids to mancozeb in laboratory 2017. Isolate RAT1-1 to RAT1-10

Treatment	Rate (ppm)	Inhabition (%)									
		RAT1-1	RAT1-2	RAT1-3	RAT1-4	RAT1-5	RAT1-6	RAT1-7	RAT1-8	RAT1-9	RAT1-10
1. metalaxyl 25 % WP	1,000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2. metalaxyl 25 % WP	1,500	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3. metalaxyl 25 % WP	2,000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
4. metalaxyl 25 % WP	2,500	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
5. metalaxyl 25 % WP	3,000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
6. metalaxyl 25 % WP	3,500	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
7. metalaxyl 25 % WP	4,000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
8. control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

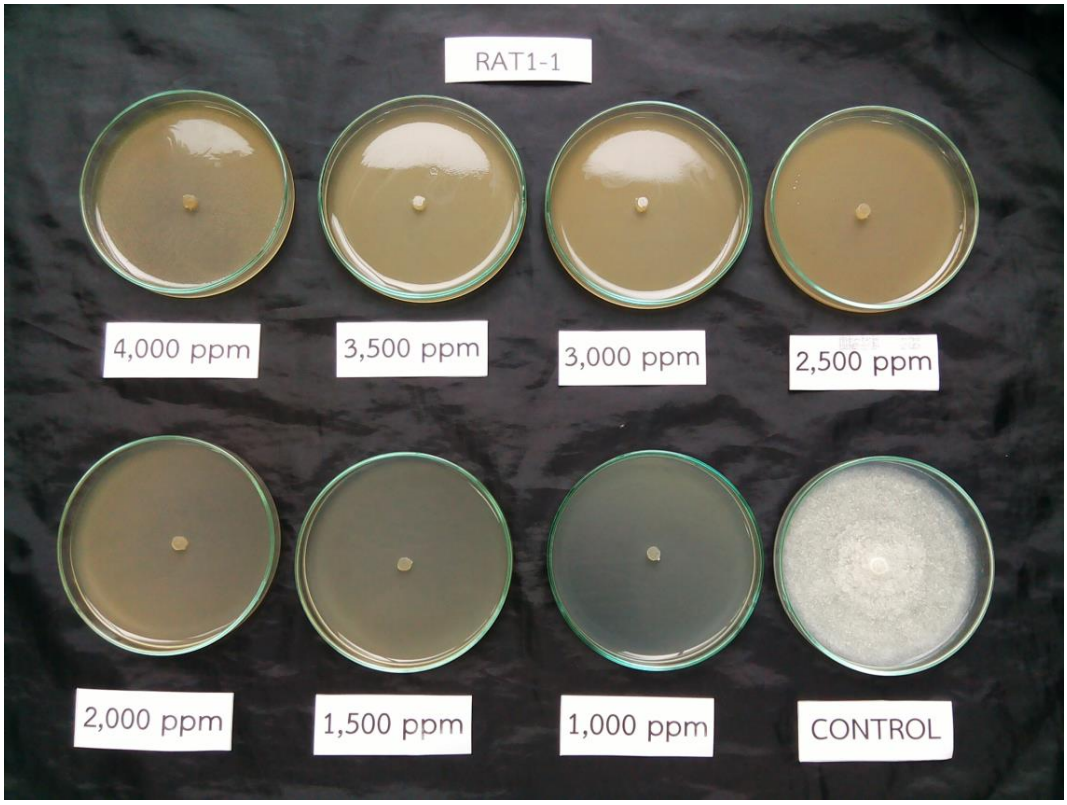

Figure 1 Result of metalaxyl isolate RAT1-1

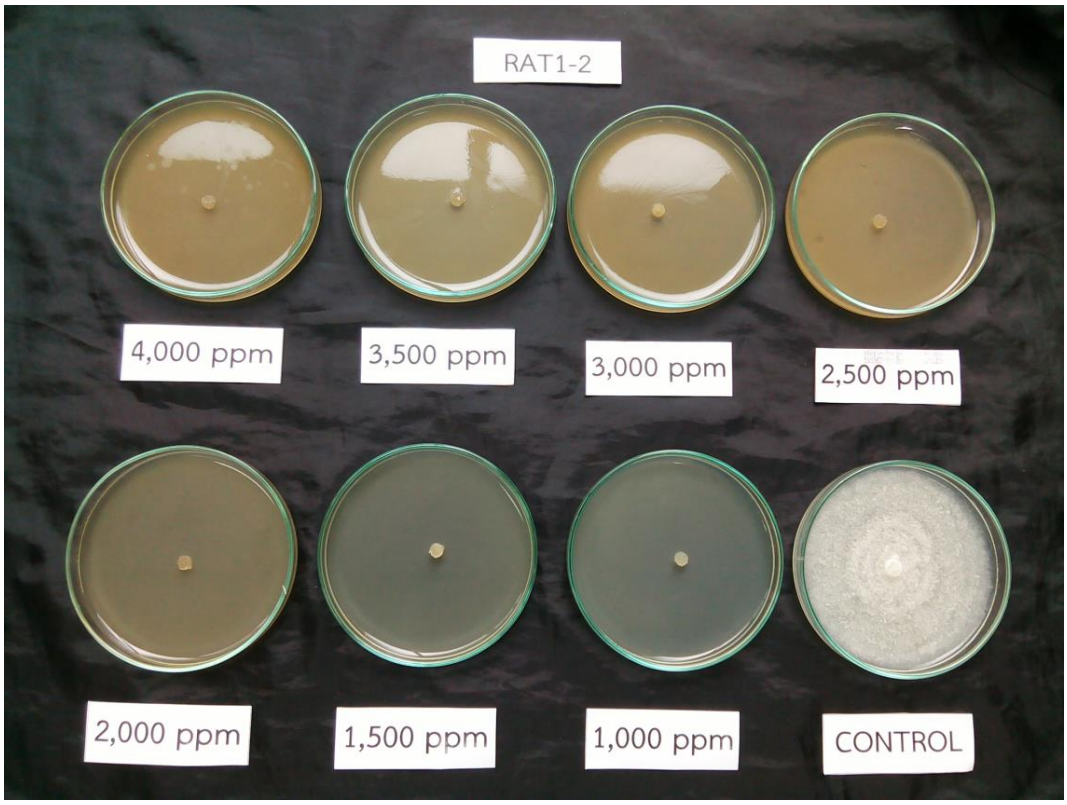

Figure 2 Result of metalaxyl isolate RAT1-2

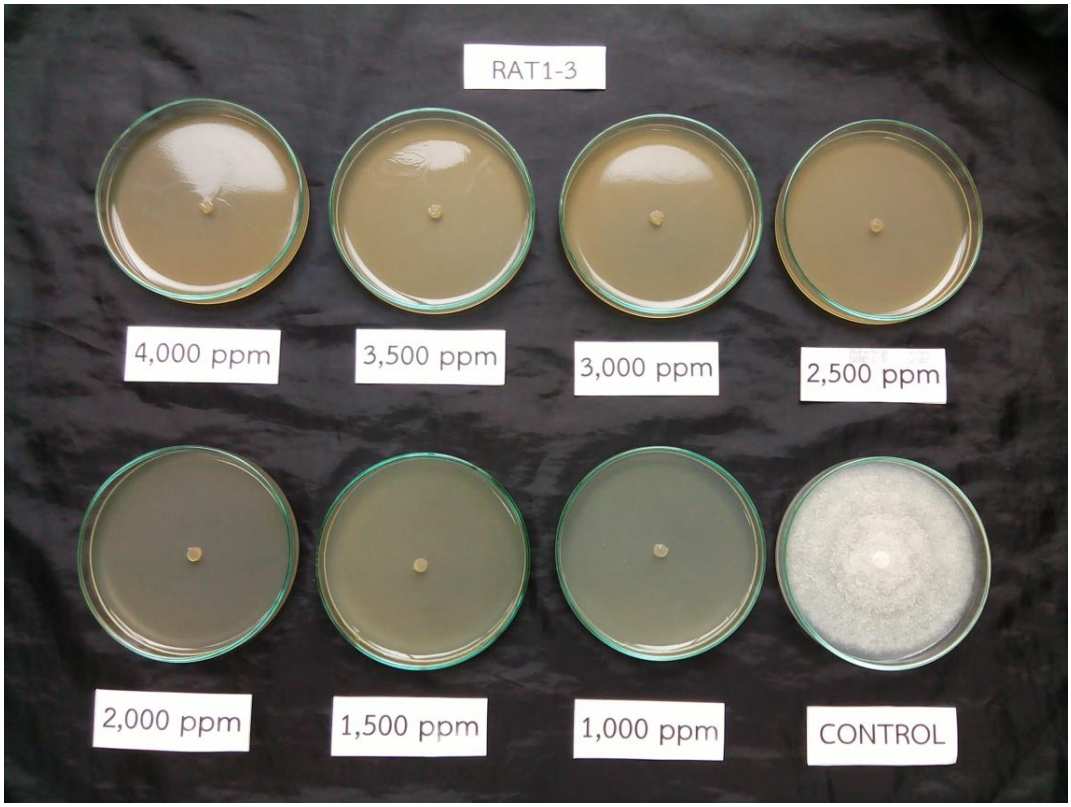

Figure 3 Result of metalaxyl isolate RAT1-3

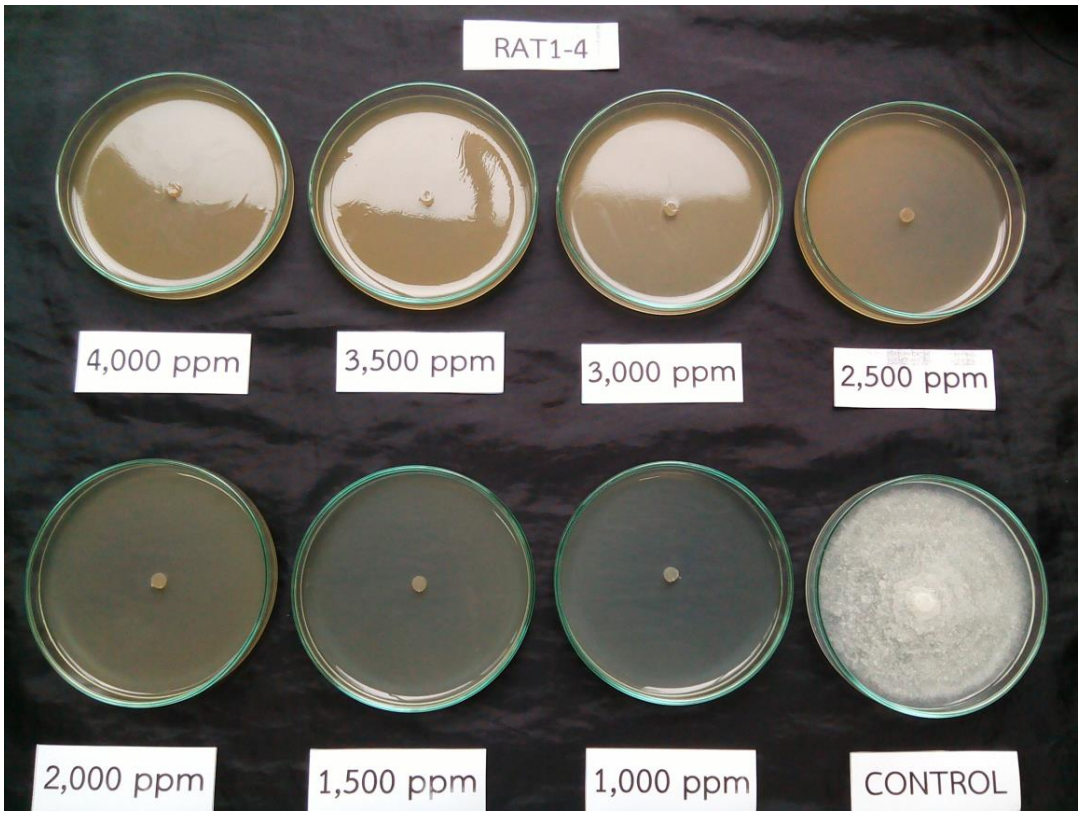

Figure 4 Result of metalaxyl isolate RAT1-4

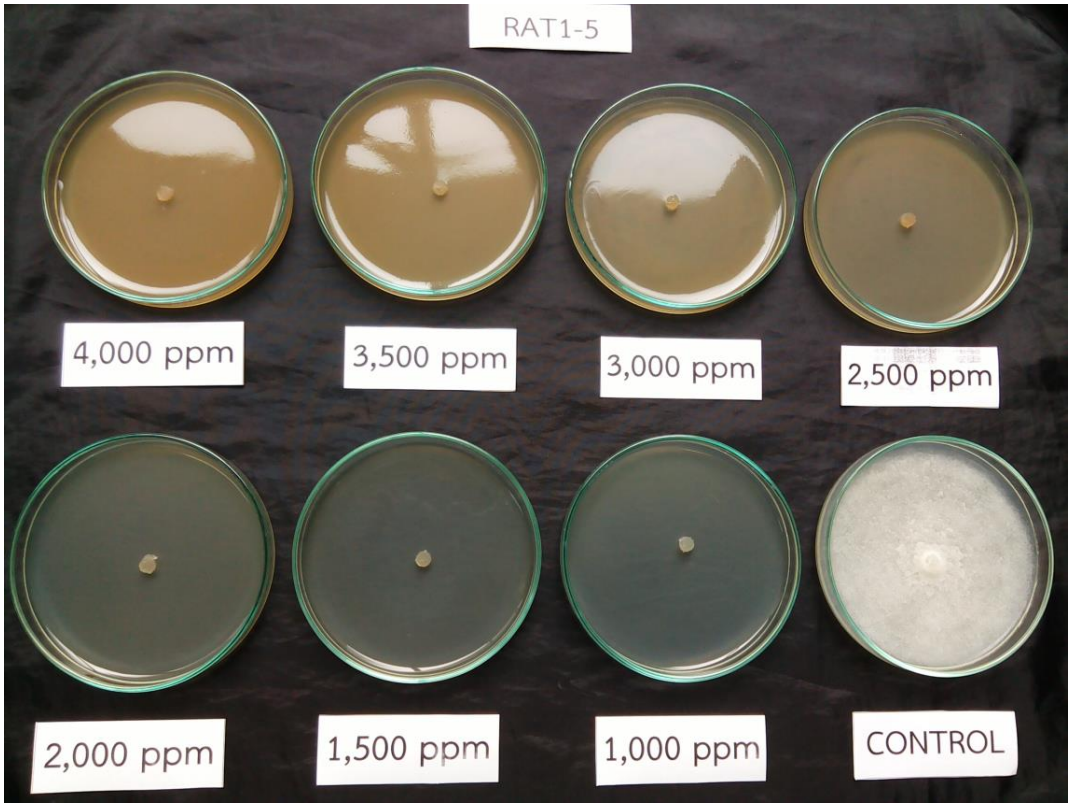

Figure 5 Result of metalaxyl isolate RAT1-5

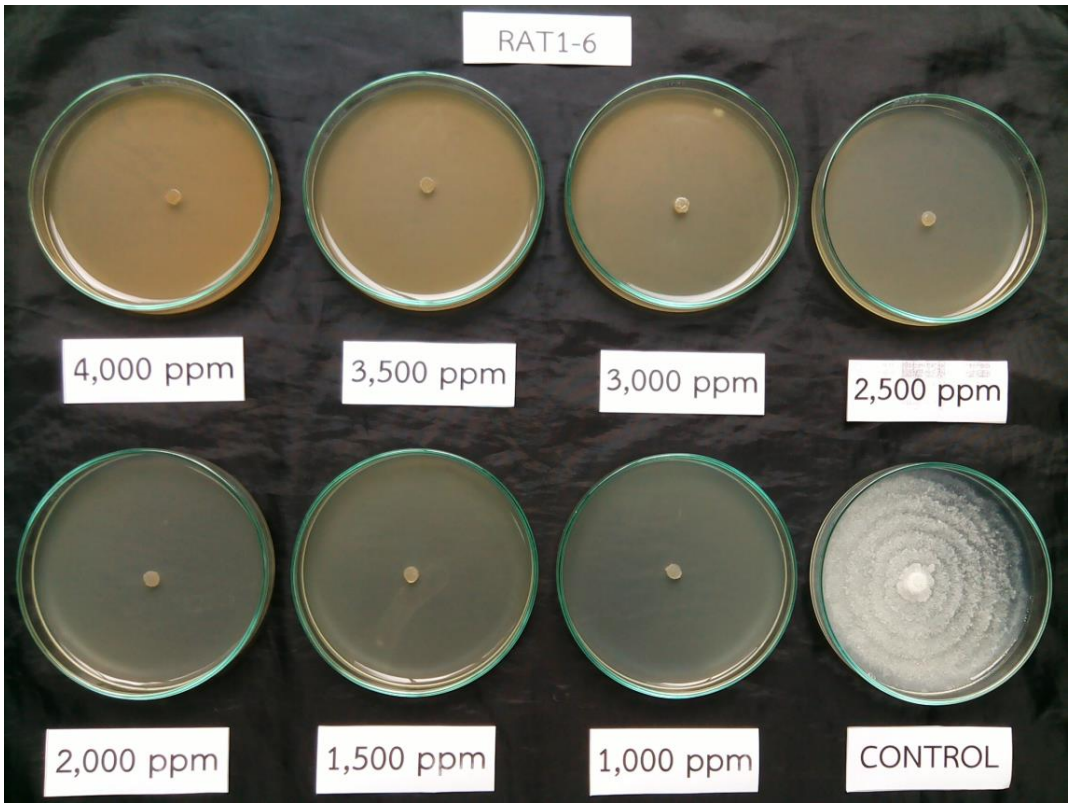

Figure 6 Result of metalaxyl isolate RAT1-6

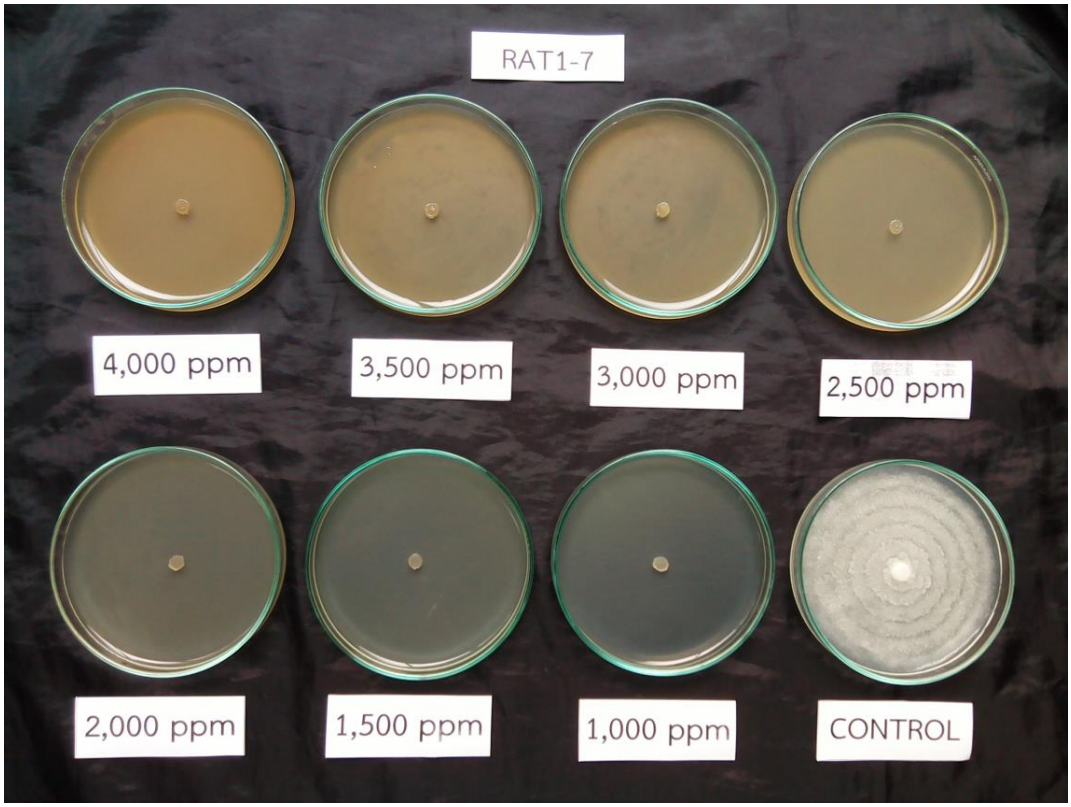

Figure 7 Result of metalaxyl isolate RAT1-7

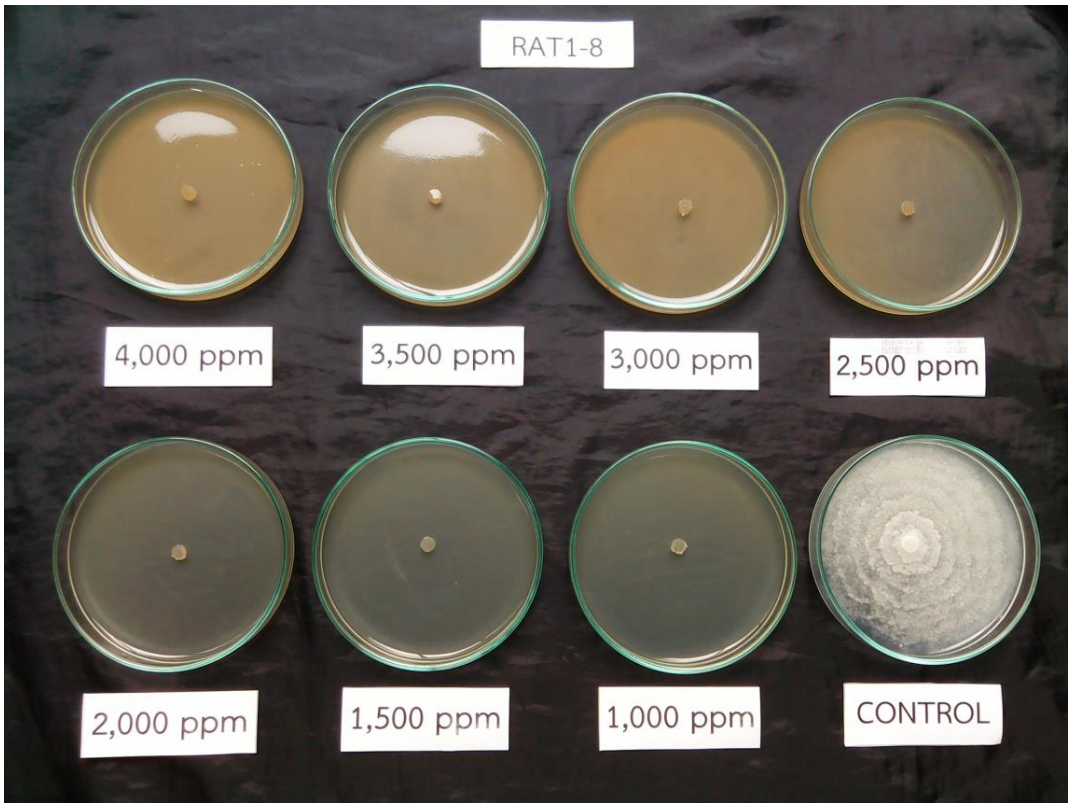

Figure 8 Result of metalaxyl isolate RAT1-8

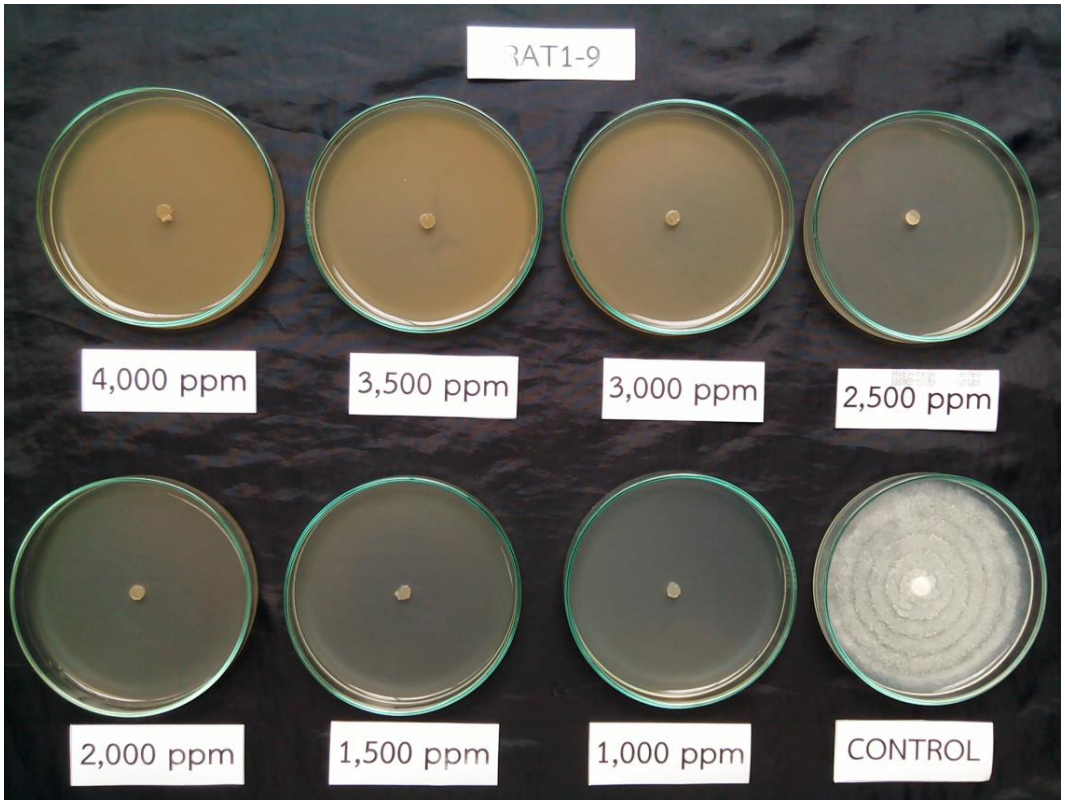

Figure 9 Result of metalaxyl isolate RAT1-9

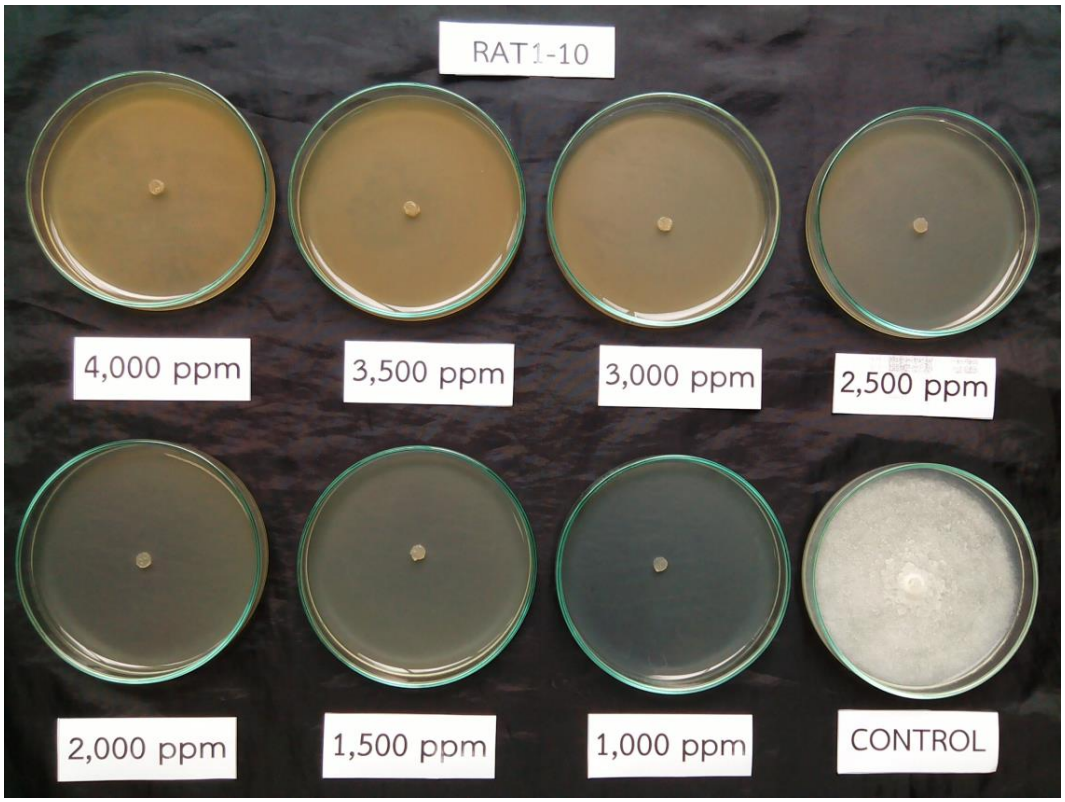

Figure 10 Result of metalaxyl isolate RAT1-10