การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชใน การป้องกันกำจัดเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคพืช

Efficiency of Fungicide to controlling Rhizoctonia. Solani

พีระวรรณ พัฒนวิภาส[1/] ทัศนาพร ทัศคร[1/] ธารทิพย ภาสบุตร[1/]
ศิวิไล ลาภบรรจบ[2/] อ้อยทิน จันทร์เมือง[3/]
[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่
[2/]ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชที่มีลักษณะอาการกาบใบไหม้และจุดจากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทยตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค สามารถจำแนกเป็นเชื้อราสกุล *Rhizoctonia solani* นำเชื้อรามาทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชจำนวน 16 ชนิดๆ ละ 4 ความเข้มข้นในการป้องกันกำจัดเชื้อราในห้องปฏิบัติการพบสารป้องกันกำจัดโรคพืชจำนวน 7 ชนิดได้แก่ ได้แก่ epoxiconazole 12.5% W/V EC, pyraclostrobin 25% W/V , trifloxystrobin 50% WG + tebuconazole 50% WP และ tolclofos-methyl 50% WP, , validamycin 3% W/V SL, pencycuron 25% WP, teraclor 70% WP สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยที่เชื้อรา *Rhizoctonia solani* ไม่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารป้องกันกำจัดโรคพืชทั้ง 4 ชนิด ในทุกความเข้มข้น ซึ่งจะได้นำผลการทดลองไปทดสอบประสิทธิภาพในขั้นตอนต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-01-02-01-54

คำนำ

เชื้อรา *Rhizoctonia solani* มีลักษณะที่สำคัญคือไม่สร้าง asexual spore คงมีแต่เส้นใย เส้นใยจะอัดรวมกันเป็นเม็ด Sclerotia เพื่ออยู่ข้ามฤดูโดยเม็ด Sclerotia จะอยู่ในดินและซากพืช หรือพืชอาศัยและแพร่ระบาดทำความเสียหายในฤดูปลูกต่อไป เชื้อราชนิดนี้ทำให้เกิดโรคกับพืชหลายชนิด ลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อราชนิดนี้ ส่วนใหญ่ทำให้เกิดอาการเน่าบนเมล็ด และต้นกล้าที่ยังไม่โผล่พ้นระดับผิวดิน และเน่าระดับดินเช่นโรคโคนเน่าของกล่ำปลี พีระวรรณ (2546)รายงานว่าโรคกาบและใบไหม้ข้าวโพดสามารถเข้าทำลายข้าวโพดได้ตั้งแต่ระยะกล้าข้าวโพดที่อ่อนแอจะทำให้ต้นกล้าเน่าหักพับล้มลง และพบอาการของโรคบนส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพด เช่น ลำต้น ใบ กาบใบ กาบฝัก และ ฝัก มีรายงานว่าดินที่มีเชื้อ *Rhizoctonia solani* อยู่ 15,19 และ 1 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ผลผลิตข้าวโพดลด 47 , 42 และ 8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Sumner and Minton, 1989) โรคกาบใบแห้งของข้าวพบว่าระยะข้าวแตกกอลักษณะแผลสีเขียวปนเทาปรากฏตามกาบใบตรงบริเวณใกล้ระดับน้ำแผลจะลุกลามขยายใหญ่ขึ้นจนมีขนาดไม่จำกัดและลุกลามขยายขึ้นถึงใบข้าวถ้าเป็นพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอ แผลสามารถลุกลามถึงใบธงและกาบหุ้มรวงข้าว ทำให้ใบและกาบใบเหี่ยวแห้งผลผลิตลดลง(กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2543) มีรายงานว่าใช้สาร Validamycin สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด(Dalmacio *et at .,* 1990)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ปากกาเคมี หนังยาง
2. สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA), water agar (WA)
4. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ กระบอกตวง ใบมีดผ่าตัด เข็มเขี่ยปลายแหลม สไลด์ cover slip
5. ตู้ปลอดเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบความร้อน เครื่องชั่ง
6. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia solani* **.ในห้องปฏิบัติการ**

1.1 การเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และการแยกเชื้อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชที่มีลักษณะอาการไหม้หรือจุดจากแหล่งปลูกในไร่เกษตรกร นำมาแยกเชื้อโดยวิธี tissue transplanting method จากส่วนของขอบแผลจากพืชที่เป็นโรค โดยตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อก 10 เปอร์เซ็นต์แล้วล้างด้วยน้ำ

กลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นจึงวางบนอาหารพีดีเอ (potato dextrose agar; PDA) ทุกขั้นตอนปฏิบัติงานโดยเทคนิคปลอดเชื้อ นำไปบ่มไว้ในอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส หลังจากที่มีเชื้อเจริญออกมาจากขอบแผล ตรวจสอบลักษณะของเชื้อที่แยกได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ย้ายเชื้อเก็บรักษาในหลอดอาหารเพื่อเป็น stock culture

1.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* บนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้วิธี poison food technique โดยใช้ความเข้มข้นในช่วงอัตราแนะนำการใช้บนฉลาก วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ ดังนี้

1. epoxiconazole 12.5% W/V EC ความเข้มข้น 200, 1000, 1500, 2000 พีพีเอ็ม
2. kresoxim – methyl 50% WG ความเข้มข้น 50, 500, 5000, 50000 พีพีเอ็ม
3. pyraclostrobin 25% W/V ความเข้มข้น 100, 150, 200, 250 พีพีเอ็ม
4. trifloxystrobin 50% WG + tebuconazole 50% WP ความเข้มข้น100, 250, 750, 1000 พีพีเอ็ม
5. tolclofos-methyl 50% WP ความเข้มข้น 50,100, 500,1000 พีพีเอ็ม
6. captan 50% WP ความเข้มข้น 50,100, 500,1000 พีพีเอ็ม
7. azoxystrobin 25% EC ความเข้มข้น 100, 150, 200, 250 พีพีเอ็ม
8. chlorothalonil 75% WP ความเข้มข้น 200, 250, 500, 1000 พีพีเอ็ม
9. validamycin 3% W/V SL ความเข้มข้น 200, 1000, 1500, 2000 พีพีเอ็ม
10. carboxin 75% WP ความเข้มข้น 50,100, 500,1000 พีพีเอ็ม
11. thiophanate-methyl 70% WP ความเข้มข้น 50,100, 500,1000 พีพีเอ็ม
12. carbendazim 12.5%+epoxyconazole 12.5% W/V SC
13. iprodione 50% WP ความเข้มข้น 50,100, 500,1000 พีพีเอ็ม
14. pencycuron 25% WP ความเข้มข้น 100, 150, 200, 250 พีพีเอ็ม
15. teraclor 70% WP ความเข้มข้น 50,100, 500,1000 พีพีเอ็ม
16. dimethomorph 50% WP ความเข้มข้น 50,100, 500,1000 พีพีเอ็ม
17 กรรมวิธีเปรียบเทียบ

เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคกาบและใบไหม้ข้าวโพดบนอาหารพีดีเอ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เตรียมสารเคมีโดยตวงและชั่งสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ให้ได้ความเข้มข้น 4 อัตราผสมในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเตรียมอาหารพีดีเอแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำอาหารพีดีเอออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ใส่สารป้องกันกำจัดเชื้อราลงไปขณะที่อาหารพีดีเอยังอุ่น เขย่าให้เข้ากันแล้วจึงเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นบริเวณขอบของ

โคโลนีที่มีเชื้อราเจริญอยู่ ใช้เข็มเขี่ยย้ายชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราเจริญอยู่มาวางตรงกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา บ่มจานเลี้ยงเชื้อไว้ในอุณหภูมิห้อง บันทึกการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยสารกำจัดเชื้อรา โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อทุกวัน จนกว่าเชื้อในกรรมวิธีควบคุมเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหาร PDA ตามวิธีการของ Vincent (1927)

คัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราไปทดสอบในระดับเรือนทดลอง

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia solani* .ในสภาพเรือนทดลอง

นำสารที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* .มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในสภาพเรือนทดลองที่มีการปลูกเชื้อให้กับพืชอาศัยของเชื้อรา *Rhizoctonia solani*

มีขั้นตอนการทดลองดังนี้

2.1 การปลูกพืชทดสอบ (ข้าวโพด)

ปลูกพืชทดสอบ ในกระถางพลาสติกที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 50 ซ.ม. จำนวน 4 ต้นต่อกระถาง 4 กระถางต่อ 1 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ

2.2 การเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Rhizoctonia solani* เพื่อใช้ในการปลูกเชื้อ

นำเมล็ดข้าวฟ่าง มาแช่น้ำนานประมาณ 18 ชั่วโมง เปลี่ยนน้ำที่แช่เมล็ด 3-4 ครั้ง เพื่อให้เมล็ดสะอาด จากนั้นจึงนำเมล็ดบรรจุลงในถุงพลาสติกทนความร้อน ปริมาณ 2 ใน 3 ของภาชนะ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 45 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำอีกครั้งในวันถัดมา เขี่ยชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อเจริญอยู่ลงไปในถุงข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อเริ่มมีการเจริญของเส้นใยบนเมล็ดข้าวฟ่าง เขย่าถุงเพื่อให้เชื้อกระจายไม่เกาะเป็นก้อนแข็ง บ่มไว้เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อเจริญอยู่มาบุบให้แตกเพื่อให้มีขนาดเล็กลงและมีความสม่ำเสมอ นำเชื้อที่เตรียมได้ไปปลูกเชื้อให้กับพืชที่ปลูกในเรือนทดลอง

2.3 การพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช ตามชนิดและปริมาณที่ได้จากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ

11.3 การบันทึกข้อมูล

การประเมินความรุนแรงของโรค หลังปลูกเชื้อ สังเกตอาการ บันทึกระดับความรุนแรงของการเกิดโรคทุกสัปดาห์ก่อนที่จะมีการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชต่อเชื้อ *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการ

1.1 การเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และการแยกเชื้อ

ผลการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่มีลักษณะอาการไหม้หรือจุดจากแหล่งปลูกในไร่เกษตรกร ได้รวบรวมตัวอย่างข้าวโพดที่แสดงลักษณะอาการไหม้หรือจุดจากแหล่งปลูกจังหวัดนครราชสีมา นำมาแยกเชื้อโดยวิธี tissue transplanting method ตรวจสอบลักษณะของเชื้อที่แยกได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเป็นเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ย้ายเชื้อเก็บรักษาในหลอดอาหารเพื่อเป็น stock culture สำหรับทดสอบต่อไป

1.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการ

การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 16 ชนิด

หลังจากที่มีการย้ายชิ้นวุ้นที่มีเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุของโรคกาบและใบไหม้ข้าวโพดมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืชแต่ละชนิดและแต่ละความเข้มข้น เป็นเวลา 2 วัน พบว่า เชื้อรา *Rhizoctonia solani* มีการเจริญของเส้นใยเฉลี่ยที่แตกต่างกันเมื่อวัดจากขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี จากผลการทดลองมีสารป้องกันกำจัดโรคพืช 7 ชนิด ได้แก่ epoxiconazole 12.5% W/V EC, pyraclostrobin 25% W/V , trifloxystrobin 50% WG + tebuconazole 50% WP และ tolclofos-methyl 50% WP, validamycin 3% W/V SL, pencycuron 25% WP, teraclor 70% WP สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยที่เชื้อรา *Rhizoctonia solani* ไม่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารป้องกันกำจัดโรคพืชทั้ง 4 ชนิด ในทุกความเข้มข้น (ตารางที่ 1 และ 2) ซึ่งจะได้นำผลการทดลองไปทดสอบประสิทธิภาพในขั้นตอนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

พีระวรรณ พัฒรวิภาส. 2546. โรคกาบและใบไหม้ข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* . หน้า 260-263. ใน : รายงานการประชุมวิชาการข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 31. 11-15 พฤษภาคม 2546. ณ โรงแรมโรสการ์เดนท์ เอไพรม รีสอร์ท อ. สามพราน จ. นครปฐม.

Dalmacio , S.C ., Lozano , G.P., De La Pena , R. S., Candole , B. L. 1990. Mechanical , Biological and Chemical control of banded leaf and sheath blight on maize caused by *Rhizoctonia solani* (Philippines). Bacolod City (Philippines).

Summer, D.R. and Minton , N.A. 1989. Crop losses in corn induced by *Rhizoctonia solani* AG-2-2 and nematodes Phytopatho. 79 (a).

<u>ตารางที่</u> 1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคกาบและใบไหม้ข้าวโพดบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช ที่อายุ 2 วัน

ชนิดของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	% การยับยั้งการเจริญของเส้นใย[1/]
epoxiconazole 12.5% W/V EC	200	100 /
	1000	100
	1500	100
	2000	100
kresoxim – methyl 50% WG	50	44
	500	42
	5000	68
	50000	100
pyraclostrobin 25% W/V	100	100
	150	100
	200	100
	250	100
trifloxystrobin 50% WG + tebuconazole 50% WP	100	100
	250	100
	750	100
	1000	100
tolclofos-methyl 50% WP	50	100
	100	100
	500	100
	1000	100
captan 50% WP	50	85
	100	100
	500	100
	1000	100

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	% การยับยั้งการเจริญของเส้นใย[1/]
azoxystrobin 25% EC	100	61
	150	62
	200	53
	250	57
chlorothalonil 75% WP	200	86
	250	86
	500	87
	1000	86
control	-	0

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 การทดลอง

<u>ตารางที่</u> 2 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคกาบและใบไหม้ข้าวโพดบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช ที่อายุ 2 วัน(ทดสอบเพิ่ม)

ชนิดของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	% การยับยั้งการเจริญของเส้นใย[1/]
validamycin 3% W/V SL	200	100
	1000	100
	1500	100
	2000	100
carboxin 75% WP	50	44
	100	55
	500	89
	1000	100
thiophanate-methyl 70% WP	50	68
	100	77
	500	79
	1000	98
carbendazim 12.5%+epoxyconazole 12.5% W/V SC	100	51
	250	65
	750	66
	1000	72
iprodione 50% WP	50	55
	100	67
	500	69
	1000	72
pencycuron 25% WP	100	100
	150	100
	200	100
	250	100

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	% การยับยั้งการเจริญของเส้นใย[1/]
teraclor 70% WP	50	100
	100	100
	500	100
	1000	100
dimethomorph 50% WP	50	77
	100	80
	500	87
	1000	83
control	-	0

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 การทดลอง