

การติดตามเชื้อราเข้าทำลายแฝงของต้นเงินไหลมา และการชะลอการเกิดโรคโดยใช้สารเคมี
Monitoring of Fungal Infection in Arrowhead Plant and Disease Retardation by Using Fungicides

สันธิติ บินคาเดอร์¹ รติยา พงศ์พิสุทธิธรา² ชัยณรงค์ รัตนกริฑากุล² พิสุทธิ เขียวมณี² ทิพย์วรา เทียนสว่าง¹ และอลงกรณ์ ณ ตะกั่วทุ่ง³
Santiti Bincader¹, Ratiya Pongpisutta², Chainarong Rattanakreetakul², Pisut Keawmanee², Thipwara Tiansawang¹ and
Alongkorn Na Takuathung³

Abstract

Latent infection fungi affect the pre- and post- agricultural production including transportation, especially arrowhead plant (*Syngonium podophyllum*), that is one of the most popular ornamental plants. This research was to investigate the efficiency of 3 different fungicides at recommended rate by using poisoned food technique to control *Colletotrichum truncatum* causing leaf blight disease. The finding indicated that difenoconazole could absolutely inhibit fungal mycelium on their culture medium. Fungal pathogen was inoculated on 60 old-day arrowhead plant following spray difenoconazole at recommended concentration (250 ppm). Monitoring fungal infection using specific primers *Ccap-F* and *Ccap-R*. The result showed that arrowhead plant that does not spray fungicide were shown leaf blight after 7 days of fungal inoculation. Fungal detection was performed by DNA extraction from samples. DNA bands formed by 600 base pairs of specific primers *Ccap-F* and *Ccap-R* were observed while the arrowhead plant was sprayed with the chemical. No disease was found after inoculation at 21 days and no DNA band formation was found in that area. This research is part of the latent infestation study in the genus *Colletotrichum* and the effectiveness of chemicals to reduce the damage that cause disease to ornamental plants.

Keywords: *Colletotrichum*, Latent infestation, Ornamental plant

บทคัดย่อ

เชื้อราเข้าทำลายแฝงส่งผลกระทบต่อกระบวนการผลิตพืชทั้งก่อน และหลังการเก็บเกี่ยว รวมถึงระหว่างขนส่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นเงินไหลมา (*Syngonium podophyllum*) ซึ่งเป็นไม้ใบประดับที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน งานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำด้วยวิธี poisoned food ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* สาเหตุโรคใบไหม้ของต้นเงินไหลมา ผลการทดลอง พบว่าสารเคมี difenoconazole สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่พบการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ ลงบนต้นเงินไหลมาอายุ 60 วัน และฉีดพ่นสารเคมี difenoconazole ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ (250 ppm) ติดตามการเข้าทำลายแฝงของเชื้อราสาเหตุโรคโดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ *Ccap-F* และ *Ccap-R* ผลการทดลอง พบว่าต้นเงินไหลมาที่ไม่ฉีดพ่นสารเคมี แสดงอาการใบไหม้ หลังการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 7 วัน ตรวจสอบเชื้อราโดยสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่าง พบแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์จำเพาะ *Ccap-F* และ *Ccap-R* ขนาด 600 คู่เบส ในขณะที่ต้นเงินไหลมาที่ฉีดพ่นสารเคมี ไม่พบการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อที่ 21 วัน และไม่พบการเกิดแถบดีเอ็นเอบริเวณดังกล่าว งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาติดตามการเข้าทำลายแฝงของเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* และประสิทธิภาพ ของสารเคมีเพื่อลดความเสียหายของเชื้อราที่ก่อโรคกับไม้ประดับต่อไป

คำสำคัญ: *Colletotrichum* เชื้อราเข้าทำลายแฝง ไม้ประดับ

¹ สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ พระนครศรีอยุธยา 13000

¹ Program Plant Science, Faculty of Agricultural Technology and Agro-industry, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Phra Nakhon Si Ayutthaya, 13000

² ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

² Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

³ กลุ่มพัฒนาระบบตรวจรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กองพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ 10900

³ Plant Products Inspection System Service Group, Plant Standard and Certification Division, Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok 10900

คำนำ

ต้นเงินไหลมา (*Syngonium podophyllum*) จัดเป็นหนึ่งในไม้ประดับที่นิยมนำมาตกแต่งในบริเวณพื้นที่อาศัยที่มีพื้นที่จำกัด นอกจากนี้เริ่มเป็นที่นิยมในประเทศไทยตั้งแต่ช่วงวิกฤตเชื้อไวรัสโคโรนา (COVID-19) แล้วนั้น ต้นเงินไหลมายังเป็นไม้ประดับที่นิยมในต่างประเทศโดยเฉพาะในแถบทวีปอเมริกากลาง และอเมริกาใต้ เช่น บราซิล และเม็กซิโก เป็นต้น จากข้อมูลของ University of Arkansas System ในปี ค.ศ. 2022 พบว่าความผิดปกติที่มักเกิดกับต้นเงินไหลมาส่วนใหญ่ มักแสดงอาการบริเวณใบโดยอาจเกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น การได้รับแสงแดด หรือการได้รับปุ๋ยมากเกินไป ส่งผลให้เกิดอาการใบไหม้ แต่ส่วนมากพบว่าความผิดปกติเกิดจากสิ่งมีชีวิตซึ่งได้แก่ เชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคเป็นส่วนใหญ่ (Agris, 2004) ในส่วนของข้อมูลโรคของพืชสกุล *Syngonium* ในปัจจุบันยังมีค่อนข้างน้อย แต่จากรายงานของ Moorman (2022) พบว่าเชื้อรา *Myrothecium roridum* สามารถก่อให้เกิดอาการใบไหม้กับพืชสกุลดังกล่าวได้ และนอกจากนี้แบคทีเรียในสกุล *Erwinia*, *Pseudomonas* และ *Xanthomonas* ยังมีรายงานการก่อให้เกิดโรคใบจุด ใบไหม้ให้กับพืชสกุล *Syngonium* และมีการแพร่ระบาดในหลายประเทศ (Xu et al., 2020) สำหรับประเทศไทย จากข้อมูลของ ชัยณรงค์ และคณะ (2566) พบว่าเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* เป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ก่อให้เกิดอาการใบไหม้กับต้นเงินไหลมาได้เช่นกัน ซึ่งเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* นั้นถือเป็นเชื้อราที่มีพืชอาศัยค่อนข้างกว้างโดยจากรายงานของ Walker et al. (1991) พบว่าเชื้อราสกุลดังกล่าวสามารถเข้าทำลาย และก่อให้เกิดโรครากับพืชได้มากถึง 100 ชนิด อีกทั้งยังสามารถปรับตัวเพื่อให้ต้านทานต่อสารเคมีได้อย่างรวดเร็วเช่นกัน (รัตติยา และคณะ, 2564) งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมี ในการชะลอการเกิดโรค รวมถึงติดตามเชื้อราเข้าทำลายแฝงของต้นเงินไหลมาเพื่อเป็นข้อมูลให้กับผู้ที่สนใจ เพื่อการจัดการศัตรูพืชได้อย่างถูกต้องเหมาะสมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุม

เชื้อรา *C. truncatum* ไอโซเลท APRS01 ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการโรคพืช สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะเทคโนโลยี การเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ นำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บ่มใต้แสง near UV สลับมืด 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส จนครบ 5 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาด 6 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนี ย้ายลงอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารเคมีแตกต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ azoxystrobin, carbendazim, copper hydroxide และ difenoconazole (ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำของแต่ละสารเคมี) โดยให้ด้านที่มีเส้นใยสัมผัสหน้าอาหารบ่มใต้แสง near UV สลับมืด 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีทุกวัน จนครบ 5 วัน วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) แต่ละกรรมวิธีมี 5 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าความแตกต่างของข้อมูลโดยวิธี least significant difference test (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น $P < 0.05$ โดยใช้โปรแกรม R-stat X64 version 3.5.2

2. การติดตามเชื้อราเข้าทำลายแฝงของต้นเงินไหลมา

เชื้อรา *C. truncatum* ไอโซเลท APRS01 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 5 วัน นำมาทำสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ฉีดพ่นลงบนใบต้นเงินไหลมาอายุ 60 วัน ด้วยเครื่อง airbrush บ่มในกล่องบ่มขึ้นนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นฉีดพ่นสารเคมีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดจากการทดลองที่ 1 (ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำของสารเคมีชนิดนั้น) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร วางในสภาพโรงเรือน (อุณหภูมิ 28-33 องศาเซลเซียส; ความชื้นสัมพัทธ์ 78-85 เปอร์เซ็นต์)

จากนั้นเก็บตัวอย่างใบพืชนำมาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัด DNAsecure Plant Kit (Tiangen Co., Ltd, China) ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอที่ได้บน 1.2 เปอร์เซ็นต์ agarose gel ทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ *Ccap-F* (5' GTAGGCGTCCCTAAAAGG '3)/ *Ccap-R* (5' CCCAATG CGAGACGAAATG '3) (Torres-Calzada et al., 2011) ร่วมกับชุด Phire Plant Direct PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) นำไปทำปฏิกิริยาดำเนินการ PCR thermal cycling โดยตั้งโปรแกรมตามคำอธิบายของชัยณรงค์และคณะ (2566) บันทึกผลการตรวจติดตามการเกิดโรคของเชื้อราทุกๆ 7 วัน จนครบ 28 วัน วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำ โดยชุดทดลองควบคุมคือต้นเงินไหลมาอายุ 60 วัน ที่ทำการปลูกเชื้อรา *C. truncatum* ไอโซเลท APRS01 และฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ และต้นเงินไหลมาอายุ 60 วัน ที่ไม่ปลูกเชื้อรา

ผล

1. การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุม

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 4 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี poisoned food พบว่าสารเคมี difenoconazole มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. truncatum* ไอโซเลท APRS01 ได้ดีที่สุด โดยไม่พบการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (0.60 เซนติเมตร) รองลงมาคือสารเคมี carbendazim, azoxystrobin และ copper hydroxide มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีที่อายุ 5 วัน เท่ากับ 1.35, 3.12 และ 3.13 เซนติเมตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดทดลองควบคุมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีที่อายุ 5 วัน เท่ากับ 4.08 เซนติเมตร (Figure 1A-1C)

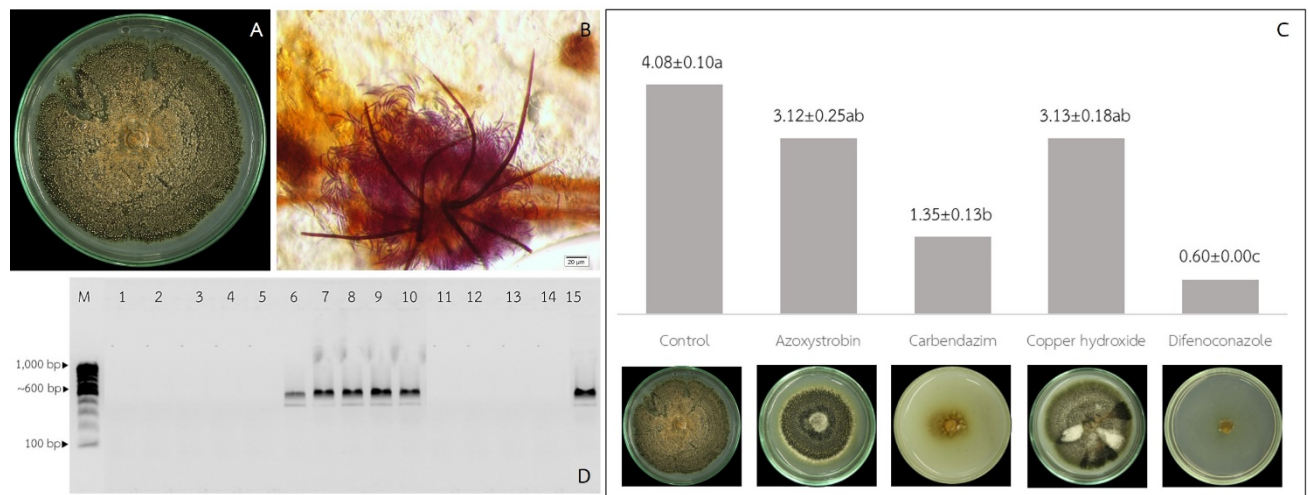


Figure 1 *Colletotrichum truncatum* isolate APRS01; Colony characteristics on PDA medium at day 5 (A); Spore mass under a 200X compound microscope (B); Colony diameter on 4 different fungicides to inhibit fungal mycelium using the poisoned food technique (C); and PCR product on 1.2% agarose gel electrophoresis obtained by specific primers Ccap-F/Ccap-R, Len M = 100 bp DNA Ladder marker, Len 1–5: Healthy plant, Len 6–10: Plants were infected by fungi and Len 11–15: Difenonazole treatment (D).

2. การติดตามเชื้อราเข้าทำลายแฝงของต้นเงินไหลมา

หลังการปลูกเชื้อราและฉีดพ่นสารเคมี difenoconazole ที่ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ (250 ppm) พบว่าที่ระยะเวลา 7, 14 และ 21 วัน เมื่อทำการสกัดดีเอ็นเอจากใบของต้นเงินไหลมาและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ Ccap-F/Ccap-R พบแถบ PCR product ขนาดประมาณ 600 bp ในตัวอย่างใบของต้นเงินไหลมาที่ปลูกเชื้อรา *C. truncatum* ไอโซเลท APRS01 (control + pathogen) แต่ไม่พบแถบดีเอ็นเอดังกล่าวในตัวอย่างใบของต้นเงินไหลมาในชุดทดลองควบคุม (control) และชุดทดลองที่ทำการฉีดพ่นสารเคมี difenoconazole (pathogen + difenoconazole) แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป 28 วันหลังการปลูกเชื้อรา สามารถพบแถบ PCR product ขนาดประมาณ 600 bp ในตัวอย่างใบของต้นเงินไหลมาที่ทำการฉีดพ่นสารเคมี difenoconazole (pathogen + difenoconazole) (Table 1; Figure 1D)

วิจารณ์ผล

เชื้อรา *C. truncatum* สามารถก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนส และอาการไหม้กับพืชได้หลายชนิด (Guo *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022) แพร่ระบาดได้ดีโดยเฉพาะในแถบพื้นที่ร้อนชื้น โดยเชื้อราจะสร้างสปอร์และงอกให้กำเนิด germ tube จากนั้นจะสร้าง appressorium ทางทะเลงูเนื้อเยื่อพืช และเจริญอยู่ในพืชได้ งานวิจัยนี้พบว่าสารเคมี difenoconazole สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และยับยั้งการเจริญในระดับเซลล์พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากเป็นสารดูดซึม และสามารถทนต่ออุณหภูมิได้สูงถึง 76 องศาเซลเซียส ทำให้คงสภาพในสภาวะแวดล้อมประเทศไทยได้ค่อนข้างดี และยังมีกลไกการออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการสังเคราะห์สาร sterols ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์เชื้อรา รวมถึงรบกวนการแปลรหัสโปรตีนของ CYP51 gene ในระหว่างกระบวนการเข้าทำลายของเชื้อรา (FRAC, 2022)

จึงทำให้การใช้สารเคมีดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการช่วยลดการเข้าทำลายของเชื้อราในผลผลิต และยังถือเป็นสารกำจัดเชื้อราที่มีประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว และการขนส่งเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราแฝงในผลผลิตได้ต่อไป

Table 1 Fungal detection of *C. truncatum* isolate APRS01 on arrowhead plant leaves after fungicide treatment using a PCR-Specific primer.

Treatments	Detection times (Day)*				
	0	7	14	21	28
Control	ND	ND	ND	ND	ND
Control + Pathogen	+	+	+	+	+
Pathogen + Difenconazole	ND	ND	ND	ND	+

* Fungal detection by using a PCR-Specific pair of primers, *Ccap-F* and *Ccap-R*. ND (Not detected) and + (Detecting).

สรุป

สารเคมี difenoconazole มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. truncatum* ไอโซเลท APRS01 และส่งผลให้ไม่พบการเข้าทำลาย และพัฒนาการของโรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อราดังกล่าวหลังการฉีดพ่นสารเคมีที่ระยะเวลา 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองควบคุม และชุดทดลองที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการโรคพืชวิทยา สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ และห้องปฏิบัติการราวิทยาภาคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน รวมถึงดร. สรรเสริญ รังสุวรรณ และนางสาวอภัสรา หิตรอด สำหรับข้อมูลการใช้สารเคมี การบำรุงรักษาต้นเงินไหลมาเพื่อเตรียมการวิจัยพื้นที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ชัยณรงค์ รัตนกริฑากุล, สันฐิติ บินคาเตอร์, รัตติยา พงศ์พิสุทธา, อลงกรณ์ ณ ตะกั่วทุ่ง และทิพย์วรา เทียนสว่าง. 2566. เชื้อรา *Colletotrichum* species; สาเหตุความผิดปกติของต้นเงินไหลมา (*Syngonium podophyllum* Schott) และศักยภาพของสารเคมีในการควบคุม. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิครั้งที่ 6, พระนครศรีอยุธยา, ประเทศไทย. หน้า 74-75.

รัตติยา พงศ์พิสุทธา, ชัยณรงค์ รัตนกริฑากุล และสันฐิติ บินคาเตอร์. 2564. ความต้านทานข้ามต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI และ DMI ของเชื้อรา *Colletotrichum siamense* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่ต้านทานต่อสารเคมี ในกลุ่ม benzimidazole. ว.วิทย์.กษ. 52(2)(พิเศษ): 49-52.

Agrios, G. 2004. Plant Pathology. 5th Editions. Academic Press, San Diego, California, US.

Fungicide Resistance Action Committee [FRAC]. 2022. FRAC Code List ©*2022: Fungal control agents sorted by cross-resistance pattern and mode of action (including coding for FRAC Groups on product labels). [Online]. Available Source: <https://www.frac.info/>. (25 July 2023).

Guo, Z., C.-X. Luo, H.-J. Wu, B. Peng, B.-S. Kang, L.-M. Liu, M. Zhang and Q.-S. Gu. 2022. *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease of watermelon (*Citrullus lanatus*) in China. J. Fungi. 8: 790.

Mooman, G.W. 2022. *Syngonium* diseases. Penn State Extension. [Online]. Available Source: <https://extension.psu.edu/syngonium-diseases>. (25 July 2023).

Torres-Calzada, C., R. Tapia-Tussell, A. Quijano-Ramayo, R. Martin-Mex, R. Rojas-Herrera, I. Higuera-Ciapara and D. Perez-Brito. 2011. A Species-specific polymerase chain reaction assay for rapid and sensitive detection of *Colletotrichum capsici*. Mol. Biotechnol. 49: 48–55.

University of Arkansas System. 2022. Herbaceous ornamental diseases. [Online]. Available Source: <https://www.uaex.uada.edu/yard-garden/resource-library/diseases/herbaceous/>. (25 July 2023).

Walker, J., A. Nikandrow and G.D. Millar. 1991. Species of *Colletotrichum* on *Xanthium* (Asteraceae) with comments on some taxonomic and nomenclatural problems in *Colletotrichum*. Mycol. Res. 95(10): 1,175-1,193.

Wang, C.-B., N. Jiang, Y.-Q. Zhu, H. Xue, C.-G. Piao and Y. Li. 2022. *Colletotrichum truncatum* causing anthracnose disease of *Iris lactea* in Beijing, China. J. Phytopathol. 170(6): 391 – 398.

Xu, P.D., D.D. Wei, Z.P. Li, C.X. Qin, X. Li, C.H. Lin and W.B. Liu. 2020. First report of bacterial soft rot on *Syngonium podophyllum* caused by *Pectobacterium aroidearum* in China. Plant Dis. 104(10): 2720.