

ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านต่อเชื้อรา  
*Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคทุเรียน

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF PIPERACEOUS PLANT EXTRACTS AGAINST  
*PHYTOPHTHORA PALMIVORA*, CAUSAL AGENT OF DURIAN DISEASE



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาพืชสวน

วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ. 2565

KMITL PRINCE OF CHUMPHON-2022-M-02-009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF PIPERACEOUS PLANT EXTRACTS AGAINST  
*PHYTOPHTHORA PALMIVORA*, CAUSAL AGENT OF DURIAN DISEASE



PRAPAIPAK SRIKAYAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE  
PRINCE OF CHUMPHON CAMPUS GRADUATE SCHOOL  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
PRINCE OF CHUMPHON CAMPUS  
2022

KMITL PRINCE OF CHUMPHON-2022-M-02-009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2022

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

PRINCE OF CHUMPHON CAMPUS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านต่อเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> สาเหตุโรคทุเรียน
ชื่อนักศึกษา	นางสาวประไพภักดิ์ ศรีขยัน
รหัสประจำตัว	64620012
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	พืชสวน
พ.ศ.	2565
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.พรประพา คงตระกูล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ.ดร.พรรณีภา ย้วยล

### บทคัดย่อ

เชื้อรา *Phytophthora palmivora* เป็นสาเหตุโรคที่สำคัญของทุเรียนก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจส่งผลกระทบต่อการผลิตทุเรียนทั้งปริมาณและคุณภาพ งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) รวบรวมและจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคทุเรียน 2) ทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนทุเรียนของเชื้อรา *P. palmivora* 3) ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญเติบโตและการติดเชือบนทุเรียนของเชื้อรา *P. palmivora* โดยแยกและศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. palmivora* จำนวน 4 ไอโซเลท คือ CL5\_F1, CL5\_F2, CL5\_F11 และ CL5\_F12 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 agar และ CA agar มีลักษณะโคโลนี แบบ radiate และ stellate มีการสร้าง สปอร์แรงเจียมแบบทรงรีและรูปไข่ มีการสร้างคลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) และทดสอบความไวต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิล (metalaxyl) พบว่าไอโซเลท CL5\_F1 และ CL5\_F2 อ่อนแอต่อเมทาแลกซิล (Met<sup>s</sup>) ส่วนไอโซเลท CL5\_F11 และ CL5\_F12 ต้านทานต่อเมทาแลกซิล (Met<sup>R</sup>) ทั้งนี้ได้ทำการตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลของ GenBank พบว่าทั้ง 4 ไอโซเลท ลำดับเบสตรงกับ *P. palmivora* 100% และทุกไอโซเลทก่อให้เกิดโรคนต้นกล้าและผลของทุเรียน

คัดเลือกสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านจำนวน 6 ชนิด คือ พลูอาจารย์ก่อง (*P. kongkandanum*), ตือ (*P. majusculum*), สะค้านดง (*P. sylvaticum*), จะค้ำน (*P. wallichii*), ตีปลี (*P. retrofractum*) และ พริกไทยก้านยาว (*P. griffithii*) จากส่วนต้นและใบด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะเซเตท และเอทานอล จำนวน 36 สารสกัดหยาบ ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 ppm ต่อการเจริญทางเส้นใยของ

เชื้อรา *P. palmivora* 4 ไอโซเลท ด้วยวิธี paper disc diffusion พบว่ามีสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยมากกว่า 50% จำนวน 9 สารสกัดหยาบ คือ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเฮกเซนจากใบพลูอาจารย์ก่อง (P8.4), ตือ (P20.4), สะค้ำนดง (P49.4), พริกไทย (P173.4) สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากลำต้นสะค้ำนดง (P49.3), ดีปลี (P56.6), พริกไทยก้านยาว (P173.3) และจากใบพริกไทยก้านยาว (P173.6) และสารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทจากใบตือ (P20.2) และจากตัวอย่างดังกล่าวทดสอบประสิทธิภาพที่ระดับความเข้มข้น 25,000, 50,000 และ 100,000 ppm ต่อเชื้อราไอโซเลทอ่อนแอ (CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>) และไอโซเลทต้านทาน (CL5\_F11\_Met<sup>R</sup>, CL5\_F12\_Met<sup>R</sup>) ต่อเมทาแลกซิล พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของพริกไทยก้านยาวที่สกัดด้วยเอทานอล (ทุกระดับความเข้มข้น), สารสกัดหยาบจากใบของดีปลีที่สกัดด้วยเอทานอล (50,000 ppm), สารสกัดหยาบจากใบของพริกไทยก้านยาวที่สกัดด้วยเฮกเซน (50,000 ppm) สารสกัดหยาบจากใบของตือที่สกัดด้วยเฮกเซน (100,00 ppm) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบแต่ละไอโซเลท คือ 61.36-63.46%, 27.84%, 34.37%, 47.40% และ 66.96% ตามลำดับ

นอกจากนี้ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้ำนตัวอย่าง สารสกัดหยาบจากใบตือ สารสกัดหยาบจากใบดีปลี สารสกัดหยาบจากลำต้นพริกไทยก้านยาว สารสกัดหยาบจากใบพริกไทยก้านยาว และสารสกัดหยาบจากใบพริกไทยก้านยาว ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 และ 100,000 ppm ต่อการควบคุมและป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท บนใบทุเรียน เป็นเวลา 4 วัน พบว่า สารสกัดหยาบทั้ง 5 ชนิด สามารถควบคุมและป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราได้ดี กล่าวคือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบทั้ง 5 ชนิด ทุกความเข้มข้น สามารถควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* ไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ได้ 88.04-90.48% และตัวอย่างสารสกัดหยาบจากใบของดีปลีที่สกัดด้วยเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 ppm สามารถควบคุมการเข้าทำลายไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 93.70% ในขณะที่สารสกัดหยาบจากลำต้นพริกไทยก้านยาวที่สกัดด้วยเอทานอล และสารสกัดหยาบจากใบของพริกไทยก้านยาวที่สกัดด้วยเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 100,000 ppm สามารถควบคุมการเข้าทำลายไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> ที่ 50.73% และ CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 94.45% ได้ดีที่สุดในลำดับ ทั้งนี้ที่ความเข้มข้น 50,000 ppm ของตัวอย่างสารสกัดหยาบจากใบของตือที่สกัดด้วยเฮกเซน และสารสกัดหยาบจากลำต้นพริกไทยก้านยาวที่สกัดด้วยเอทานอล สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ได้ 100%, ไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ได้ 93.67% ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดหยาบจากใบของพริกไทยก้านยาวที่สกัดด้วยเฮกเซน สามารถป้องกันการเข้าทำลายได้ 2 ไอโซเลท คือ CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ที่ 71.45% และ 98.15% ได้ดีที่สุดในลำดับ

**คำสำคัญ :** โรคผลเน่า, เทคนิค ITS rDNA, ความสามารถในการก่อโรค, สารสกัดหยาบ

Thesis Title	Antifungal activity of piperaceous plant extracts against <i>Phytophthora palmivora</i> , causal agent of durian disease
Student	Miss Prapaipak Srikayan
Student ID	64620012
Degree	Master of Science
Program	Horticulture
Year	2022
Thesis Advisor	Assoc.Prof. Dr. Pornprapa Kongtragoul
Thesis Co-Advisor	Assoc.Prof. Dr. Pannipa Youryon

### Abstract

*Phytophthora palmivora* is a major pathogen of durian, causing economic damage affecting both the quantity and quality of durian production. The objectives of this research were 1) to purify and identify the morphological characteristics of *P. palmivora* causing durian diseases, 2) to evaluate their pathogenicity, and metalaxyl sensitivity and 3) to study the antifungal activity of crude extracts from Piperaceous plants on growth and infection of *P. palmivora*. Four isolates (CL5\_F1, CL5\_F2, CL5\_F11, and CL5\_F12) of *P. palmivora* were isolated and studied on V8 agar and carrot agar. Theirs are radiate and stellate colonies pattern, ellipsoid and ovoid sporangium, and chlamydo-spore formation. The metalaxyl sensitivity test revealed that the CL5\_F1 and CL5\_F2 isolates were sensitive to metalaxyl (Met<sup>S</sup>), whereas the CL5\_F11 and CL5\_F12 isolates were resistant to metalaxyl (Met<sup>R</sup>). Moreover, comparative genetic characterization of nucleotide sequences in the GenBank database showed that all four isolates were 100% identity to *P. palmivora*. All isolates were pathogenic on durian seedlings and fruits.

In addition, crude extracts from stems and leaves of 6 species in the genus *Piper* namely; Phlu Aarchan Kong (*P. kongkandanum*), Tue (*P. majusculum*), Sakhandong (*P. sylvaticum*), Cha khan (*P. wallichii*), Long pepper (*P. retrofractum*) and Phrik Thai Kan Yao (*P. griffithii*) with 3 solvents, hexane, ethyl acetate, and ethanol and 36 samples at a

concentration of 50,000 ppm were tested to inhibit the mycelial growth of all isolates of *P. palmivora* by paper disc diffusion method.

It was found that 9 samples had mycelial growth inhibition of more than 50%, hexane crude extract from the leaf of *P. kongkandanum* (P8.4), *P. majusculum* (P20.4), *P. wallichii* (P49.4), and *P. griffithii* (P173.4), ethanol crude extract from the stem of *P. wallichii* (P49.3), *P. retrofractum* (P56.6), *P. griffithii* (P173.3), and leaf extract *P. griffithii* (P173.6), and ethyl acetate crude extract from the leaf of *P. majusculum* (P20.2). Therefore, the efficacy was tested at concentrations of 25,000, 50,000, and 100,000 ppm against sensitive isolates (CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>) and resistant isolates (CL5\_F11\_Met<sup>R</sup>, CL5\_F12\_Met<sup>R</sup>) to metalaxyl. It was found that the samples of *Piper* crude extract P173.6 (all concentrations), P56.6 (50,000 ppm), P173.4 (50,000 ppm), and P20.4 (100,000 ppm) were the best growth inhibitors of each isolate at 61.36-63.46%, 27.84%, 34.37%, 47.40%, and 66.96%, respectively.

In addition, Piperaceous plant crude extracts of P20.4, P56.6, P173.3, P173.4, and P173.6 at 50,000 and 100,000 ppm were tested on the control and prevention of the infection of All 4 isolates on durian leaves for 4 days. It was found that all tested crude extracts could control and prevent fungal infection. All selected crude extracts at all concentrations could control the infection of CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> *P. palmivora* at 88.04-90.48%, and the P56.6 crude extract at 50,000 ppm was able to control the CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> at 93.70%. Meanwhile, crude extracts P173.3 and P173.6 at 100,000 ppm were the best able to control the infection of CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> at 50.73% and CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> at 94.45%, respectively. However, P20.4 and P173.3 crude extract samples at 50,000 ppm prevented the infection of CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> at 100% and CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> at 93.67%, respectively. The P173.4 crude extract was the most protective against 2 isolates of CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> and CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> at 71.45% and 98.15%, respectively.

**Keywords:** Fruit rot, Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA, Pathogenicity test, crude extract

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีต้องขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. เฉลิมพล สุวรรณภักดี ภาควิชา  
พฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่ให้การสนับสนุนในการทำ  
วิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.พรประพา คงตระกูล  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ.ดร. พรรณีภา ย้วยล และประธานกรรมการ ผศ.ดร. สรัญญา วัลยะเสวี ที่ให้  
คำแนะนำในการทำการทดลองนี้ รวมถึงเสียสละเวลา แรงกาย แรงใจ อบรมสั่งสอน แก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น  
ระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนชี้แนะข้อบกพร่องในการจัดทำวิทยานิพนธ์ ทั้งเอาใจใส่ดูแลเป็นอย่างดี  
และตรวจสอบข้อผิดพลาดต่าง ๆ ด้วยดีเสมอมา ขอขอบคุณอาจารย์ประจำหลักสูตรพืชสวนที่ให้คำแนะนำ  
ในการทำวิทยานิพนธ์ ให้คำปรึกษา และแนะแนวทางแก้ปัญหาจนสำเร็จได้ด้วยดีเสมอมา ขอขอบคุณเพื่อน  
พี่ และน้อง ๆ หลักสูตรพืชสวนทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือให้กำลังใจ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไป  
ได้ด้วยดี

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้อง ที่คอยสนับสนุนและเป็นกำลังใจใน  
การศึกษา และการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ประไพภักดี ศรีขยัน

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญรูปภาพ.....	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของทุเรียน.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของทุเรียน.....	3
2.2 เชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp.....	4
2.3 โรคทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> .....	5
2.4 พืชสมุนไพรสกุลสะค้าน ( <i>Piper</i> ).....	12
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	16
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	19
3.1 ศึกษาลักษณะอาการและการแยกเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> สาเหตุโรคทุเรียน.....	19
3.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> สาเหตุโรคทุเรียน.....	21
3.3 ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัด <i>metalaxyl</i> ในการควบคุมเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> สาเหตุโรคทุเรียน.....	21
3.4 การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> .....	22

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5 การทดสอบความสามารถในการทำให้ก่อโรค (Pathogenicity test).....	23
3.6 คัดเลือกสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในสภาพห้องปฏิบัติการ.....	25
3.7 ทดสอบสารออกฤทธิ์จากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในสภาพห้องปฏิบัติการ.....	29
3.8 ทดสอบสารออกฤทธิ์จากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> บนใบทุเรียน โดยวิธี detached leaves.....	31
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	33
4.1 แยก และเก็บรวบรวมเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> สาเหตุโรคทุเรียน.....	33
4.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> สาเหตุโรคทุเรียน.....	34
4.3 การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> .....	38
4.4 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> บนต้นกล้าทุเรียน.....	39
4.5 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> บนผลทุเรียน.....	41
4.6 คัดเลือกสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> โดยวิธี paper disc diffusion.....	44
4.7 ทดสอบสารสกัดจากพืชสกุลสะค้าน และประเมินประสิทธิภาพต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> โดยวิธี paper disc diffusion.....	53
4.8 ทดสอบสารออกฤทธิ์จากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> บนใบทุเรียน.....	67

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 วิจัยณ์ผลการทดลอง.....	85
5.1 แยก เก็บรวบรวม และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> สาเหตุโรคทุเรียน.....	85
5.2 การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> .....	85
5.3 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> บนต้นกล้าทุเรียน.....	86
5.4 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> บนผลทุเรียน.....	86
5.5 คัดเลือกสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> โดยวิธี paper disc diffusion.....	87
5.6 ทดสอบสารสกัดจากพืชสกุลสะค้าน และประเมินประสิทธิภาพต่อ การเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> โดยวิธี paper disc diffusion.....	88
5.7 ทดสอบสารออกฤทธิ์จากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> บนใบทุเรียน.....	89
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง.....	91
บรรณานุกรม.....	93
ประวัติผู้เขียน.....	104

## สารบัญตาราง

หน้า

### ตารางที่

3.1 NARH-M1 V8 selective medium for <i>Phytophthora</i> species.....	20
3.2 Crude extracts from stems and leaves of 6 species with 3 solvents.....	27
4.1 Morphology characterization of <i>Phytophthora palmivora</i> isolate on V8 agar causing fruit rot disease of durian.....	34
4.2 Morphology characterization of <i>Phytophthora palmivora</i> isolate on C.A. agar causing fruit rot disease of durian.....	36
4.3 Sensitivity of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates to metalaxyl on PDA.....	37
4.4 The blast result of rDNA ITS sequence from <i>Phytophthora palmivora</i> causing durian diseases and their most closely related sequences in GenBank.....	39
4.5 Disease incidence on durian seedlings after inoculation with CL5_F1_Met <sup>S</sup> , CL5_F2_Met <sup>S</sup> , CL5_F11_Met <sup>R</sup> and CL5_F12_Met <sup>R</sup> of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates for 10 weeks.....	40
4.6 Disease severity index on durian seedlings after inoculation with CL5_F1_Met <sup>S</sup> , CL5_F2_Met <sup>S</sup> , CL5_F11_Met <sup>R</sup> and CL5_F12_Met <sup>R</sup> of <i>Phytophthora palmivora</i> Isolates for 10 weeks.....	40
4.7 Pathogenicity test on durian fruit after inoculation with CL5_F1_Met <sup>S</sup> , CL5_F2_Met <sup>S</sup> , CL5_F11_Met <sup>R</sup> and CL5_F12_Met <sup>R</sup> of <i>Phytophthora palmivora</i> Isolates for 9 days.....	42
4.8 Inhibitory effect of crude extracts from 36 samples of <i>Piper</i> spp. on <i>Phytophthora palmivora</i> Isolates CL5_F1_Met <sup>S</sup> , CL5_F2_Met <sup>S</sup> , CL5_F11_Met <sup>R</sup> and CL5_F12_Met <sup>R</sup> by paper disc diffusion method.....	45
4.9 Effect of crude extracts from 9 samples of <i>Piper</i> spp. on the mycelial growth of 4 isolates of <i>Phytophthora palmivora</i> .....	54

## สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

4.10 <i>Piper</i> spp., regression equation, coefficient of determination ( $R^2$ ), sensitivity and 50% effective concentration of mycelium growth of <i>P. palmivora</i> causing durian disease.....	57
4.11 Effect of crude extracts from 5 samples of <i>Piper</i> spp. on leaves after inoculation with 4 isolates of <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	69
4.12 Effect of crude extracts from 5 samples of <i>Piper</i> spp. on leaves before inoculation with 4 isolates of <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	72
4.13 Summary the effect of crude extracts from piperaceous on the mycelial growth of 4 isolates of <i>Phytophthora palmivora</i> .....	81
4.14 Summary the effect of crude extracts from 5 samples of piperaceous on leaves after inoculation with 4 isolates of <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	83
4.15 Summary the Effect of crude extracts from 5 samples of piperaceous on leaves before inoculation with 4 isolates of <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	84

## สารบัญภาพ

หน้า

### ภาพที่

3.1 Radius measurement of the fungal mycelium after treated with <i>Piper</i> spp. crude extracts by paper disc diffusion method, control plate (a), and test plate (b).....	25
3.2 Radius measurement of the fungal mycelium after treated with <i>Piper</i> spp. crude extracts by paper disc diffusion method, control plate (a), and test plate (b).....	29
4.1 Symptoms of durian fruit rot disease caused <i>Phytophthora palmivora</i> .....	33
4.2 Morphological characteristics 4 isolates of <i>Phytophthora palmivora</i> on V8 juice agar for 7 days; CL5_F1(A-E), CL5_F2 (F-J), CL5_F11 (K-O), CL5_F12 (P-T), mycelium (C, H, M, R), shapes of sporangium (D, I, N, S) and chlamydospore (E, J, O, T).....	35
4.3 Morphological characteristics 4 isolates of <i>Phytophthora palmivora</i> on C.A. agar for 7 days; CL5_F1(A-E), CL5_F2 (F-J), CL5_F11 (K-O), CL5_F12 (P-T), mycelium (C, H, M, R), shapes of sporangium (D, I, N, S) and chlamydospore (E, J, O, T).....	36
4.4 The metalaxyl sensitivity of <i>Phytophthora palmivora</i> in each isolate on clarified PDA amended with 0 (control), 0.1, 1, 10, and 100 ppm.....	37
4.5 Amplification of the partial ITS region of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates for species identification by using universal primers (ITS4 and ITS6). Markers as the 800 bp ladder.....	38
4.6 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL5_F1_Met <sup>S</sup> (A), CL5_F2_Met <sup>S</sup> (B), CL5_F11_Met <sup>R</sup> (C) and CL5_F12_Met <sup>R</sup> (D) of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates for 10 weeks.....	41
4.7 Symptoms on durian fruit after inoculation with CL5_F1_Met <sup>S</sup> , CL5_F2_Met <sup>S</sup> , CL5_F11_Met <sup>R</sup> and CL5_F12_Met <sup>R</sup> of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates for 9 days.....	43

## สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

4.8 Effect of crude extracts from 12 samples of <i>Piper</i> spp. on the mycelium growth of <i>Phytophthora palmivora</i> 4 Isolates by paper disc diffusion method on V8 agar.....	47
4.9 Mycelial characteristics of <i>Phytophthora palmivora</i> after treated with ethanol crude extract from the stem of <i>P. retrofractum</i> (P56.6) and leaf extract <i>P. griffithii</i> (P173.6) at 50,000 µl/ml for 24 hour under the compound microscope (10x).....	52
4.10 Effect of crude extracts from 9 samples of <i>Piper</i> spp. on the mycelial growth of CL5_F1_Met <sup>S</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> .....	59
4.11 Effect of crude extracts from 9 samples of <i>Piper</i> spp. on the mycelial growth of CL5_F1_Met <sup>S</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> .....	60
4.12 Effect of crude extracts from 9 samples of <i>Piper</i> spp. on the mycelial growth of CL5_F2_Met <sup>S</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> .....	61
4.13 Effect of crude extracts from 9 samples of <i>Piper</i> spp. on the mycelial growth of CL5_F2_Met <sup>S</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> .....	62
4.14 Effect of crude extracts from 9 samples of <i>Piper</i> spp. on the mycelial growth of CL5_F11_Met <sup>R</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> .....	63
4.15 Effect of crude extracts from 9 samples of <i>Piper</i> spp. on the mycelial growth of CL5_F11_Met <sup>R</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> .....	64
4.16 Effect of crude extracts from 9 samples of <i>Piper</i> spp. on the mycelial growth of CL5_F12_Met <sup>R</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> .....	65
4.17 Effect of crude extracts from 9 samples of <i>Piper</i> spp. on the mycelial growth of CL5_F12_Met <sup>R</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> .....	66
4.18 Effect of crude extracts from 5 samples of <i>Piper</i> spp. on leaves after inoculation with CL5_F1_Met <sup>S</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	73

## สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

4.19 Effect of crude extracts from 5 samples of <i>Piper</i> spp. on leaves before inoculation with CL5_F1_Met <sup>S</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	74
4.20 Effect of crude extracts from 5 samples of <i>Piper</i> spp. on leaves after inoculation with CL5_F2_Met <sup>S</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	75
4.21 Effect of crude extracts from 5 samples of <i>Piper</i> spp. on leaves before inoculation with CL5_F2_Met <sup>S</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	76
4.22 Effect of crude extracts from 5 samples of <i>Piper</i> spp. on leaves after inoculation with CL5_F11_Met <sup>R</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	77
4.23 Effect of crude extracts from 5 samples of <i>Piper</i> spp. on leaves before inoculation with CL5_F11_Met <sup>R</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	78
4.24 Effect of crude extracts from 5 samples of <i>Piper</i> spp. on leaves after inoculation with CL5_F12_Met <sup>R</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	79
4.25 Effect of crude extracts from 5 samples of <i>Piper</i> spp. on leaves before inoculation with CL5_F12_Met <sup>R</sup> <i>Phytophthora palmivora</i> on wounded leaves for 4 days.....	80

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของทุเรียน

ทุเรียน (*Durio zibethinus* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากในปัจจุบันประเทศไทยถือว่าเป็นประเทศที่สามารถผลิต และส่งออกทุเรียนมากที่สุดเป็นอันดับ 1 ของโลก (Asia-Pacific Association of Agricultural Research Institutions, 2018) ส่งผลให้เกษตรกรปลูกทุเรียนเป็นอาชีพหลักเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในปี 2564 มีพื้นที่ปลูกทุเรียนประมาณ 1,168,154 ไร่ มีผลผลิตรวม 1,212,989 ตัน สร้างมูลค่าของผลผลิต 138,256 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) แต่ปัญหาที่สำคัญอีกประการหนึ่งในการปลูกทุเรียน คือ การเกิดโรคจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* spp. เนื่องจากด้วยสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยอยู่ในเขตร้อนชื้น มีฝนตกชุกเกือบตลอดทั้งปี ประกอบกับลักษณะเด่นของเชื้อราชนิดนี้อาศัยได้ทั้งในน้ำ ดิน และสามารถอยู่ข้ามปีได้นานหลายปี (ทวี, 2545) ปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่นิยมแก้ปัญหาโดยการใช้น้ำสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เพราะสะดวกและได้ผลเร็ว ทั้งนี้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่ใช้กันแพร่หลายมี 4 กลุ่ม คือ Phenylamides (PAs), Carboxylic acid amides (CAAs), Multisite Inhibitors และ Phosphonates (Gisi and Sierotzki, 2015) ซึ่งการใช้น้ำสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราดังกล่าวต่อเนื่องเป็นเวลานาน ส่งผลให้เชื้อราเกิดการดื้อต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา โดยมีความอยู่รอดและเพิ่มปริมาณในแปลงปลูกของเกษตรกรได้โดยไม่รู้ตัว (Deising *et al.*, 2008; Damicone, 2017) หากเชื้อราสาเหตุเชื้อราดื้อต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราหลายชนิด ส่งผลให้เกษตรกรประสบปัญหาไม่สามารถควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุได้ ทั้งนี้ยังส่งผลทำให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในบริเวณเพาะปลูก และผลผลิต ซึ่งเป็นอันตรายต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และเป็นปัญหาต่อสภาพแวดล้อม จึงเป็นแนวทางในการนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรสกุลสะค้านที่เป็นสารจากธรรมชาติเข้ามาใช้ทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เพื่อลดความเสียหาย และป้องกันกำจัดจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุดังกล่าว

ปัจจุบันพืชสกุลสะค้านในประเทศไทยมีรายงานพืชสกุลนี้ 47 แทกซา (46 ชนิด 2 พันธุ์) (Swanphakdee *et al.*, 2020) มีการนำพืชสกุลสะค้านมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้เป็นสมุนไพร เครื่องเทศ และเป็นผักพื้นบ้าน นอกจากนี้ยังมีการนำพืชในสกุลนี้มาศึกษาทางชีวภาพด้วย ได้แก่ พลู ตีปาลี พริกไทย และข้าวพลู ซึ่งเป็นหนึ่งในตัวเลือกที่น่าสนใจ และมีรายงานว่าสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านมีสรรพคุณหลายด้าน สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ รวมไปถึงมีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ (Rintu *et al.*, 2015; Mgbeahuruike *et al.*, 2017; Sanubol *et al.*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2017; Ali et al., 2018) และมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญหลายชนิด จึงมีแนวทางที่จะนำมาศึกษาเพื่อป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชต่าง ๆ ทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ทั้งนี้พบรายงานว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (ภัสจันท์ และคณะ, 2552; Janthong et al., 2021) คาดว่ามีสารประกอบในกลุ่ม chalcone และ flavonoids มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด (Aravind et al., 2008; Ruiz et al., 2011; Castro et al., 2015) จึงเป็นพืชที่น่าสนใจในการนำมาสกัดเพื่อใช้ในการควบคุมโรคพืช ทดแทนการใช้สารเคมี

## 1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อเก็บรวบรวม แยกเชื้อราและจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคทุเรียน
2. เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. palmivora* บนทุเรียน
3. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*
4. เพื่อทดสอบผลของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านต่อการก่อโรคของเชื้อรา *P. palmivora* บนใบทุเรียน

## 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้เชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคทุเรียน และจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา
2. ได้ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. palmivora* บนทุเรียน
3. ได้ผลของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*
4. ได้ผลของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านต่อการก่อโรคของเชื้อรา *P. palmivora* บนใบทุเรียน

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของทุเรียน

ทุเรียนเป็นผลไม้ที่ทำรายได้ให้กับประเทศไทยเป็นจำนวนมากในแต่ละปี โดยในปี 2564 มีพื้นที่ปลูกทุเรียนประมาณ 1,168,154 ไร่ มีผลผลิตรวม 1,212,989 ตัน สร้างมูลค่าของผลผลิต 138,256 ล้านบาท ซึ่งมีพื้นที่ปลูกทุเรียนเพิ่มขึ้นจากปี 2563 เนื่องจากปีที่ผ่านมาราคาอยู่ในเกณฑ์ดีอย่างต่อเนื่องเป็นที่พอใจของเกษตรกร จึงมีการขยายพื้นที่ปลูกทุเรียนเพิ่มขึ้นทุกปี โดยเฉพาะแหล่งผลิตที่สำคัญในภาคใต้ เช่น จังหวัดชุมพร นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และยะลา สำหรับภาคตะวันออก เช่น จังหวัดจันทบุรี ระยอง และตราด เกษตรกรปลูกทดแทนยางพารา ปาล์มน้ำมัน และไม้ผลอื่น ๆ ทั้งนี้ประเทศไทยเป็นผู้ผลิต และส่งออกทุเรียนรายใหญ่ของโลก ผลผลิตทุเรียนส่วนใหญ่ส่งออกไปยังตลาดต่างประเทศ โดยส่งออกผลสดประมาณร้อยละ 95 ของการส่งออกทั้งหมด ตลาดในการส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ จีน ฮองกง และเวียดนาม ซึ่งมียอดการส่งออกผลผลิตทุเรียน 904,597 ตัน มูลค่า 115,095 ล้านบาท เพิ่มขึ้นร้อยละ 14.96 และร้อยละ 45.88 ต่อปี ตามลำดับ การส่งออกทุเรียนจำแนกตามประเภททุเรียน ได้แก่ ทุเรียนสด 860,532 ตัน มูลค่า 105,946.99 ล้านบาท เพิ่มขึ้นร้อยละ 14.42 และร้อยละ 47.87 ต่อปี ทุเรียนแช่แข็ง 43,245 ตัน มูลค่า 8,797.83 ล้านบาท เพิ่มขึ้นร้อยละ 32.17 และร้อยละ 35.45 ต่อปี ทุเรียนอบแห้ง 333 ตัน มูลค่า 288.24 ล้านบาท ลดลงร้อยละ 13.54 และร้อยละ 11.45 ต่อปี ทุเรียนกวน 487 ตัน มูลค่า 62.42 ล้านบาท ลดลงร้อยละ 16.93 และร้อยละ 14.52 ต่อปี ซึ่งการส่งออกรวมเพิ่มขึ้นจากปีที่ผ่านมา เนื่องจากตลาดยังมีความต้องการอย่างต่อเนื่อง ถึงแม้ประสบปัญหาด้านการขนส่ง และการกระจายสินค้าในประเทศที่ 3 เกิดความล่าช้าในช่วงที่ผลผลิตส่งออกสู่ตลาด ซึ่งผลกระทบจากมาตรการควบคุมการระบาดของโรคโควิด-19 ทำให้ผลทุเรียนได้รับความเสียหาย และคุณภาพลดลงก่อนถึงตลาดปลายทาง สำหรับพันธุ์ทุเรียนที่เกษตรกรนิยมปลูก ได้แก่ พันธุ์หมอนทอง, พันธุ์ชะนี, พันธุ์ก้านยาว, พันธุ์พวงมณี, พันธุ์กระดุม และพันธุ์รวง ประเทศไทยมีคู่ค้าที่ส่งออกทุเรียนที่สำคัญ ได้แก่ เวียดนาม, จีน, ฮองกง, สหรัฐอเมริกา, รัสเซีย, เนเธอร์แลนด์ และฟิลิปปินส์ คู่แข่งที่สำคัญ ได้แก่ เวียดนาม, มาเลเซีย และออสเตรเลีย เป็นต้น เนื่องจากมาเลเซียได้ให้ความสำคัญกับการวิจัย และพัฒนาพันธุ์ทุเรียนอย่างต่อเนื่อง ซึ่งมีการผสมพันธุ์ และคัดเลือกพันธุ์ที่เหมาะสมกับความต้องการของตลาด รวมทั้งประสบความสำเร็จในการทำทุเรียนต้นเดี่ยว เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและออกก่อนฤดู (สำนักวิจัยงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565)

## 2.2 เชื้อรา *Phytophthora* sp.

เชื้อรา *Phytophthora* sp. จัดอยู่ใน

Kingdom: Chromista

Class: Oomycetes

Order: Peronosporales

Family: Pythiaceae

Genus: *Phytophthora* (Erwin and Ribeiro, 1996)

เชื้อรา *Phytophthora* spp. มีเส้นใยแบบไม่มี septum กั้น ลักษณะ sporangium ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. มักมีรูปร่าง pear-shaped เกิดอยู่บนก้าน sporangiophore ที่ค่อนข้างมีความแตกต่างไปจากเส้นใยปกติ อาจแตกกิ่งแบบ sympodial หรือไม่แตกกิ่งก็ได้ บนพืชที่เป็นโรคจะพบ sporangiophore ยื่นออกมาทางปากใบ sporangium ที่สร้างส่วนแรกเกิดที่ปลาย sporangiophore แต่อาจถูกดันออกไปทางด้านข้าง (รัชณี, 2552) ทั้งนี้เชื้อรา *P. palmivora* เป็นเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า และโคนเน่าของทุเรียน มีลักษณะเด่น คือ สามารถสร้างสปอร์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ

### การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

สำหรับการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า zoospore เกิดใน sporangium มีรูปร่างแบน ovate หรือ elongate elliptical ส่วนปลายของ sporangium มี papilla ผนังหนา และเมื่อแก่เต็มที่ zoospore มี flagella 2 ทาง มีความยาวไม่เท่ากัน ทางหนึ่งเป็นลักษณะแบบ tinsel flagellum ทำหน้าที่ในการเคลื่อนย้ายไปข้างหน้า อีกทางหนึ่งมีลักษณะแบบ whiplash flagellum ทำหน้าที่ในการเคลื่อนย้ายให้ถอยหลัง หรือการว่ายน้ำ ส่วนลักษณะของ sporangium มีรูปแบบหลายชนิด เช่น ovoid, ellipsoid, obpyriform, ovoid-obpyriform, spherical และ pyriform บริเวณปลายเส้นใย หรือระหว่างปลายเส้นใยสร้าง chlamydospore มีลักษณะค่อนข้างกลม ผนังเรียบ และบาง (มณีรัตน์, 2561; Worrall, 1999)

### การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

สำหรับการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อราชนิดนี้เป็นแบบ heterothallic มีการสร้าง oogonium ลักษณะรูปร่างกลม ผนังบาง ขรุขระ มีสีเหลืองถึงสีทอง antheridium เป็นแบบ amphigynous รูปร่างกลม zoospore มีผนังหนา สีเหลืองถึงสีน้ำตาล เชื้อราเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 16-32 °C แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด คือ 28 °C และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเป็นพวก heterothallic ประกอบไปด้วย 2 mating types คือ A1 และ A2 zoospore เกิดจากการผสมกันของ 2 mating types

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดย antheridium และ oogonium ถูกสร้างขึ้นจากเส้นใยของแต่ละ mating type ซึ่งการผสมพันธุ์ของเชื้อราพวก heterothallic จะทำให้เกิดลักษณะใหม่ ๆ ของพันธุกรรม (มณีรัตน์, 2561; Worral, 1999)

สำหรับในประเทศไทยเชื้อรา *Phytophthora* ที่พบได้แก่ *P. palmivora*, *P. parasitica*, *P. cinnamomic*, *P. botryose*, *P. melonis* และ *P. infestans* เชื้อรา *Phytophthora* spp. เป็นสาเหตุโรคของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น โรคเส้นดำของยางพารา โรครากเน่า โคนเน่า และผลเน่าของทุเรียน โรครากเน่า และรากเน่าของมันสำปะหลัง ทั้งในระยะต้นกล้า และในระยะต้นที่เจริญเติบโตเต็มวัย ซึ่งในประเทศไทยกำลังพบปัญหาเกี่ยวกับเชื้อราชนิดนี้ค่อนข้างมากในการปลูกพืช (นิพนธ์ และจักรพงษ์, 2541; นิพนธ์, 2542; เตือนใจ และคณะ, 2545; กลุ่มวิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์ดิน และน้ำพื้นที่พืชไร่, 2548; สถาบันวิจัยยางพารา, 2555; พรพิมล และคณะ, 2562)

## 2.3 โรคทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

### 2.3.1 โรครากเน่าโคนเน่า (Root rot and stem rot)

โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนเป็นโรคที่สร้างความเสียหายต่อเกษตรกรชาวสวนทุเรียนเป็นอย่างมาก โดยการเข้าทำลายต้นทุเรียนที่กำลังเจริญเติบโต และผลผลิตด้วยการยืนต้นตาย เมื่อโรคนี้ระบาดทำความเสียหายกับทุเรียนในทุกแหล่งพื้นที่ปลูกของประเทศไทยทำให้สวนทุเรียนเป็นโรคเกือบทั้งสิ้น ซึ่งเชื้อราสาเหตุ คือ *P. palmivora* สามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกส่วน เช่น ส่วนของราก ลำต้น กิ่ง ใบ และผล อีกทั้งเชื้อราจะอาศัยอยู่ในดิน และสามารถแพร่ระบาดได้ทั้งในน้ำ และในอากาศ ทำให้การแพร่ระบาดของเชื้อราเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว ทำความเสียหายให้กับเกษตรกรผู้ปลูกทุเรียน ซึ่งนับว่าโรครากเน่าโคนเน่าเป็นโรคที่สำคัญต่อการผลิตทุเรียนเป็นอย่างมาก (มณีรัตน์, 2561)

#### ลักษณะอาการ :

เมื่อสังเกตจากทรงพุ่มภายนอก พบว่า ใบทุเรียนไม่เป็นมันสดใสเหมือนใบปกติโดยเฉพาะในช่วงกลางวันที่มีแดดแรงจัด ใบจะดูลึบ และกลับเป็นปกติในช่วงเวลาตอนเย็น ต่อมาใบจะค่อย ๆ เปลี่ยนไปเป็นสีเหลือง มักพบเห็นเป็นจุดซ้ำ ๆ สีเหลืองสลับเขียวแล้วหลุดร่วง อาการใบเหลืองร่วงนี้อาจจะเกิดทั้งต้น หรือด้านใดด้านหนึ่งของทรงพุ่ม ขึ้นอยู่กับการเกิดโรคนั้นเกิดที่ราก ลำต้น หรือกิ่งก้าน และอาการของโรครุนแรง (ราก หรือโคนต้น มีอาการเน่าเสียมากกว่า 50%) อาจพบใบเหลืองร่วงทั้งต้น และยืนต้นตายในที่สุด โอกาสที่จะฟื้นจากโรคทำได้ค่อนข้างยาก ต้องใช้เวลาในการรักษา และวิธีการรักษาที่ถูกต้อง ซึ่งเป็นเพียงการรักษาให้มีชีวิตรอดอยู่ได้ แต่ก็อยู่ในสภาพที่ทรุดโทรม (หทัยทิพย์, 2556)

อาการเริ่มแรกของโคนเน่าจะสังเกตเห็นผิวเปลือกของลำต้น หรือกิ่งคล้ายมีคราบน้ำเกาะติดเห็นได้อย่างชัดเจนในสภาพที่ต้นทุเรียนแห้ง เมื่อสังเกตให้ดีจะพบรอยแตกเล็ก ๆ เป็นช่องให้น้ำยางสีน้ำตาลแดงไหลออกจากแผลในช่วงเช้าที่อากาศชุ่มชื้น น้ำยางจะแห้งไปในช่วงที่มีแดดแรงจัด และเห็นเป็นคราบน้ำจับบนเปลือกลำต้น อาการจะเห็นได้ชัดเจนในช่วงฤดูแล้ง เนื่องจากต้นทุเรียนแห้ง ทำให้เห็นความแตกต่างของผิวเปลือกของต้นที่เป็นโรค เกษตรกรมักพบอาการของโรคในช่วงปลายฤดูฝน ในขณะที่การเข้าทำลายของเชื้อโรคมักเกิดขึ้นตั้งแต่ช่วงต้นฝน เชื้อโรคจึงเข้าไปเจริญ และพัฒนาอยู่ในต้นพืชได้เป็นเวลานาน ทำให้บางครั้งแผลเน่าภายใต้เปลือกมีขนาดใหญ่ และรักษาให้หายจากโรคได้ยาก เมื่อเปิดเปลือกของลำต้นบริเวณที่มีคราบน้ำยางออกบาง ๆ ด้วยมีด หรือส้อม จะเห็นเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายมีสีน้ำตาลแดง หรือสีน้ำตาลเข้ม เป็นแผลเน่าแพร่ขยายไปตามความกว้าง ความสูงของลำต้น ขนาดของแผลขึ้นกับระยะเวลาที่เชื้อโรคเข้าทำลาย หากถูกทำลายเป็นเวลานานจะมีสีเข้มจนเกือบดำ โดยบริเวณกลางแผลเน่ามักมีสีเข้มกว่าบริเวณขอบแผล ซึ่งมีสีครีม หรือสีน้ำตาลอ่อน แพร่ขยายออกไปยังเนื้อเปลือกปกติที่มีสีขาว หรือเขียวอ่อน การแพร่กระจายลูกกลมของแผลเน่าอาจเป็นไปตามแนวขวาง หรือแนวตั้ง ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค และพันธุ์ทุเรียน ทุเรียนที่มีความต้านทานต่อโรคนี้อย่างน้อย เช่น พันธุ์นก แผลเน่าจะแพร่กระจายเป็นแนวตั้งมากกว่าแนวนอน ทำให้มีผลน้อยต่ออาการทรุดโทรมของต้น ส่วนทุเรียนที่อ่อนแอต่อโรค เช่น พันธุ์หมอนทอง, พันธุ์กระดุม และพันธุ์กบ แผลเน่าจะแพร่กระจายเป็นแนวนอน ทำให้การลำเลียงน้ำ และอาหารผ่านท่อน้ำ ท่ออาหาร ของพืชถูกตัดขาดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา การเน่าของรากใหญ่ที่อยู่บนดิน หรือใต้ดิน ส่วนใหญ่มีลักษณะคล้ายกับอาการเน่าของโคน หรือลำต้น ส่วนอาการเน่าที่เกิดกับรากเล็ก หรือรากฝอยนั้น มักพบในทุเรียนที่ปลูกแบบยกร่อง เช่น แถบสวน จังหวัดนนทบุรี โดยรากฝอย หรือรากเล็ก ๆ ที่ไหลออกมาจากดินข้างร่อง ร่อง ถูกแช่น้ำในร่องเป็นเวลานาน และมีโอกาสที่เชื้อราจะแพร่ระบาดไปทางน้ำได้ เข้าทำลายจนเกิดอาการเน่าเป็นสีดำบนราก เนื้อเยื่อรากเปื่อยยุ่ย เมื่อดึงเบา ๆ จะขาดออกจากกันได้ง่าย (มณีรัตน์, 2561; สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562)

ลักษณะอาการรากเน่า ซึ่งในแหล่งปลูกทุเรียนภาคตะวันออกพบการเข้าทำลายของเชื้อราได้น้อย เนื่องจากส่วนใหญ่เป็นดินร่วนปนทราย มีการระบายน้ำดี แต่ก็สามารถพบได้เมื่อต้นทุเรียนผ่านสภาวะน้ำท่วมขัง หรือฝนตกชุก และเกษตรกรไม่ได้เตรียมการระบายน้ำออกจากแปลงอย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้เชื้อราสาเหตุที่พักตัวอยู่ทั่วไปในดิน มีเวลาที่จะเจริญเข้าทำลายรากพืชได้ ทุเรียนที่รากฝอยเน่า จะแสดงอาการทรุดโทรมที่ละน้อย สังเกตเห็นอาการใบสลดในช่วงกลางวันที่มีแดดแรงจัด ต่อมาใบจะมีลักษณะด้าน ไม่เป็นมันสดใส เป็นจุดเหลืองประ และใบค่อย ๆ ร่วงหล่นจนหมดต้น ปลายยอดจะค่อย ๆ แห้งลงมาจนถึงกิ่งใหญ่ด้านล่าง กระทั่งกิ่งแห้งทั้งต้น อาการดังกล่าวอาจใช้เวลา 1-2 ปี กว่าต้นจะตาย อย่างไรก็ตามอาการทรุดโทรมที่เกิดจากการถูกทำลายนั้น อาจไม่ได้เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp. โดยตรง อาจเกิดจากสภาพน้ำท่วมขัง ดินดาน ดินที่มีหน้าดินตื้น หรือการใช้สารเคมีที่ไม่เหมาะสม ในบริเวณ

โคนต้นทุเรียนอาจมีผลกระทบต่ออาการเจริญของรากทุเรียน ทำให้ต้นทุเรียนแสดงอาการยอดเหลืองร่วง ยอดแห้ง เนื่องจากปลายรากเล็ก ๆ ถูกทำลาย หรือถูกจำกัดไม่ให้เจริญเติบโตหาอาหารไปเลี้ยงลำต้น ทำให้ต้นทรุดโทรม ซึ่งอาจเป็นช่องทางให้เชื้อราเข้าทำลายซ้ำ และต้นตายได้ ในปัจจุบันพบอาการต้นทุเรียนมีใบไหม้แห้งติดคาคัน ซึ่งอาการจะเกิดอย่างรวดเร็วคล้ายอาการหนอนเจาะกิ่งทุเรียนที่ทำให้เกิดอาการใบไหม้เป็นหย่อม ๆ บริเวณลำต้น และเปลือก ไม่มีอาการของแผลเน่าให้เห็น ต้นทุเรียนมักจะตายอย่างรวดเร็ว เมื่อขุดดูรากพบว่ารากผอม และรากแขนงส่วนใหญ่ยังคงเป็นปกติ แต่เมื่อตรวจสอบบริเวณโคนต้นที่อยู่ต่ำกว่าระดับดิน โดยการถากเปลือกจะพบว่ามีกรเน่าเสียหายตัวลูกกลมไปจนรอบต้น และกระจายไปยังโคนรากใหญ่ แสดงว่าโคนต้นใต้ดินนั้นถูกเชื้อราเข้าทำลายมาเป็นเวลานานแล้ว จนกระทั่งถึงจุดวิกฤตที่ไม่สามารถจะทนได้ จึงแสดงอาการใบเหี่ยวแห้งอย่างรวดเร็ว และตายในเวลาต่อมา (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562)

เชื้อรา *Phytophthora* sp. อาจเข้าทำลายใบทุเรียนได้ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น ในฤดูฝนที่มีฝนตกชุกต่อเนื่องเป็นเวลานาน และมีลมพายุพัดพาส่วนของเชื้อราให้แพร่กระจายไปอย่างกว้างขวาง ลักษณะอาการบนใบเริ่มแรกจะเป็นจุดฉ่ำน้ำเล็ก ๆ และขยายใหญ่ขึ้นเป็นแผลสีน้ำตาลคล้ำ ขนาดแผลมีทั้งเล็กและใหญ่ รูปร่างค่อนข้างกลม ส่วนใหญ่เชื้อราเข้าทำลายใบได้ดีในช่วงใบอ่อนจนถึงใบเพสลาด ใบที่เป็นโรคจะร่วงหล่น และมีอาการปลายยอดแห้งในเวลาต่อมา ต้นทุเรียนค่อยๆ ทรุดโทรม และตายในที่สุด การแพร่ระบาดในลักษณะนี้เคยทำความเสียหายกับต้นทุเรียนที่ปลูกในภาคตะวันออกเป็นจำนวนมากนับหมื่นต้น (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562; Suksiri *et al.*, 2018)

#### การป้องกันกำจัด :

การป้องกันกำจัดที่ดี และประหยัดที่สุด คือ การใช้ต้นตอที่ต้านทานต่อโรค แต่การคัดเลือกพันธุ์ต้านทานนั้น เป็นเรื่องที่ค่อนข้างยาก และต้องใช้เวลาพอสมควร ต้นตอด้านทานโรคต้องมีคุณสมบัติเข้าได้กับยอดพันธุ์ที่นำมาเสียบ เพื่อให้มีการเจริญเติบโตอย่างปกติ ในช่วง 10 กว่าปีที่ผ่านมา ได้มีการคัดเลือกหาต้นตอที่ต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* sp. พบว่า เชื้อราไม่สามารถทำให้เกิดอาการรากเน่ากับต้นทุเรียนป่าสองชนิด คือ ทุเรียนพันธุ์นก (*Durio lowianans* Scort.) และทุเรียนพันธุ์ชาเรียน (*Durio mansoni* Bakh.) จากป่าในจังหวัดพังงา, กระบี่ และตรัง ซึ่งดอกสีแดงสด ผลขนาดเล็ก หนามยาวแหลม และเนื้อน้อย (เป็นเพียงเยื่อบาง ๆ หุ้มเมล็ดเท่านั้น) ทรงต้นสูงใหญ่ อายุยืน มีเปลือกหนา แล้วเนื้อเปลือกแน่น จึงได้นำเมล็ดทุเรียนทั้งสองมาปลูกทดสอบความต้านทานในแปลงปลูกโดยใช้เป็นต้นตอทุเรียนพันธุ์การค้า เช่น พันธุ์ชะนี และพันธุ์หมอนทอง พบว่าต้นตอทุเรียนพันธุ์นก สามารถเข้ากันได้กับทุเรียนพันธุ์การค้า แต่การเจริญเติบโตของทุเรียนพันธุ์นก และทุเรียนพันธุ์ชาเรียนช้ากว่าทุเรียนพันธุ์การค้า ทำให้เกิดลักษณะคอคอด แต่การเจริญเติบโต และการออกดอก ติดผลของทุเรียนพันธุ์การค้ายังเป็นปกติ ในบางพื้นที่ โดยเฉพาะที่เป็นดินร่วนปนทราย ทุเรียนที่ใช้ทุเรียนพันธุ์นกเป็นต้นตอแสดงอาการปลายยอดแห้ง เมื่อปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปได้ประมาณ 4-5 ปี โดยเกิดอาการอย่างช้า ๆ และไม่แสดงอาการทรุดโทรมให้เห็นเด่นชัดนัก เมื่อตรวจสอบบริเวณโคนที่อยู่ลึกลงไปในดิน และโคนรากใหญ่ก็พบอาการเน่าโดยเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายเปลี่ยนเป็นสีค่อนข้างแดง บริเวณที่เน่านี้ คือ ส่วนของเมล็ดที่กลายมาเป็นโคนต้นซึ่งฝังอยู่ในดิน ในสภาพที่ชุ่มน้ำส่วนนี้จะเป็นส่วนที่อ่อนแอของทุเรียนป่าชนิดนี้ แม้ว่าเปลือก และเนื้อเยื่อของลำต้นจะต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคก็ตาม ดังนั้นการใช้ต้นต่อทุเรียนพันธุ์ จึงไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร ในขณะที่ยังไม่พบอาการเน่าที่เกิดกับทุเรียนพันธุ์ชาเรียน อาจเนื่องจากบริเวณลำต้นใต้ดินยังมีความต้านทานต่อโรคระดับสูง หรือการนำไปใช้เป็นตัวตอยังมีน้อยกว่าทุเรียนพันธุ์นก จึงยังสำรวจไม่พบความเสียหายจากโรคอย่างใดก็ตาม แนวทางการใช้พันธุ์ต้านทานนี้ก็ยังคงเป็นมาตรการหลักในการป้องกันกำจัดโรค โดยการค้นหาต้นตอชนิดใหม่ ๆ และวิธีการนำต้นตอมาใช้ เช่น การใช้ทุเรียนพันธุ์นกในรูปของกิ่งตอนเป็นตัวตอแทน เพื่อหลีกเลี่ยงจุดอ่อนของส่วนเมล็ดที่กลายเป็นโคนต้น เป็นต้น ชาวสวนทุเรียนมีการใช้ต้นต่อเพื่อป้องกันการเกิดโรคโคนเน่ารากเน่ากันมานานแล้ว โดยเสริมรากทุเรียนพันธุ์ดีด้วยพันธุ์พื้นเมืองเพาะเมล็ด ทำให้มีต้นต่อ 2-3 ต้น เป็นการเพิ่มโอกาสที่ต้นตอบางต้นอาจรอดพ้นจากการเข้าทำลายของเชื้อราโรคได้บาง (ปัญจมา และ สมศิริ, 2545; หน่วยถ่ายทอดเทคโนโลยี ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี, 2551; สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562)

การรักษา และควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า ให้เอาส่วนที่เป็นโรคออกให้หมดจนถึงเนื้อไม้โดยใช้มีด หรือสิ่วที่มีความคม หลังจากนั้นนำปูนแดงทาบนรอยบาดแผล หรือสารป้องกันกำจัดโรคพืชประเภทสารประกอบทองแดง เช่น Copper (II) chloride dihydrate เพื่อป้องกันเชื้อโรคอื่นเข้าทำลายภายหลัง แต่ถ้ามหาโรคลุกลามมาก การถากเปลือกออกนั้น นอกจากยากที่จะถากเอาส่วนที่เป็นโรคได้หมดแล้ว อาจทำให้ต้นทรุดโทรมได้ง่าย เนื่องจากท่อน้ำที่อาหารถูกตัดขาดมากเกินไป ในระยะหลังมีการผลิตสารเคมีประเภทดูดซึมที่มีประสิทธิภาพเฉพาะกับเชื้อราชั้นต่ำ ในกลุ่ม *Phycomycetes* ขึ้นมาหลายชนิด เช่น สารพวก acylalanine ได้แก่ metalaxyl, fosetyl aluminum, benalaxyl, oxadixyl และ ofurace เป็นต้น วิธีการใช้ทำได้โดยถากเปลือกบริเวณที่เป็นโรคออกบ้าง ๆ ให้เห็นขอบของแผลที่ถูกทำลาย โดยใช้สารเคมี metalaxyl ชนิดผง 80% ในอัตรา 80-100 กรัม/น้ำ 1 ลิตร ผสมน้ำทาบริเวณที่ถากออก หลังจากนั้นประมาณ 15 วัน ควรตรวจดูแผลที่ทำไว้ หากยังมีลักษณะฉ่ำน้ำ ควรทาซ้ำอีกจนกว่าแผลจะแห้ง การราดลงดิน หรือฉีดพ่นด้วยสารเคมีในสภาพการเกิดโรคโดยการปลูกเชื้อราสาเหตุนั้น พบว่า ไม่สามารถรักษาโรคที่โคน หรือลำต้นให้หายได้ การทำจึงเป็นวิธีที่ดีที่สุด แต่การรักษาโรคจะได้ผลก็ต่อเมื่อเกษตรกรต้องหมั่นตรวจตราต้นทุเรียนในแปลงปลูกอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝน ซึ่งเชื้อราจะเริ่มระบาดเข้าทำลายต้นทุเรียน เมื่อเห็นอาการของโรคตั้งแต่ระยะเริ่มแรก และรีบดำเนินการรักษาเสียแต่เริ่มแรก จะช่วยให้ประสบความสำเร็จโดยง่าย และไม่สิ้นเปลืองมาก หากปล่อยให้เชื้อโรคลุกลามเข้าทำลายต้นอย่างกว้างขวาง จนผลมีขนาดใหญ่ การรักษาจะทำได้ยาก และสิ้นเปลืองมากขึ้น ต้นชะงักการเจริญเติบโต มีอาการทรุดโทรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้องใช้เวลาพักฟื้นนานกว่าที่จะฟื้นตัว และแข็งแรงจนให้ดอก ผลตามปกติ การราดลงดินด้วยสารเคมี เช่น สาร metalaxyl ซึ่งปัจจุบันมีการผลิตออกขายในรูปแบบเม็ด คือ metalaxyl 5%G (granule) อาจช่วยบำบัดรักษาให้ต้นทุเรียนที่เป็นโรคที่รากใหญ่ รากฝอย หรือปลายรากพื้นเป็นปกติได้ หากการระบาดของโรคไม่รุนแรงนัก การฉีดพ่น หรือราดลงดินด้วยสารเคมีชนิดต่าง ๆ ทุก 6 เดือน หรือ 1 ปี เพื่อป้องกันการเกิดโรคกับต้นทุเรียนปกติไม่ให้เกิดการป้องกันกำจัดที่ชัดเจนนัก นอกจากเป็นการสิ้นเปลืองแล้ว เชื้อราสาเหตุโรคในดินเมื่อได้รับหรือสัมผัสกับสารเคมีบ่อยครั้ง มีโอกาสในการพัฒนาสายพันธุ์ที่ต้านต่อสารเคมีได้ และอาจให้การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน คือ สาร phosphorous acid การใช้สารนี้ทำโดยผสมสารกับน้ำสะอาด ในอัตราส่วน 1:1 (สารเคมี 10 ซีซี น้ำสะอาด 10 ซีซี) ใส่ในกระบอกฉีดยาขนาดความจุประมาณ 50 ซีซี เจาะเปลือกลำต้นสูงจากพื้นดินประมาณ 1-2 ฟุต ด้วยสว่านให้เฉียงลงเล็กน้อย ลึกประมาณ 1-2 นิ้ว ขนาดของรูที่เจาะต้องพอดีกับปลายของกระบอกฉีดยา อัดฉีดน้ำยาเข้าไปในต้นที่เป็นโรคจนหมด ระวังอย่าให้น้ำยาไหลซึมออกมาภายนอก หลังจากนั้นอุดรูที่เจาะด้วยปูนแดง ปริมาณน้ำยาที่ใช้ขึ้นอยู่กับขนาดเส้นรอบวงของลำต้นโดยต้นทุเรียนอายุ 7-8 ปี ใช้่น้ำยาประมาณ 1 กระบอกฉีดยา หลังการฉีดสารประมาณ 1-2 เดือน อาการเน่าของเปลือกจะค่อย ๆ แห้ง โดยสังเกตเห็นบริเวณแผลเน่าเริ่มแตกกระแหง ในกรณีที่ดินเป็นโรครุนแรงมาก ๆ อาจใช้วิธีอัดฉีดสารเคมีเข้าลำต้นร่วมกับการทาแผลเน่าที่ลำต้น หรือโคน จะช่วยให้โรคหายเร็วยิ่งขึ้น (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562)

นอกจากการใช้สารเคมีแล้ว สามารถเลือกใช้จุลินทรีย์ในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่า เนื่องจากปัจจุบันมีการผลิตจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ออกขายเป็นการค้า เช่น เชื้อรา *Trichoderma harzianum*, *Chaetomium globosum*, และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เชื้อรา 2 ชนิดแรกใช้ใส่ดินในแปลงปลูกเพื่อควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. โดยต้องผสมกับปุ๋ยหมัก หรือวัสดุที่เป็นอาหารของเชื้อราปฏิปักษ์ เพื่อให้สามารถเจริญเติบโตเพิ่มปริมาณในดินได้ ส่วนเชื้อแบคทีเรียนั้นใช้ทาแผลเน่าที่โคน และลำต้น แม้การใช้เชื้อจุลินทรีย์จะไม่สามารถรักษาให้ทุเรียนหายจากโรคได้รวดเร็วเหมือนการใช้สารเคมี แต่ได้ประโยชน์ในแง่ของการรักษาสภาพแวดล้อมและสมดุลของธรรมชาติ และลดปริมาณสารเคมีที่อาจปนเปื้อนไปกับผลผลิต (กนกนาฏ, 2540) การเขตกรรมที่แตกต่างกันอาจมีผลต่อการระบาดของโรคและความรุนแรงของโรคการให้ปุ๋ยหรือธาตุอาหารบางชนิด เช่น ปุ๋ยคอก หรือปุ๋ยเคมีที่มีไนโตรเจนสูง อาจมีผลทำให้ต้นทุเรียนเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว แต่มีความอ่อนแอต่อโรคมมากขึ้น ในทางกลับกันต้นทุเรียนที่ไม่มีการให้ปุ๋ย หรือให้ปุ๋ยไม่เพียงพอจะมีการเจริญเติบโตช้า มักไม่ค่อยพบปัญหาโรครากเน่าโคนเน่า อย่างไรก็ตามการทำสวนทุเรียนในปัจจุบันมีการแข่งขันกันทั้งด้านคุณภาพ และปริมาณ ทำให้เกษตรกรต้องใช้ปุ๋ยในรูปแบบต่าง ๆ เพื่อให้ต้นเจริญเติบโตเร็ว และให้ผลผลิตปริมาณมาก ซึ่งอาจเสี่ยงต่อการเกิดโรคได้ง่าย และต้องใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชมากขึ้น เกษตรกรควรตระหนักถึงพิษภัยของสารเคมี และหันมาใช้วิธีการผสมผสานในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแปลงปลูกทุเรียน ได้แก่ การสำรวจ และตรวจนับศัตรูพืชก่อนที่จะตัดสินใจพ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี การเขตกรรม เช่น การตัดแต่งกิ่ง การทำความสะอาดแปลงปลูก การเก็บผลเน่าหรือแผลเน่าของเปลือกที่ร่วงหล่นบนดินออกนอกแปลงแล้วทำลาย และการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคในดิน เป็นต้น (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562; Guest *et al.*, 1994) ทั้งนี้เกษตรกรในปัจจุบันนิยมรักษา และควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า ด้วยการอาศัยหลาย ๆ วิธีร่วมกัน เช่น การใช้พันธุ์ต้านทาน การใช้วิธีเขตกรรม ในการเผาทำลายต้นที่เป็นโรค การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และการใช้สารเคมี เป็นต้น

### 2.3.2 โรคผลเน่า (Fruit rot)

โรคผลเน่าเกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* ชนิดเดียวกันกับเชื้อราที่ทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่า พบการแพร่ระบาดกับพื้นที่ปลูกทุเรียนในหลายแหล่ง โดยเฉพาะในแหล่งที่มีการระบาดของโรครากเน่าโคนเน่า ซึ่งมีโอกาสที่จะเกิดโรคผลเน่าได้เช่นกัน แม้ว่าจะไม่ทำให้ต้นตายโดยตรง แต่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการผลิต และคุณภาพของผลิตผล ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการผลิตเพื่อการส่งออก

เชื้อรา *P. palmivora* สามารถเข้าทำลายผลทุเรียนได้ตั้งแต่ระยะอ่อนจนกระทั่งแก่ แต่เนื่องจากสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับการเข้าทำลายของเชื้อราในช่วงที่ผลใกล้แก่ โดยทุเรียนที่ปลูกทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ผลจะเริ่มแก่ในช่วงเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน ซึ่งเป็นช่วงต้นฤดูฝน มักเกิดลมพายุซึ่งสามารถพัดพาเอาเชื้อที่ติดอยู่กับอนุภาคดินขึ้นไปเกาะติดผลได้ ประกอบกับมีความชื้นที่เหมาะสม เชื้อราจึงสามารถเข้าทำลายผลได้ในขณะที่ติดอยู่บนต้น โดยเฉพาะผลที่อยู่ด้านล่าง ๆ มีโอกาสที่จะเกิดโรคได้มาก เชื้อรามักเข้าทำลายบริเวณก้นผล เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีความชื้นสูงกว่าบริเวณอื่น จากการที่น้ำฝนไหลย่อยลงมาสะสมอยู่นาน ทำให้เชื้อรามีโอกาสที่จะเจริญเข้าทำลายผล ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562)

#### ลักษณะอาการ :

บริเวณปลายผล หรือก้นผลมักพบจุดดำน้ำตาลจาง ๆ ปนเทา และขยายตัวออกเป็นวงกลม หรือค่อนข้างรีไปตามรูปร่างของผล มักพบเกิดกับผลในช่วงประมาณ 1 เดือน ก่อนเก็บเกี่ยว จนกระทั่งเก็บเกี่ยว และยังพบการเน่าเสียภายหลังเก็บเกี่ยวในระหว่างการบ่มให้สุก หรือระหว่างรอการแกะเนื้อเพื่อนำไปแช่แข็งสำหรับส่งไปยังตลาดต่างประเทศ ผลที่เกิดอาการเน่าขณะอยู่บนต้นอาจปริแตก และร่วงหล่นก่อนที่จะแก่จัด ผลทุเรียนพันธุ์การค้าส่วนใหญ่อ่อนแอต่อโรค โดยเฉพาะพันธุ์หมอนทอง ซึ่งมักใช้เวลาหลายวันหลังการเก็บเกี่ยวกว่าผลจะสุกรับประทานได้ ทำให้เชื้อราใช้เวลาในการเจริญเข้าทำลาย และอาจลุกลามเข้าไปยังเนื้อในได้ ทำให้เกิดการเน่าและมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว ในขณะที่หลังการเก็บเกี่ยวพันธุ์ชะนี

มักสุกเร็วกว่า ทำให้โรคยังไม่พัฒนาถึงระยะที่ทำให้เกิดการเน่าเสียรุนแรงเมื่อถึงเวลาที่รับประทานได้แล้ว (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562)

### การป้องกันกำจัด :

1. ทำการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดกับต้นทุเรียนในแปลงปลูก ตั้งแต่ช่วงฤดูฝนตามความเหมาะสมกับสภาพการระบาดของโรค ขึ้นสวนพืชที่เป็นโรคที่ถากออกต้องเก็บออกนอกแปลงปลูก นำไปเผาทำลายเพื่อลดปริมาณเชื้อโรคในปลูกปลูก
2. สรรวจแปลงปลูกอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะในช่วงผลแก่ หากพบอาการผลเป็นจุดเน่าควรตัดผลที่เป็นโรค และเก็บผลเน่าที่ร่วงหล่นไปทำลายนอกแปลงปลูก แล้วพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น metalaxyl 25% WP หรือ fosetyl-aluminium 80% WP ให้ทั่วทรงพุ่ม จำนวน 1-2 ครั้ง ทุก 7-10 วัน และควรหยุดพ่นสารก่อนเก็บเกี่ยวผล อย่างน้อย 15 วัน
3. ในแปลงปลูกที่ผลทุเรียนมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคผลเน่าสูง เนื่องจากมีต้นที่เป็นโรครากเน่าโคนเน่าในแปลงปลูกมาก และมีฝนตกชุกในช่วงใกล้เก็บเกี่ยวผล เชื้อโรคอาจติดอยู่กับผลโดยยังไม่แสดงอาการ สำหรับทุเรียนที่ต้องการส่งออกซึ่งต้องรักษาคุณภาพจนกระทั่งถึงมือผู้บริโภค หรือทุเรียนที่ต้องไปกองรออยู่หน้าโรงงานแช่แข็งเป็นเวลานาน อาจจำเป็นต้องจุ่มผลด้วยสารเคมี เช่น fosetyl-aluminium และผึ่งให้แห้ง ก่อนทำการบรรจุหีบห่อ หรือส่งไปยังจุดหมายปลายทาง
4. ในการเก็บเกี่ยวผลต้องระมัดระวังไม่ให้ผลสัมผัสกับดิน หรือปุ๋ยพื้นดินที่จะวางผลด้วยวัสดุ หรือกระสอบที่สะอาด เพื่อลดโอกาสที่ผลจะสัมผัสกับดินซึ่งมีเชื้อสาเหตุโรค และการขนย้ายควรระมัดระวังบาดแผลที่จะเกิดขึ้นกับผลผลิต
5. ไม่ควรนำเครื่องมือที่ใช้ตัดแต่งต้นที่เป็นโรคไปใช้ร่วมกับต้นปกติ (ปัญจมา และสมศิริ, 2545.; สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562)

## 2.4 พืชสมุนไพรสกุลสะค้าน (*Piper*)

### 2.4.1 สะค้าน (*Piper*)

พืชสกุลสะค้าน (*Piper*) จัดอยู่ในวงศ์ Piperaceae เป็นพืชกลุ่มหนึ่งที่มีความน่าสนใจยิ่ง ซึ่งในประเทศไทยมีรายงานพืชสกุลนี้ 47 แทกซา (46 ชนิด 2 พันธุ์) ลักษณะทั่วไปของพืชสกุลนี้ เป็นไม้เถาเนื้อแข็ง หรือไม่มีเนื้อไม้ เป็นไม้ล้มลุกที่มีลำต้นตั้งตรง หรือทอดนอนไปบนพื้นดิน หรือเป็นไม้พุ่ม มีกลิ่นหอม และมีรากพิเศษ ลักษณะใบเป็นใบเดี่ยวแบบเรียงสลับตรงข้าม หรือเป็นวงรอบ ขอบใบเรียบ เส้นใบแบบรูปฝ่ามือ หรือแบบขนนก ลักษณะช่อดอกออกบริเวณซอกใบ ตามปลายยอดหรือออกตรงข้ามกับใบ มีก้านช่อดอกซึ่งอาจมีหรือไม่มีใบประดับรองรับดอก ส่วนใหญ่ใบประดับไม่มีก้าน หรือมีก้านสั้น ๆ ต้นแยกเพศ ไม่มีกลีบเลี้ยง และกลีบดอก เกสรเพศผู้มี 2 เกสร รังไข่อยู่เหนือวงกลีบ ติดอยู่บนแกนช่อดอก หรือยกตัวขึ้นจากแกนช่อดอกเล็กน้อย ยอดเกสรเพศเมียมี 2-6 แฉก ซึ่งลักษณะทางพฤกษศาสตร์นั้นจะมีความแตกต่างกันในแต่ละชนิด (Swanphakdee *et al.*, 2020) นอกจากนี้มีการกระจายพันธุ์มากในพื้นที่เขตร้อน โดยเฉพาะบริเวณเขตที่มีภูมิอากาศแบบร้อนชื้น (Suwanphakdee and Chantaranothai, 2011) นอกจากนี้มีการนำพืชสกุลสะค้านมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้เป็นสมุนไพร เครื่องเทศ และเป็นผักพื้นบ้าน ทั้งนี้ยังมีการนำพืชในสกุลนี้มาศึกษาทางชีวภาพด้วย ได้แก่ ดีปลี (*P. retrofractum*), พลู่ (*P. betle*), พริกไทย (*P. nigrum*) และข้าพลู่ (*P. sarmentosum*) ซึ่งเป็นหนึ่งในตัวเลือกที่น่าสนใจ และมีรายงานว่าสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านมีสรรพคุณหลายด้าน สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ รวมไปถึงมีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ (Rintu *et al.*, 2015; Mgbeahuruike *et al.*, 2017; Sanubol *et al.*, 2017; Ali *et al.*, 2018)

### 2.4.2 การใช้ประโยชน์ของพืชสกุลสะค้าน

มีรายงานการนำพืชสกุลสะค้านมาใช้ประโยชน์เป็นจำนวนมาก มีทั้งการใช้ในรูปของสมุนไพร ในตำราโบราณ และการใช้ในรูปของสารสกัด (Barh *et al.*, 2013) ซึ่งการใช้ประโยชน์ของสะค้านส่วนใหญ่จะเป็นพืชสกุลสะค้านชนิดที่พบได้ทั่ว ๆ ไป ยกตัวอย่างเช่น

พริกไทยดำ (*P. nigrum* L.) เป็นไม้เถาเนื้อแข็ง ลำต้นที่เจริญเต็มที่มีความสูงประมาณ 4 เมตร ข้อโพงนูนมีรากฝอยตามข้อเถาเพื่อใช้ยึดเกาะ เถายาว 2-4 เมตร มีข้อปล้องเห็นได้ชัด ใบ เป็นใบเดี่ยว ใบรูปไข่ โคนใบใหญ่ ปลายใบแหลม ยาวประมาณ 7-15 เซนติเมตร หากมีแกนยึดเกาะ ลำต้นจะโตเป็นพุ่ม สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนชื้นผลของพริกไทยดำ มีขนาดเล็กมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4 มิลลิเมตร ผลอ่อนจะมีสีเขียวเป็นพวง รูปร่างกลม ผิวเรียบส่วนผลสุกจะมีสีแดง เมื่อแห้งจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ผิวขรุขระ เมื่อนำผลสุกมากำจัดเปลือกออกจะได้เมล็ดสีขาว เมล็ดมีกลิ่นฉุน และมีรสเผ็ด (Chaveerach *et al.*, 2006) พริกไทยมีองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด เช่น alkaloids, flavones,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

flavonoids, steroids, tannins, aponins, phenols, glycosides, terpenes, และ lignans (Orav *et al.*, 2004; Rifai and Asewad, 2012; Gupta *et al.*, 2012; Ahmad *et al.*, 2015; Shetty and Vijayalaxmi, 2017) สารสกัดหยาบของพริกไทยดำ ซึ่งประกอบด้วยพฤษเคมีหลาย ๆ กลุ่ม พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Leishmania donovani* ซึ่งเป็นเชื้อจุลชีพที่ทำให้เกิดโรคไลชมาเนีย (Do Carmo *et al.*, 2012) มีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Candida albicans* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดเชื้อรา (Zou and Chen, 2015) ทั้งนี้สารสกัดจากพริกไทยดำสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *S. aureus*, *E. coli*, *B. megaterium*, *B. sphaericus*, *B. polymyxa* ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ แต่ขึ้นอยู่กับผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย (Zhang and Xu, 2015)

พลู (*P. betle* L.) เป็นไม้เถาเลื้อยเนื้อแข็ง ลำต้นเกลี้ยงเป็นปล้อง และมีข้อ ขนาดลำต้น 2.5-5 ซม. ลำต้นมีลักษณะอวบน้ำ และมีร่องเล็ก ๆ โดยลำต้นส่วนปลายจะมีสีเขียว ส่วนลำต้นส่วนต้นจะมีสีเขียวอมเทา มีรากยึดเกาะที่ออกตามข้อของลำต้น ใบเป็นใบเลี้ยงเดี่ยว ออกสลับกัน รูปหัวใจ หรือกลมแกมรูปไข่ กว้าง 8-12 ซม. ยาว 12-16 ซม. ปลายใบแหลมหรือเรียวแหลม เนื้อใบค่อนข้างเป็นมันสด มีกลิ่นหอมเฉพาะรสเผ็ดร้อน เส้นใบนูนเด่นทางด้านล่าง ก้านใบยาว ดอกพลู มีสีขาว ออกรวมกันเป็นช่อ มีช่อดอกแบ่งเพศกัน อยู่คนละต้น ประกอบด้วยช่อดอกตัวเมีย และดอกตัวผู้ มีใบประดับดอกขนาดเล็กรูปร่างกลม ช่อดอกตัวผู้ ยาว 2-12 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1.5-3 ซม. ผลของพลูมีลักษณะค่อนข้างนุ่ม ด้านในประกอบด้วย 1 เมล็ด โดยเมล็ดมีลักษณะกลม ขนาดยาวประมาณ 2.25-2.6 มม. กว้างประมาณ 2 มม. (Chaveerach *et al.*, 2006) ในใบพลูมีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งเรียกว่าน้ำมันพลู ในน้ำมันประกอบด้วยสาร eugenol และ chavicol สารสกัดจากใบพลูมีฤทธิ์ต้านเชื้อราได้หลายชนิด เช่น *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. capsici*, *Penicillium expensum* และ *Phytophthora pulmivora* (ปิยะวดี และ สุมนา, 2550; Basak and Guha, 2015; Suprpta *et al.*, 2008; Patra *et al.*, 2016) นอกจากนี้สารสกัดจากส่วนดอก และใบพลูที่สกัดด้วยเมทานอล มีสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น phenolics, flavonoids และ terpenoid (Chandra *et al.*, 2015) ทั้งนี้สารกลุ่ม monoterpenes alcohols esters และ phenols ซึ่งสารแต่ละกลุ่มที่มาอยู่รวมกันทำให้สารสกัดจากใบพลูมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรีย (Fazal *et al.*, 2014)

ตีปาลี (*P. retrofractum* Vahl.) เป็นไม้เถา เลื้อยพันไม้อื่น ลำต้นแตกกิ่งมาก รูปทรงกระบอก อวบน้ำ เกลี้ยง มีข้อปล้องออกเป็นช่วง ๆ รากจะออกตามข้อ ทั้งต้นมีกลิ่น ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ กว้าง 3-6 เซนติเมตร ยาว 9-13 เซนติเมตร ใบรูปไข่ โคนรูปหัวใจ ใบถัดขึ้นมาถึงปลายยอดรูปไข่แกมรูปขอบขนานถึง รูปขอบขนานโคนเบี้ยว มน รูปหัวใจ หรือรูปรี ดอกออกเป็นช่อ ตั้งขึ้นหรือกางออก ก้านดอกจะยาว 0.7-2 เซนติเมตร ใบประดับรูปวงรีหรือรูปไข่มีขนาด 1.5-2 มิลลิเมตร มีช่อดอกสมบูรณ์เพศ ช่อดอกเพศผู้ยาว 2.5-8.5 เซนติเมตร เกสรสั้นมาก ช่อดอกเพศเมียยาว 1.7-3 เซนติเมตร ยอดเกสรเพศเมียยาว 2-3 เซนติเมตร ผลเป็นช่ออวบน้ำ รูปทรงกระบอก ปลายมน ผลมีเนื้อหลายเมล็ด ผลอ่อนสีเขียวเข้ม ผลแก่จัดสีส้มแดง เมื่อสุกนิ่ม สีแดงเข้ม เมล็ดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-2 มิลลิเมตร (Chaveerach *et al.*, 2006) ตีปาลีมีองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด เช่น ดอกตีปาลีจะพบสารกลุ่ม alkaloids และสารกลุ่ม phenolic amides และผลตีปาลีจะพบสารกลุ่ม amide (Kim *et al.*, 2011; Muharini *et al.*, 2015) นอกจากนี้สารสกัดจากผลตีปาลีมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. cladosporioides* โดยใช้ hexane, ethyl acetate และ methanol เป็นตัวทำละลาย และทำการแยกสารสกัดหยาบ ด้วยโครมาโทกราฟีแผ่นบาง นอกจากนี้สาร piperine มีฤทธิ์ต้านต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* (วันสนันท และพิทยา, 2548) และยังมีฤทธิ์ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยสารสกัดเอทานอลที่ได้จากผลตีปาลี เช่น เชื้อ *Acinetobacter baumannii* (Phatthalung *et al.*, 2012)

#### 2.4.3 ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของพืชสกุลสะค้าน

กลไกที่เป็นไปได้ของการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารทุติยภูมิของพืช (plant secondary metabolite) พบว่ามี 3 แบบดังนี้

1. การยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ เชื้อราจะมีผนังเซลล์ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่นอกสุด ป้องกันเซลล์จาก Osmotic pressure สารต้านจุลินทรีย์ยับยั้งการสร้าง peptidoglycan ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์เชื้อรา ทำให้ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์เป็นส่วนประกอบที่อยู่ถัดจากผนังเซลล์ ควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร สารต้านจุลินทรีย์จะสัมผัสกับเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้การผ่านของสารผิดปกติ เกิดการสูญเสียโมเลกุลขนาดใหญ่ และออสโมนที่สำคัญ องค์ประกอบภายในเซลล์รั่วไหล การเจริญของเซลล์หยุดชะงัก และทำให้เซลล์ตายในที่สุด (Radulovic *et al.*, 2013) สารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ในพืชสกุลสะค้าน เช่น alkaloid (Row and Ho, 2009; Ruiz *et al.*, 2011; Ugunman *et al.*, 2012; Singburadom, 2015; Ounchokdee *et al.*, 2016; Mgbeahuruike *et al.*, 2017; Janthong *et al.*, 2021), terpenoids (Mgbeahuruike *et al.*, 2017), tannin (Ugunman *et al.*, 2012; Singburadom

2015; Ounchokdee *et al.*, 2016; Mgbeahuruike *et al.*, 2017; Janthong *et al.*, 2021) และ chalcones (Ruiz *et al.*, 2011; Castro *et al.*, 2015)

2. การยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ที่ไรโบโซม สารต้านจุลินทรีย์สามารถยึดติดกับหน่วยย่อยของไรโบโซม ส่งผลให้การสังเคราะห์โปรตีนสายใหม่หยุดชะงัก ขะลอกการเจริญ หรือหยุดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Radulovic *et al.*, 2013) สารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในพืชสกุลสะค้าน เช่น alkaloid (Row and Ho, 2009; Ruiz *et al.*, 2011; Ugusman *et al.*, 2012; Singburadom, 2015; Ounchokdee *et al.*, 2016; Mgbeahuruike *et al.*, 2017; Janthong *et al.*, 2021), phenols (Ugusman *et al.*, 2012; Ounchokdee *et al.*, 2016) และ essential oils (Row and Ho, 2009; Ounchokdee *et al.*, 2016)

3. การยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก สารออกฤทธิ์จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ หรือเข้าจับกับกรดนิวคลีอิกโดยตรง นอกจากนี้สารต้านจุลินทรีย์อาจมีโครงสร้างโมเลกุลคล้ายกับสารที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึม จึงเข้าแย่งจับกับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ซึ่งการยับยั้งนี้สามารถกลับสู่สภาพเดิมได้ (Radulovic *et al.*, 2013) สารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกในพืชสกุลสะค้าน เช่น alkaloid (Row and Ho, 2009; Ruiz *et al.*, 2011; Ugusman *et al.*, 2012; Singburadom, 2015; Ounchokdee *et al.*, 2016; Mgbeahuruike *et al.*, 2017; Janthong *et al.*, 2021), flavonoids (Ruiz *et al.*, 2011; Ugusman *et al.*, 2012; Castro *et al.*, 2015; Mgbeahuruike *et al.*, 2017) และ essential oils (Row and Ho, 2009; Ounchokdee *et al.*, 2016)

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ยุพิน (2558) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสะค้านและสะค้านแดง จากการทดลองพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากสะค้านไม่แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อราส่วนจากสะค้านแดงสามารถแสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อราได้ทุกชนิด โดยมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ได้ดีที่สุด มีค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC) เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร น้ำมันหอมระเหยจากสะค้านและสะค้านแดงแสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี โดยน้ำมันหอมระเหยจากสะค้านมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *Bacillus subtilis* ได้ดีที่สุดมีค่า MBC เท่ากับ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการวิเคราะห์หาสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหย พบว่า มีสารที่เป็นองค์ประกอบหลักทางเคมี คือ alpha-pinene, alpha-cubebene, eugenol, caryophyllene, สารสกัดหยาบจากสะค้านและสะค้านแดงที่สกัดด้วย dichloromethane และ ethyl acetate สามารถแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยสารสกัดหยาบจากใบของสะค้านที่สกัดด้วย dichloromethane สามารถแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. typhimurium* ได้ดีที่สุดมีค่า MBC เท่ากับ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากลำต้นของสะค้านและสะค้านแดงที่สกัดด้วย ethyl acetate สามารถแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. typhimurium* ได้ดีที่สุดมีค่า MBC เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เกตุศุคนธ์ และนิตยา (2561) ได้ศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบพลูด้วยคลื่นไมโครเวฟ จากการทดลองพบว่า การสกัดสมุนไพรโดยใช้เทคนิค (microwave - assisted extraction, MAE) นี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ ใช้ขั้นตอนและเวลาในการสกัดน้อย ซึ่งในใบพลูมีน้ำมันหอมระเหยที่ประกอบด้วยสารหลายชนิด เช่น eugenol และ chavicol ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ช่วยกระตุ้นการไหลเวียนของโลหิต และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคหลายชนิด และยังพบว่าเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารประกอบ ฟีนอล (phenolic compound) polyphenols และ alkaloid ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำงานของ tyrosinase

Silva and Bastos (2007) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยสายพันธุ์ *Piper* บนเชื้อรา *Crinipellis pernicioso*, *P. palmivora* และ *Phytophthora capsici* จากการทดสอบน้ำมันหอมระเหย 10 ชนิดที่สกัดจาก *Piper* พบว่า ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการออกสปอร์ของเชื้อรา *Crinipellis pernicioso* และในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของ *P. palmivora* และ *P. capsici* โดยน้ำมันหอมระเหยจาก *P. callosum*, *P. marginatum* และ *P. enckea* มีประสิทธิภาพมากที่สุด ทำให้เกิดการยับยั้งได้ 100% ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 0.75  $\mu\text{L/mL}$  และ 1.0  $\mu\text{L/mL}$  สำหรับการงอกของสปอร์ น้ำมันหอมระเหยของ *P. dilatatum* นั้นดีที่สุดที่ความเข้มข้น 0.4  $\mu\text{L/mL}$  ตามด้วยน้ำมันหอมระเหยของ *P. callosum* และ *P. marginatum* ที่ความเข้มข้น 0.5  $\mu\text{L/mL}$

Suprpta *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาสารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมโรคฝักดำโกโก้ที่เกิดจาก *P. palmivora* จากการทดสอบสารสกัดจากพืช 45 ชนิด พบว่า พืชสายพันธุ์ *Eugenia aromatica* และ *Piper betle* ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.05% และ 0.1% (w/v) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* ในขณะที่ พืชสายพันธุ์ *Pometia pinnata*, *Alpinia galanga* และ *sphaeranthus indicus* มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* ที่ความเข้มข้น 0.3% (w/v)

Row and Ho (2009) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ฆ่าเชื้อลูกน้ำยุง คุณสมบัติอนุมูลอิสระ และยับยั้งไทโรซิเนสของพลู จากการทดลองพบว่า น้ำมันหอมระเหยของพลู ถือได้ว่าเป็นสารต้านจุลชีพตามธรรมชาติฆ่าลูกน้ำยุงสารต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งไทโรซิเนส ซึ่งในน้ำมันหอมระเหยมีส่วนประกอบหลักคือ eugenol, chavibetol acetate, 4-allylphenyl acetate และ 4-allylphenol และสารประกอบอีกหนึ่งกลุ่ม คือ phenolic compound

Ruiz *et al.* (2011) ได้ทำการศึกษารายการแยกตัวตามกิจกรรมของสารประกอบ โรคโลหมาเนีย (antileishmanial) จาก *Piper hispidum* จากการทดสอบพบว่าสารประกอบที่แยกได้ทั้งหมดได้รับการทดสอบสำหรับฤทธิ์ต้านโลหมาเนียที่ด้านแอกเซียนิกอมาสติโกตของ *Leishmania amazonensis* ซึ่งสารประกอบที่ 2 เป็นส่วนที่แอกทีฟที่สุดของ *P. hispidum* ที่มี  $IC_{50}$  of 0.8  $\mu M$  ตามด้วยสารประกอบที่ 3 ที่มี  $IC_{50}$  of 8  $\mu M$  สารประกอบทั้งสองเป็นพืชเล็กน้อยต่อมาโครฟาจในช่องท้อง ( $IC_{50}$  = 1.6 และ 18.2  $\mu M$  ตามลำดับ) สารประกอบที่ 1 และ 4 ไม่มีฤทธิ์ต้าน *L. amazonensis* ( $IC_{50}$  > 40  $\mu M$ ) และไม่เป็นพืชต่อมาโครฟาจในช่องท้อง ( $IC_{50}$  > 30  $\mu M$ )

Pineda *et al.* (2012) ได้ทำการศึกษารายการประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านเชื้อราของ *Piper auritum* KUNTH และ *Piper holtonii* C. DC ต่อต้านเชื้อราที่ทำให้เกิดโรค จากการทดลองการยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา 3 ชนิด คือ *Colletotrichum acutatum*, *C. gloeosporioides*, และ *Botryodiplodia theobromae* พบว่า สารสกัด hexane (HE) น้ำมันหอมระเหย essential oil (EO) ทั้ง 2 ชนิดมีการควบคุมที่ดีเมื่อเทียบกับเชื้อโรคทั้ง 3 ชนิด ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ *P. holtonii* ที่ออกฤทธิ์มากที่สุด การเจริญของเส้นใยของ *C. acutatum*, *C. gloeosporioides* และ *B. theobromae* ถูกยับยั้งอย่างมีนัยสำคัญที่ 400  $\mu g/mL^{-1}$

Queiroz *et al.* (2014) ได้ทำการศึกษาทางด้านจุลชีพและฤทธิ์ต้านการอักเสบของสาร flavonoids PMT1 และ PMT2 ที่แยกได้จาก *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae) ในหนู จากการทดลองผลของยาต้านจุลชีพโดยใช้การทดลองแบบดั้งเดิม คือ การปิดเบี้ยวที่เกิดจากกรดอะซิติก การทดสอบฟอร์มาลิน และการทดสอบแบบ hot plate พบว่า PMT1 และ PMT2 (0.1, 1, 30 และ 100  $\mu mol/kg$ , i.p.) ลดการปิดตัวด้วย  $ID_{50}$  0.58 และ 0.44  $\mu mol/kg$ , i.p. ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Martín-Rodríguez *et al.* (2015) ได้ทำการศึกษาสาร flavonoids จาก *Piper delinatum* ปรับพีโนโทป์ที่ควบคุมโดยการติดต่อสื่อสารระหว่างเซลล์ใน *Vibrio harveyi* จากการทดลองพบว่า สารฟลาโวนอยด์ทั้ง 9 ชนิด รวมทั้งชนิดใหม่ 4 ชนิดที่แยกได้จากใบของ *Piper delinatum* สารประกอบ 2 ชนิด จากชุดข้อมูล 3 และ 7 มีฤทธิ์การยับยั้งการติดต่อสื่อสารระหว่างเซลล์ (QS) ที่มีศักยภาพใน *V. harveyi* โดยไม่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสูงถึง 500  $\mu\text{M}$  นอกจากนี้ สารฟลาโวนอยด์ทั้ง 2 ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มใน *V. harveyi* เป็นอย่างมาก

Costa *et al.* (2016) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของ *Piper hispidum* กับ *Candida albicans* และ *Staphylococcus aureus* จากการทดลองประเมินการต่อต้านไบโอฟิล์ม ผลของสารสกัดพบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านยีสต์ *S. aureus* และ *B. subtilis* ที่มีค่า MIC ระหว่าง 15.6 ถึง 62.5 มก./มล. ผลเสริมฤทธิ์กันของสารสกัดที่เกี่ยวข้องกับ fluconazole และ nystatin ถูกสังเกตพบในเชื้อ *C. albicans* มีดัชนีความเข้มข้นการยับยั้งเศษส่วนเท่ากับ 0.37 และ 0.24 ตามลำดับ สารสกัดยังมีผลต่อเซลล์ชีวฟิล์ม *C. albicans* และ *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 62.5 และ 200 มก./มล. ตามลำดับ

Janthong *et al.* (2021) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพทางชีวภาพของสารสกัดสะค้านในการจัดการโรคแอนแทรกซ์ของพริก จากการคัดเลือกสารสกัดหายาจากพืชสกุลสะค้านจำนวน 26 ตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/ml ด้วยวิธี paper disc diffusion พบว่าพืชสกุลสะค้านสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* และ *C. gloeosporioides* ซึ่งในสารสกัดพบสารออกฤทธิ์ที่ได้จากพืช *Piper betle*, *Piper retrofractum*, และ *Piper griffithii* ประกอบด้วยสาร alkaloids, tannins, quinones, coumarins, phenolic compounds และ phytoalexin

## บทที่ 3

# วิธีการดำเนินการวิจัย

### 3.1 ศึกษาลักษณะอาการและการแยกเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคทุเรียน

#### 3.1.1 ศึกษาลักษณะอาการโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

ทำการสำรวจ และเก็บตัวอย่างทุเรียนที่แสดงอาการของโรคผลเน่า ที่เกิดจากเชื้อราในพื้นที่จังหวัดชุมพร พร้อมทั้งถ่ายภาพอาการของโรค จากนั้นนำตัวอย่างโรค มาทำการศึกษา และแยกเชื้อราสาเหตุของโรคในห้องปฏิบัติการ

##### การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกรายละเอียดตัวอย่างพืชที่พบ
2. พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS)
3. ถ่ายภาพ

#### 3.1.2 การแยกเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

โดยใช้วิธี Tissue transplanting technique โดยทำตามกรรมวิธีของ Agrios (2005) ด้วยการตัดชิ้นส่วนพืชบริเวณแผลที่เป็นโรค และไม่เป็นโรค ให้มีขนาด  $0.5 \times 0.5$  cm ฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวโดยแช่ sodium hypochlorite (10% Clorox) (Clorox Regular Bleach, USA) ประมาณ 3-5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 3-5 นาที ซับด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อให้แห้ง และนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NARH-M1 V8 selective medium โดยดัดแปลงวิธีของ Jeffers and Martin (1986); Ferguson and Jeffers (1999) และ Sarker *et al.* (2020) เตรียมโดยแสดงตาม (Table 3.1) และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Carrot Agar (CA) ภายในตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow clean bench) (Thermo Scientific-1300 Series A2) เมื่อสังเกตเห็นเส้นใยของเชื้อราที่เจริญออกมา ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดบริเวณปลายเส้นใยที่เจริญออกมา แล้ววางบนอาหาร V8 agar และบ่มที่อุณหภูมิห้อง

ทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ Single spore ตามกรรมวิธีของ Ho and Ko (1997) ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm ตัดชิ้นส่วนของเชื้อที่สร้างสปอร์ ใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 500  $\mu$ m จากนั้นนำไปเขย่าด้วย Vortex mixer และเลี้ยงในอาหาร Water Agar (WA) (Biomark, China) เป็นเวลา 12–24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยตัดชิ้นวุ้นที่มีสปอร์เพียงสปอร์เดียว เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และนำไปเลี้ยงในอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) (Difco™, USA) เป็นเวลา 5–7 วัน แล้วเก็บส่วนหนึ่งไว้ใน PDA slant สำหรับใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

**Table 3.1** NARH-M1 V8 selective medium for *Phytophthora* species.

Ingredient	Amount per	A.I. Concentration
	1.0 Liter	(ppm)
<b><u>Basal Medium</u></b>		
*Clarified V8 Concentrate	200 ml	
Distilled Water	800 ml	
Bacto Agar (Difco, USA)	15 g	
<b><u>Amendments</u></b>		
Nystatin (Phyto technology Laboratories©, India)		12.5
Ampicillin (Goldbio©, USA)		250
Rifamycin (Goldbio©, USA)		10
Hymexazol (TCI (shanghai) Development Co., LTD., China)		12.5

\*Clarified V8 Concentrate = Buffered V8 Juice [1.0 g CaCO<sub>3</sub>/100 ml V8 Juice] clarified by:

- Centrifugation [10000 RPM for 20 min] & filtration [2 layers of Whatman No. 1 with vacuum], or
- spin @ 7000 rpm for 10 min then filtration is not necessary then, freeze at -20°C in 50- ml aliquots

[e.g., in disposable 50- ml centrifuge tubes]

**Sources:** Jeffers and Martin (1986); Ferguson and Jeffers (1999) and Sarker *et al.* (2020)

### 3.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครุเรียน

ทำการเลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 cm และใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อวางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบนอาหารบริเวณกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 agar และ CA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นใช้เข็มเขี่ยเส้นใยของเชื้อรา แล้ว หยดน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อบนแผ่นสไลด์ และศึกษาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Optika Italy รุ่น B-383) โดยทำตามกรรมวิธีของ Gallegly and Hong (2008); Suksiri *et al.* (2018)

#### การบันทึกข้อมูล

1. ลักษณะและสีของโคโลนี
2. ลักษณะเส้นใย ลักษณะสปอร์ และขนาดสปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

### 3.3 ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัด *metalaxyl* ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครุเรียน

ทั้งนี้ก่อนนำเชื้อรา *P. palmivora* ทั้ง 4 ไอโซเลท ทำการทดลองครั้งต่อไป ได้ทำการประเมินหาการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา *metalaxyl* ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 1, 10 และ 100 ppm โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. ตัดบริเวณของโคโลนีของเชื้อราแต่ละไอโซเลท และนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบการเจริญของโคโลนีเชื้อรากับชุดควบคุม คือ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ได้ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ทำการทดลองความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ

#### การบันทึกข้อมูล

1. วัดการเจริญของเชื้อรา โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา
2. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย เพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเชื้อรา} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบ}}{\text{ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราชุดควบคุม}} \times 100$$

### 3.4 การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

#### 3.4.1 สกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction)

นำเชื้อรา *P. palmivora* ทั้ง 4 ไอโซเลท ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25-27 °C) เป็นเวลา 7 วัน มาทำการสกัดดีเอ็นเอ โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอ DNeasy® Plant Mini Kit ปฏิบัติตามขั้นตอนของบริษัทผู้ผลิต โดยเขียนเส้นใยใส่ลงในหลอด Eppendorf ขนาด 1.5 ml เติม lysis buffer ปริมาณ 500 µl บดให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที ทำการหมุนเหวี่ยงที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C ใส่น้ำใส 300 µl ใส่ในหลอด fresh tube เติม ethanol ปริมาณ 750 µl เพื่อกระตุ้นการตกตะกอน DNA หลังจากผสมแล้วทำการหมุนเหวี่ยงที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เทส่วนที่ใสทิ้ง แล้วล้างตะกอนด้วย 70% ethanol ทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นละลายตะกอน DNA ด้วย TE (10 mM Tris-HCL, pH 8.0, 1 mM EDTA) ปริมาณ 50 µl และเก็บไว้ที่ -20 °C

#### 3.4.2 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละไอโซเลท มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยวิธีการ Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA ของเชื้อรา *P. palmivora* จำนวน 4 ไอโซเลท ด้วยไพรเมอร์ 2 ชนิด คือ ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') และ ITS6 5'-GAAGGTGAAGTCGTAACAAGG-3' โดยมีปริมาตร PCR ทั้งหมด 50 µl ประกอบด้วย DNA 1 µl โดยมีไพรเมอร์ forward และ reverse primer และผสมด้วยเอนไซม์ Taq Green Master Mix จากนั้นนำเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม PCR โดยใช้อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยอุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 1 นาที, อุณหภูมิ 52 °C เป็นเวลา 1 นาที, อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 2 นาที และ อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 10 นาที จำนวน 35 รอบ และเก็บไว้ที่ 10 °C

#### 3.4.3 การตรวจสอบผลผลิต PCR

ผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยวิธี Agarose Gel Electrophoresis ทำการผลผลิต PCR ด้วย loading dye และ stain ในปริมาตร 4:1 และ 1 µl ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันจากนั้นหยอดลงใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 1% ให้ผลผลิต PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) นำผลผลิต PCR ที่ได้มาตรวจสอบโดยใช้ agarose gel ความเข้มข้น 1.5% ผสมสีย้อมด้วย GelRed™ (Biotium, Hayward, CA, USA)

### 3.4.4 การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์

ส่งผลผลิต PCR ไปยังบริษัท ward medic เพื่อตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยใช้เครื่อง DNA sequencer และทำการวิเคราะห์ลำดับเบสที่ได้ด้วยโปรแกรม Bioedit หลังจากจัดลำดับ นิวคลีโอไทด์ แล้ว จากนั้นนำไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล National Center for Biotechnology Information (NCBI) หรือ GenBank โดย Basic Local Alignment Search Tools (BLAST)

## 3.5 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity test)

### 3.5.1 การเตรียมต้นกล้าทุเรียน

ต้นกล้าทุเรียนพันธุ์หมอนทองอายุ 6 เดือน จำนวน 16 ต้น ซึ่งแต่ละต้นไม่มีบาดแผล และไม่มี การเข้าทำลายของโรค เพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

### 3.5.2 การเตรียมเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

เลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหาร V8 agar เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นใช้น้ำ deionize ปริมาณ 20 ml เทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปวางในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นให้สร้าง sporangium จากนั้นเตรียม sporangium suspension ให้ได้ความเข้มข้น  $1 \times 10^6$  sporangium/ml และนับจำนวน sporangium โดยใช้ hemocytometer ในการนับ ซึ่งดัดแปลง วิธีการของ Soyong (2010) สำหรับใช้ในการทดสอบการเกิดโรค

### 3.5.3 การทดสอบการก่อโรคบนต้นกล้าทุเรียน

นำต้นกล้าทุเรียนที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3.1 ปลุกเชื้อด้วย sporangium suspension ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^6$  sporangium/ml ที่เตรียมจากข้อ 3.3.2 ปลุกเชื้อลงในกระถางปลูกต้นกล้าทุเรียน ปริมาณ 20 ml จากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุมต้นกล้าทุเรียน วางเลี้ยงไว้ในตู้หมุ่หมุ่ห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น เปิดปากถุงออก และเลี้ยงไว้ในตู้หมุ่หมุ่ห้อง เป็นเวลา 45 วัน โดยดัดแปลงวิธีการของ Soyong (2010)

#### การบันทึกข้อมูล

1. วันที่เริ่มแสดงอาการของโรค
2. จำนวนต้นที่เกิดโรค
3. ประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Disease incidence: DI)

โดยใช้สูตร

$$\frac{\text{จำนวนต้นที่เกิดโรค}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$$

4. ประเมินระดับความรุนแรงของโรค (Disease severity index: DSI) มี 5 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 = ไม่แสดงอาการของโรค

ระดับ 1 = แสดงอาการของโรค 1-25%

ระดับ 2 = แสดงอาการของโรค >25-50%

ระดับ 3 = แสดงอาการของโรค >50-75%

ระดับ 4 = แสดงอาการของโรค >75-100%

โดยใช้สูตร

$$\left[ \frac{\text{จำนวนต้นในแต่ละระดับความรุนแรง} \times \text{ระดับความรุนแรง}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับความรุนแรงสูงสุด}} \right] \times 100$$

#### 3.5.4 การเตรียมผลทุเรียน

นำผลทุเรียนพันธุ์หมอนทอง จำนวน 16 ผล ที่ไม่มีบาดแผล และไม่มีการเข้าทำลายของโรคนำมาล้างด้วย 10% Clorox เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 2-3 นาที และนำมาผึ่งให้แห้ง เพื่อนำไปทดสอบในขั้นต่อไป

#### 3.5.5 การเตรียมเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

เลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora*. บนอาหาร V8 agar เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 cm ที่ฆ่าเชื้อแล้วตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ จะได้ชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราเจริญอยู่สำหรับใช้ในการทดสอบการเกิดโรค

#### 3.5.6 การทดสอบการก่อโรคบนผล

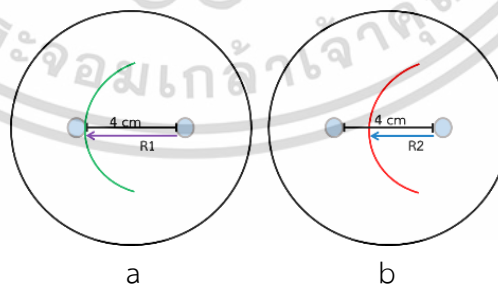
นำผลทุเรียนที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3.4 ทำการตัดปลายหนามให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. และนำชิ้นวุ้นที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3.5 โดยวางชิ้นวุ้นบนบาดแผล จากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุมผลทุเรียนวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเปิดปากถุงออก และวางผลไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน โดยดัดแปลงวิธีการของ Piasai (2021)

### การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกขนาดของบาดแผลหลังการปลูกเชื้อ
2. วันที่เริ่มแสดงอาการของโรค

### 3.6 คัดเลือกสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อราทุกไอโซเลทที่แยกได้มาทดสอบฤทธิ์ของพืชสกุลสะค้านจำนวน 36 ตัวอย่าง ต่อการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* โดยวิธี paper disc diffusion บนอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 agar โดยทำตามกรรมวิธีของ Birhanu *et al.* (2014) และ Janthong *et al.* (2021) ทำการเตรียมกระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ หยอดสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านแต่ละตัวอย่างที่ความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{l/ml}$  และชุดควบคุมที่หยดด้วยตัวทำละลาย ปริมาณ 20  $\mu\text{l}$  ที่ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นใช้ cork borer ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm เจาะเส้นใยที่บริเวณปลายโคโลนี และใช้เข็มเย็บที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ย้ายชิ้นวุ้นวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 agar ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 cm โดยคว่ำเอาด้านที่มีเส้นใยของเชื้อราให้สัมผัสกับผิวหน้าอาหาร และบ่มไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำกระดาษกรองที่มีสารสกัด วางอีกด้านให้ห่างจากชิ้นวุ้นระยะ 4 cm แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าชุดควบคุมเจริญถึงขอบกระดาษกรอง วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ โดยวัดเส้นรัศมีของโคโลนีเชื้อรา (Figure 3.1) จากนั้นนำไปตรวจสอบลักษณะเส้นใยของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100 เท่า



**Figure 3.1** Radius measurement of the fungal mycelium after treated with *Piper* spp. crude extracts by paper disc diffusion method, control plate (a), and test plate (b).

### บันทึกผลการทดลอง

- วัดเส้นรัศมีของโคโลนีเชื้อรา เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย เพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

$$\text{mycelial inhibition (\%)} = \frac{R1-R2}{R1} \times 100$$

R1 = ค่าเฉลี่ยของเส้นรัศมีของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อของชุดควบคุม

R2 = ค่าเฉลี่ยของเส้นรัศมีของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อของชุดทดสอบ

ทั้งนี้พืชสกุลสะค้านจำนวน 36 ตัวอย่าง (Table 3.2) ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจาก รองศาสตราจารย์ ดร. เฉลิมพล สุวรรณภักดี ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

**Table 3.2** Crude extracts from stems and leaves of 6 species with 3 solvents.

No.	code	Species name	organ	solvent	code for test
1	P8	<i>P. kongkandanum</i> (พญาอาจารย์ก่อง)		Hexane	P8.1
			stem	ETOAC	P8.2
				Ethanol	P8.3
			Leaves	Hexane	P8.4
				ETOAC	P8.5
				Ethanol	P8.6
2	P20	<i>P. majusculum</i> (ต้อ)		Hexane	P20.1
			stem	ETOAC	P20.2
				Ethanol	P20.3
			Leaves	Hexane	P20.4
				ETOAC	P20.5
				Ethanol	P20.6
3	P38	<i>P. Sylvaticum</i> (สะค้านดง)		Hexane	P38.1
			stem	ETOAC	P38.2
				Ethanol	P38.3
			Leaves	Hexane	P38.4
				ETOAC	P38.5
				Ethanol	P38.6
4	P49	<i>P. Wallichii</i> (จะค้ำน)		Hexane	P49.1
			stem	ETOAC	P49.2
				Ethanol	P49.3
			Leaves	Hexane	P49.4
				ETOAC	P49.5
				Ethanol	P49.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

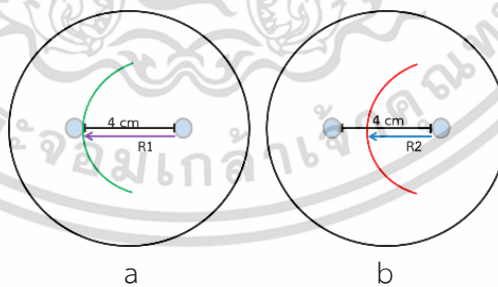
Table 3.2 Continues.

No.	code	species	organ	solvent	code for test
5	P56	<i>P. Retrofractum</i> (ตีป्ली)		Hexane	P56.1
			stem	ETOAC	P56.2
				Ethanol	P56.3
				Hexane	P56.4
			Leaves	ETOAC	P56.5
				Ethanol	P56.6
6	P173	<i>P. Griffithii</i> (พริกไทยก้านยาว)		Hexane	P173.1
			stem	ETOAC	P173.2
				Ethanol	P173.3
				Hexane	P173.4
			Leaves	ETOAC	P173.5
				Ethanol	P173.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.7 ทดสอบสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

โดยคัดเลือกความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์จากพืชสกุลสะค้านด้วยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใย ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองข้อ 3.5 โดยนำเชื้อราทุกไอโซเลทที่แยกได้มาทดสอบฤทธิ์ของพืชสกุลสะค้านจำนวน 9 ตัวอย่าง ต่อการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* โดยวิธี paper disc diffusion บนอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 agar โดยทำตามกรรมวิธีของ Birhanu *et al.* (2014) และ Janthong *et al.* (2021) ทำการเตรียมกระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ หยดสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านแต่ละตัวอย่างที่ความเข้มข้น 25,000, 50,000 และ 100,000  $\mu\text{l/ml}$  และชุดควบคุมที่หยดด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ความเข้มข้น 100 ppm และชุดควบคุมที่หยดด้วยตัวทำละลาย ปริมาณ 20  $\mu\text{l}$  ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นใช้ cork borer ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm เจาะเส้นใยที่บริเวณปลายโคโลนี และใช้เข็มเย็บที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ย้ายชิ้นวุ้นวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 agar ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 cm โดยคว่ำเอาด้านที่มีเส้นใยของเชื้อราให้สัมผัสกับผิวหน้าอาหาร และบ่มไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำกระดาษกรองที่มีสารสกัด วางอีกด้านให้ห่างจากชิ้นวุ้นระยะ 4 cm แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าชุดควบคุมเจริญถึงขอบกระดาษกรอง วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ โดยวัดเส้นรัศมีของโคโลนีเชื้อรา (Figure 3.2)



**Figure 3.2** Radius measurement of the fungal mycelium after treated with *Piper* spp. crude extracts by paper disc diffusion method, control plate (a), and test plate (b).

### บันทึกผลการทดลอง

- วัดเส้นรัศมีของโคโลนีเชื้อรา เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย เพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

$$\text{mycelial inhibition (\%)} = \frac{R1-R2}{R1} \times 100$$

R1 = ค่าเฉลี่ยของเส้นรัศมีของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อของชุดควบคุม

R2 = ค่าเฉลี่ยของเส้นรัศมีของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อของชุดทดสอบ

- การคำนวณ และประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

นำผลการทดลองมาแสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น โดยกำหนดให้ (แกน X) เป็นค่า log ของความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านที่ใช้ทดสอบ และให้ (แกน y) เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต จะได้ค่าความเข้มข้น นำมาหาค่า antilog จะได้ความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ดังสมการ

$$Y = a \ln (X)+b$$

Y = เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

X = ความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

โดยนำค่า half maximal effective concentration (EC<sub>50</sub>) ที่คำนวณได้จากสมการดังกล่าว ประเมินประสิทธิภาพของของสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

### 3.8 ทดสอบสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* บนใบทุเรียน โดยวิธี detached leaves

โดยคัดเลือกความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์จากพืชสกุลสะค้านด้วยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใย ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองข้อ 3.6 โดยนำเชื้อราทุกไอโซเลทที่แยกได้ มาเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ CA agar เป็นเวลา 7 วัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

**ขั้นตอนการเตรียมใบ** นำใบทุเรียนสายพันธุ์ หมอนทองที่เป็นแม่พันธุ์ที่สมบูรณ์ คือ ใบที่ไม่เป็นโรค ไม่แก่หรืออ่อนเกินไป มาทำความสะอาดฆ่าเชื้อบนผิวใบโดยแช่ sodium hypochlorite (10% Clorox) ประมาณ 1-2 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 2-3 นาที ซับด้วยกระดาษทิชชูให้แห้ง และให้ความชื้นโดยนำกระดาษทิชชูที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อชุบน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ชุ่ม จากนั้นพันข้อใบแล้วนำใบใส่กล่องพลาสติกใสที่มีฝาปิด ขนาด 20.5×29.5×10.5 เซนติเมตร โดยวางบนตระแกรงลวดเพื่อไม่ให้ใบติดกันกล่อง ให้ความชื้นด้วยการนำน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเทลงในกล่อง ปริมาณ 500 ml

**ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดหยาบ** ทำการเตรียมกระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ หยดสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านแต่ละตัวอย่างที่ความเข้มข้น 50,000 และ 100,000 µl/ml และชุดควบคุมที่หยดด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ความเข้มข้น 100 ppm และชุดควบคุมที่หยดด้วยตัวทำละลาย ปริมาณ 20 µl ทั้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 2 คืน

**ขั้นตอนการปลูกเชื้อ** เมื่อได้ใบทุเรียนที่เตรียมไว้แล้วนำเชื้อมาปลูกลงบนใบแบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อย คือ

ก่อนทำการปลูกเชื้อบนใบ : โดยทำแผลบนใบด้วยเข็มเย็บเชื้อปลายแหลม หลังจากนั้นนำเชื้อรา *P. palmivora* จากการเลี้ยงเชื้อบนจานอาหาร CA agar นำมาทดสอบโดยใช้ cork borer ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm เจาะเส้นใยที่บริเวณปลายโคโลนี ของเชื้อราแต่ละไอโซเลท และใช้เข็มเย็บเชื้อที่ผ่านการลนไฟฆ่าเชื้อ ย้ายชิ้นวัุ้นเชื้อรา *P. palmivora* ปลูกเชื้อลงบนใบทุเรียน โดยทำทั้งหมด 3 ซ้ำ มีซ้ำย่อยจำนวน 3 ใบ ใบละ 6 แผล รวมซ้ำละ 18 บาดแผล จากนั้นวางบนตระแกรงลวดเก็บไว้ในกล่อง ปิดฝา เพื่อทำการบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังวางเชื้อ 2 วัน ให้นำเชื้อออก และวางกระดาษกรองที่มีสารสกัดหยาบแต่ละความเข้มข้น โดยคว่ำด้านที่มีสารสกัดหยาบลงบนบาดแผลที่ปลูกเชื้อ แล้วเก็บไว้ในกล่อง ปิดฝา เพื่อทำการบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการณ์เกิดโรค

หลังการปลูกเชื้อบนใบ: โดยทำแผลบนใบด้วยเข็มเย็บเชื้อปลายแหลม หลังจากนั้นนำกระดาษกรองที่มีสารสกัดหยาบแต่ละความเข้มข้น โดยคว่ำด้านที่มีสารสกัดหยาบลงบนบาดแผล โดยทำทั้งหมด 3 ซ้ำ มีซ้ำย่อยจำนวน 3 ใบ ใบละ 6 แผล รวมซ้ำละ 18 บาดแผล จากนั้นวางบนตระแกรงลวดเก็บไว้ในกล่อง ปิดฝาไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังวางไว้ 1 วันให้นำกระดาษกรองที่มีสารสกัดหยาบออก แล้วนำเชื้อรา *P. palmivora* จากการเลี้ยงเชื้อบนจานอาหาร CA agar โดยใช้ cork borer ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm เจาะเส้นใยที่บริเวณปลายโคโลนี ของเชื้อราแต่ละไอโซเลท และใช้เข็มเย็บเชื้อที่ผ่านการลนไฟฆ่าเชื้อ ย้ายขึ้นวุ้นเชื้อรา *P. palmivora* ปลูกเชื้อลงบนใบทุเรียน เก็บไว้ในกล่อง ปิดฝา เพื่อทำการบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังวางเชื้อ 2 วันให้นำเชื้อออกปิดฝากล่อง เพื่อทำการบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการณ์เกิดโรค

#### บันทึกผลการทดลอง

- วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบาดแผล เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคของเชื้อรา เพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

$$\text{mycelial inhibition (\%)} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

R1 = ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางบาดแผลบนใบทุเรียนของชุดควบคุม

R2 = ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางบาดแผลบนอาหารเลี้ยงเชื้อของชุดทดสอบ

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 4.1 แยก และเก็บรวบรวมเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคทุเรียน

จากการเก็บตัวอย่างโรคผลเน่าของทุเรียนในแปลงปลูกทุเรียนของเกษตรกรในเขตพื้นที่ ตำบลเขาไชยราช อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) 10°54'51"N, 99°17'04"E ที่คาดว่าจะเกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* ซึ่งมีลักษณะอาการบริเวณเปลือกภายนอกของทุเรียนเกิดจุดแผลขนาดเล็ก สีน้ำตาลเทาขาวบนผลพบ 1 ถึง 2 จุด แผลขยายใหญ่ บางผลพบเส้นใยสีขาวของเชื้อราบนแผล และลูกกลมเข้าสู่เปลือกชั้นใน บางผลพบเนื้อภายในทุเรียนเน่าเสียจากการเข้าทำลายของเชื้อ (Figure 4.1) จากนั้นนำตัวอย่างทุเรียนที่แสดงอาการดังกล่าว ทำการแยกเชื้อราด้วยวิธี Tissue transplanting technique สามารถแยกได้จำนวน 4 ไอโซเลท คือ CL5\_F1, CL5\_F2, CL5\_F11 และ CL5\_F12 หลังจากนั้นนำไปทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ด้วย single sporangium สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป



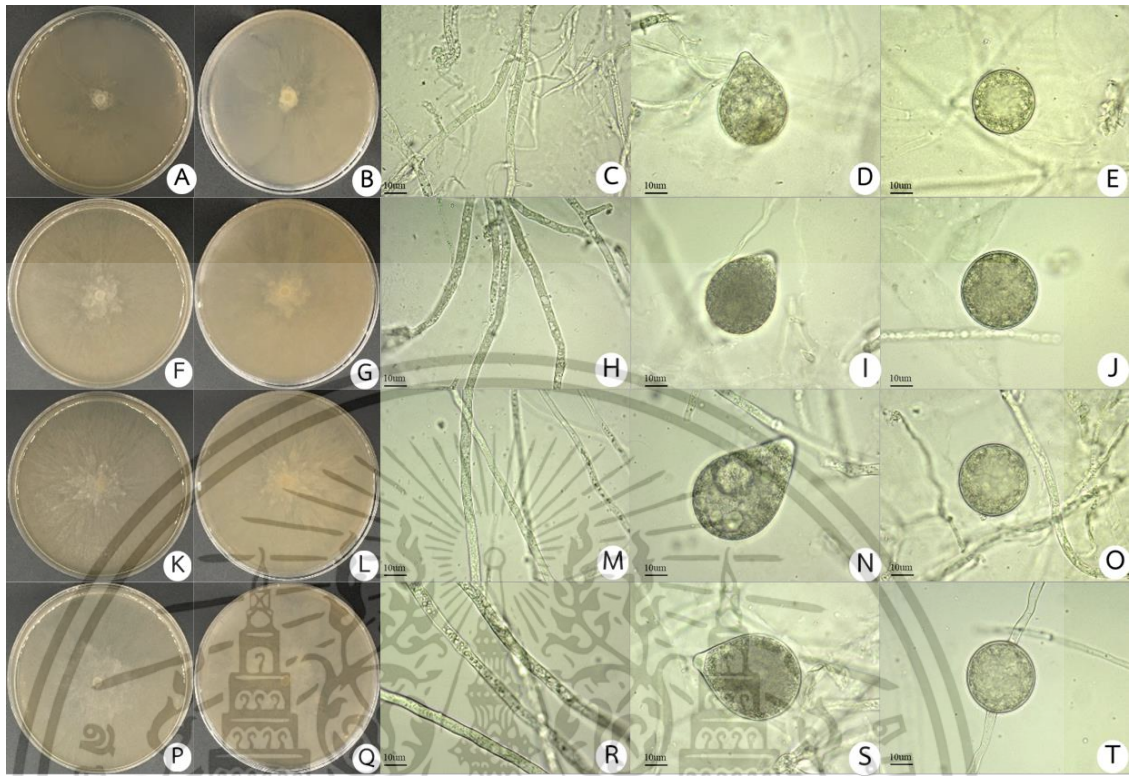
Figure 4.1 Symptoms of durian fruit rot disease caused *Phytophthora palmivora*.

#### 4.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคทุเรียน

นำเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลท ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 agar พบว่า โคลนินของเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลท มีลักษณะโคโลนีแบบ stellate เป็นแฉก ๆ ปลายเรียวแหลมซ้อนกันเป็นชั้น คล้ายดอกกรักรี่ (Figure 4.2 A, B, F, G, K, L, P, Q) และมีลักษณะเส้นใยใสไม่มีสี ไม่มีผนังกันแบบ non-septate แตกกิ่งก้านแบบ simple sympodium หรืออาจไม่มีความแน่นอน (Figure 4.2 C, H, M, R) มีการสร้าง sporangium แบบ ovoid ส่วนปลายมี papilla มีขนาดความกว้าง × ความยาว เฉลี่ยเท่ากับ  $37.31 \times 55.88 \mu\text{m}$  (Table 4.1, Figure 4.2 D, I, N, S) และพบการสร้าง chlamydospore รูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดความกว้าง × ความยาว เฉลี่ยเท่ากับ  $36.75 \times 36.69 \mu\text{m}$  (Table 4.1, Figure 4.2 E, J, O, T) จากลักษณะดังกล่าวจัดจำแนกเป็นเชื้อรา *P. palmivora*

**Table 4.1** Morphological characterization of *Phytophthora palmivora* isolate on V8 agar causing fruit rot disease of durian.

Isolate	Radial	Sporangia characteristic and dimension				Chlamydospore dimension		
	Growth (mm/day)	Length ( $\mu\text{m}$ )	Breadth ( $\mu\text{m}$ )	L/B ratio	shape	Length ( $\mu\text{m}$ )	Breadth ( $\mu\text{m}$ )	L/B ratio
CL5_F1	11.75±0.04	44±10.10	34±7.79	1.30±0.06	Ovoid	31.75±5.91	32.25±6.24	0.99±0.03
CL5_F2	11.72±0.07	61.75±7.37	38.75±2.99	1.61±0.31	Ovoid	41.5±4.65	41.25±2.87	1.00±0.04
CL5_F11	11.77±0.04	54.75±13.15	36.75±7.18	1.49±0.22	Ovoid	38±8.91	37.25±9.60	1.02±0.03
CL5_F12	11.73±0.04	63±9.49	39.8±5.91	1.63±0.45	Ovoid	35.5±1.73	36.25±2.06	0.98±0.1

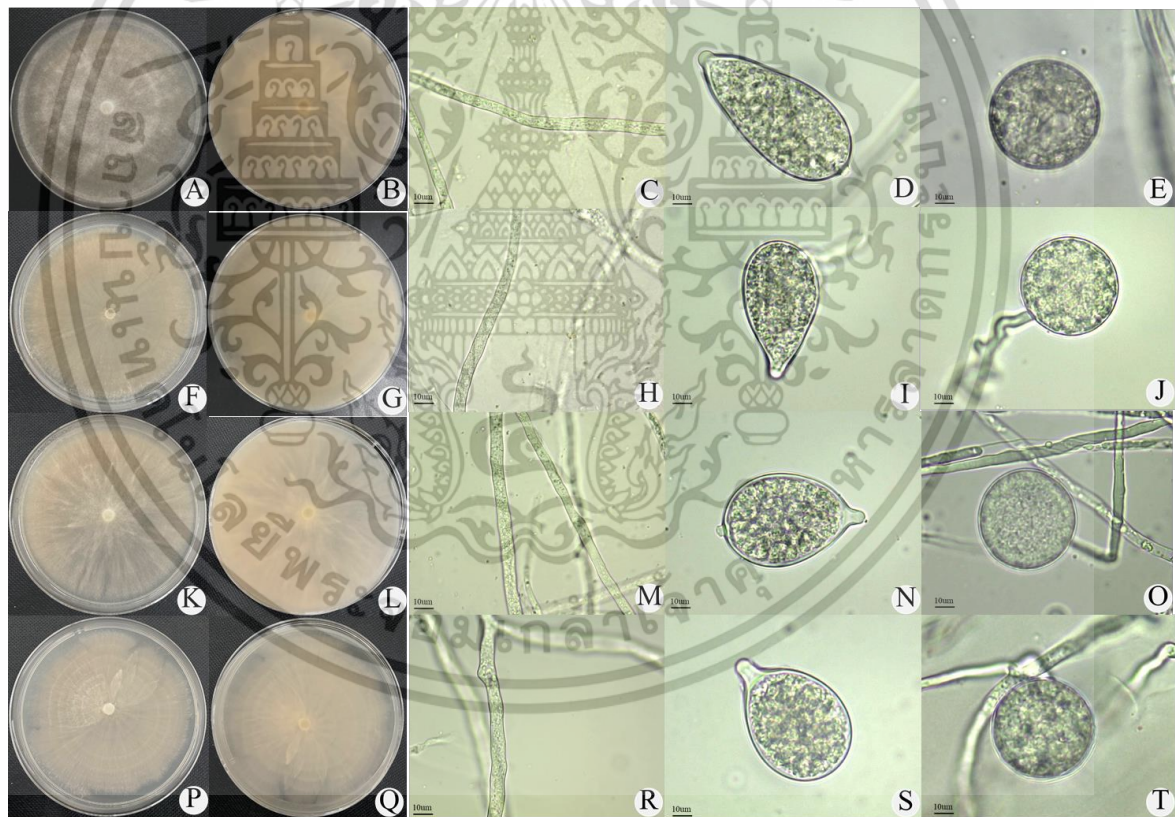


**Figure 4.2** Morphological characteristics of *Phytophthora palmivora* on V8 juice agar for 7 days; CL5\_F1(A-E), CL5\_F2 (F-J), CL5\_F11 (K-O), CL5\_F12 (P-T) isolates, mycelium (C, H, M, R), shapes of sporangium (D, I, N, S) and chlamydospore (E, J, O, T).

นำเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลท ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ carrot agar (CA) พบว่าโคโลนีของเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถแบ่งลักษณะโคโลนีที่พบได้ 2 แบบ ได้แก่ radiate และ stellate ไอโซเลทมีลักษณะโคโลนีแบบ radial มีจำนวน 2 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท CL5\_F1, CL5\_F2 และ CL5\_F12 มีลักษณะเป็นวงซ้อนกันหลาย ๆ ชั้น มีขอบชัดเจน เส้นใยสีขาวชูขึ้นบนผิวอาหาร (Figure 4.3 A, B, F, G, P, Q) และไอโซเลท CL5\_F11 มีลักษณะโคโลนีแบบ stellate เป็นแฉก ๆ ปลายเรียวยแหลมซ้อนกันเป็นชั้นคล้ายดอกกรักร่ำ (Figure 4.3 K, L) และมีลักษณะเส้นใยใสไม่มีสี ไม่มีผนังกันแบบ non-septate แตกกิ่งก้านแบบ simple sympodium หรืออาจไม่มีความแน่นอน (Figure 4.3 C, H, M, R) มีการสร้าง sporangium มี 2 แบบ ได้แก่ ellipsoid และ ovoid ส่วนปลายมี papilla มีขนาดความกว้าง × ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ  $31.53 \times 54.2 \mu\text{m}$  (Table 4.2, Figure 4.3 D, I, N, S) และพบการสร้าง chlamydospore รูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดความกว้าง × ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ  $33.5 \times 34.75 \mu\text{m}$  (Table 4.2, Figure 4.3 E, J, O, T) จากลักษณะดังกล่าวจัดจำแนกเป็นเชื้อรา *P. palmivora*

**Table 4.2** Morphology characterization of *Phytophthora palmivora* isolate on carrot agar causing fruit rot disease of durian.

Isolate	Radial Growth (mm/day)	Sporangia characteristic and dimension				Chlamyospore dimension		
		Length (μm)	Breadth (μm)	L/B ratio	shape	Length (μm)	Breadth (μm)	L/B ratio
CL5_F1	11.78±0.02	58.10±9.60	31.50±4.03	1.86±0.31	Ellipsoid	37.90±3.98	37.00±3.97	1.02±0.02
CL5_F2	11.05±0.26	53.50±8.48	28.00±5.40	1.96±0.42	Ovoid	32.00±4.32	30.40±4.74	1.06±0.08
CL5_F11	11.77±0.04	58.70±7.83	33.90±4.61	1.75±0.26	Ovoid	35.10±5.20	33.60±6.26	1.06±0.09
CL5_F12	10.96±0.07	46.50±8.66	32.70±3.83	1.42±0.16	Ovoid	34.00±5.72	33.00±5.72	1.03±0.01



**Figure 4.3** Morphological characteristics 4 isolates of *Phytophthora palmivora* on CA agar for 7 days; CL5\_F1(A-E), CL5\_F2 (F-J), CL5\_F11 (K-O), CL5\_F12 (P-T), mycelium (C, H, M, R), shapes of sporangium (D, I, N, S) and chlamyospore (E, J, O, T).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ต่อเชื้อรา *P. palmivora* จำนวน 4 ไอโซเลท ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 1, 10 และ 100 ppm พบว่า ไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> และ CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> อ่อนแอต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ส่วนไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl (Table 4.3, Figure 4.4)

**Table 4.3** Sensitivity of *Phytophthora palmivora* isolates to metalaxyl on PDA.

No.	Isolate code	EC <sub>50</sub> (mg/l)	Metalaxyl resistance
1	CL5_F1	<0.1	Met <sup>S</sup>
2	CL5_F2	<0.1	Met <sup>S</sup>
3	CL5_F11	>100	Met <sup>R</sup>
4	CL5_F12	>100	Met <sup>R</sup>

Met<sup>S</sup> = metalaxyl-sensitive, Met<sup>R</sup> = metalaxyl-resistant



**Figure 4.4** The metalaxyl sensitivity of *Phytophthora palmivora* in each isolate on clarified PDA amended with 0 (control), 0.1, 1, 10 and 100 ppm.

### 4.3 การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

จากการสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) โดยใช้ไพรเมอร์ ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') และ ITS6 (5'-GAAGGTGAAGTCGTAACAAGG-3') จากนั้นตรวจหาดีเอ็นเอผลผลิตด้วยเทคนิค Agarose Gel Electrophoresis โดยใช้ Agarose gel ความเข้มข้น 1.5% ผสมสีย้อม GelRed โดยเทียบลำดับช่วงดีเอ็นเอที่ได้กับเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA Marker) พบว่า การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS rDNA โดยใช้ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS6 มีขนาดชิ้นส่วนของดีเอ็นเอประมาณ 800 คู่เบส (Figure 4.5)



**Figure 4.5** Amplification of the partial ITS region of *Phytophthora palmivora* isolates for species identification by using universal primers (ITS4 and ITS6). Markers as the 800 bp ladder.

เมื่อนำมาทำการพิสูจน์ลักษณะทางพันธุกรรมเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาจาก BLAST ที่ได้จากฐานข้อมูลของ GenBank พบว่า เชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลท คือ CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> มีความเหมือนกับเชื้อรา *P. Palmivora* 100% ตามเลข KP183963, KY475630, MN750010 และ MN750013 ตามลำดับ (Table 4.4)

**Table 4.4** The blast result of rDNA ITS sequence from *Phytophthora palmivora* causing durian diseases and their most closely related sequences in GenBank.

No.	Isolate code	Molecular	Sequence length (bp)	Identity (%)	Reference Accession number
1	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	<i>Phytophthora palmivora</i>	829	100	KP183963
2	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	<i>Phytophthora palmivora</i>	826	100	KY475630
3	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	<i>Phytophthora palmivora</i>	817	100	MN750010
4	CL5_F12_Met <sup>R</sup>	<i>Phytophthora palmivora</i>	818	100	MN750013

#### 4.4 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* บนต้นกล้าทุเรียน

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนต้นกล้าทุเรียน จำนวน 4 ไอโซเลท พบว่าเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถก่อโรคบนต้นกล้าทุเรียน โดยใบเริ่มแสดงอาการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง มีจุดสีน้ำตาลดำฉ่ำน้ำ และเริ่มหลุดร่วง ทั้งนี้หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 5-10 สัปดาห์ ทุกไอโซเลทก่อให้เกิดโรค (DI) 100% (Table 4.5) ในขณะที่ระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยระดับความรุนแรงของโรค (DSI) เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 10 สัปดาห์ ไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ก่อให้เกิดระดับความรุนแรงที่ 2.25-2.50 และไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ก่อให้เกิดระดับความรุนแรงที่ 1.75-2.25 ในขณะที่ไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ก่อให้เกิดระดับความรุนแรงที่ 1.00-2.00 (Table 4.6 และ Figure 4.6)

**Table 4.5** Disease incidence on durian seedlings after inoculation with CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> and CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> of *Phytophthora palmivora* isolates for 10 weeks.

Isolate code	Disease incidence (%) <sup>1/4</sup>		
	0 week	5 weeks	10 weeks
CL5_F1_Met <sup>S</sup>	0	100	100
CL5_F2_Met <sup>S</sup>	0	100	100
CL5_F11_Met <sup>R</sup>	0	100	100
CL5_F12_Met <sup>R</sup>	0	100	100

<sup>1/4</sup>Values are evaluated with 4 durian seedlings.

**Table 4.6** Disease severity index on durian seedlings after inoculation with CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> and CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> of *Phytophthora palmivora* Isolates for 10 weeks.

Isolate code	Disease severity index <sup>1/4</sup>	
	5 weeks	10 weeks
CL5_F1_Met <sup>S</sup>	2.25	2.50
CL5_F2_Met <sup>S</sup>	1.75	2.25
CL5_F11_Met <sup>R</sup>	1.00	1.25
CL5_F12_Met <sup>R</sup>	1.50	2.00
F-test	ns	ns
CV (%)	51.79	46.77

Disease level, 0 = nonpathogenic, 1 = virulent 1-15%, 2 = virulent >25-50%, 3 = virulent >50-75%, 4 = virulent >75-100%

<sup>1/4</sup>Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same isolate code are significantly different as determined by least significant difference test at  $p < 0.01$

ns = no statistically significant difference



Figure 4.6 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> (A), CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> (B), CL5\_F1 1\_Met<sup>R</sup> (C) and CL5\_F1 2\_Met<sup>R</sup> (D) of *Phytophthora palmivora* isolates for 10 weeks.

#### 4.5 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* บนผลทุเรียน

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนผลทุเรียน จำนวน 4 ไอโซเลท พบว่าทุกไอโซเลทสามารถก่อให้เกิดโรคบนผลทุเรียนได้ ซึ่งบริเวณบาดแผลเริ่มแสดงอาการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำเล็กน้อย และขนาดบาดแผลขยายเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น กล่าวคือ หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ทุกไอโซเลทขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบาดแผลไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ขนาด 21.84-30.35 mm ทั้งนี้หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 5 และ 7 วัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบาดแผลมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง พบว่าหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 5 วัน ไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบาดแผล 71.61 mm และหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบาดแผลเพิ่มขึ้น 185.31 mm ในขณะที่หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 9 วัน เส้นผ่านศูนย์กลางขนาดบาดแผลไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ขนาด 112.28-218.92 mm (Table 4.7 และ Figure 4.7)

**Table 4.7** Pathogenicity test on durian fruit after inoculation with CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> and CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> of *Phytophthora palmivora* Isolates for 9 days.

Isolate code	Lesion diameter (mm) <sup>1/4</sup>			
	3 days	5 days	7 days	9 days
CL5_F1_Met <sup>S</sup>	25.09	36.48 <sup>b</sup>	109.34 <sup>ab</sup>	161.30
CL5_F2_Met <sup>S</sup>	30.35	71.61 <sup>a</sup>	185.31 <sup>a</sup>	218.92
CL5_F11_Met <sup>R</sup>	23.11	31.95 <sup>b</sup>	58.27 <sup>b</sup>	112.28
CL5_F12_Met <sup>R</sup>	21.84	33.37 <sup>b</sup>	109.19 <sup>ab</sup>	190.03
F-test	ns	**	**	ns
CV (%)	15.69	34.38	32.62	29.67

<sup>1/4</sup>Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same isolate code are significantly different as determined by least significant difference test at  $p < 0.01$

\*\* = statistically significant difference at  $P < 0.01$

ns = no statistically significant difference

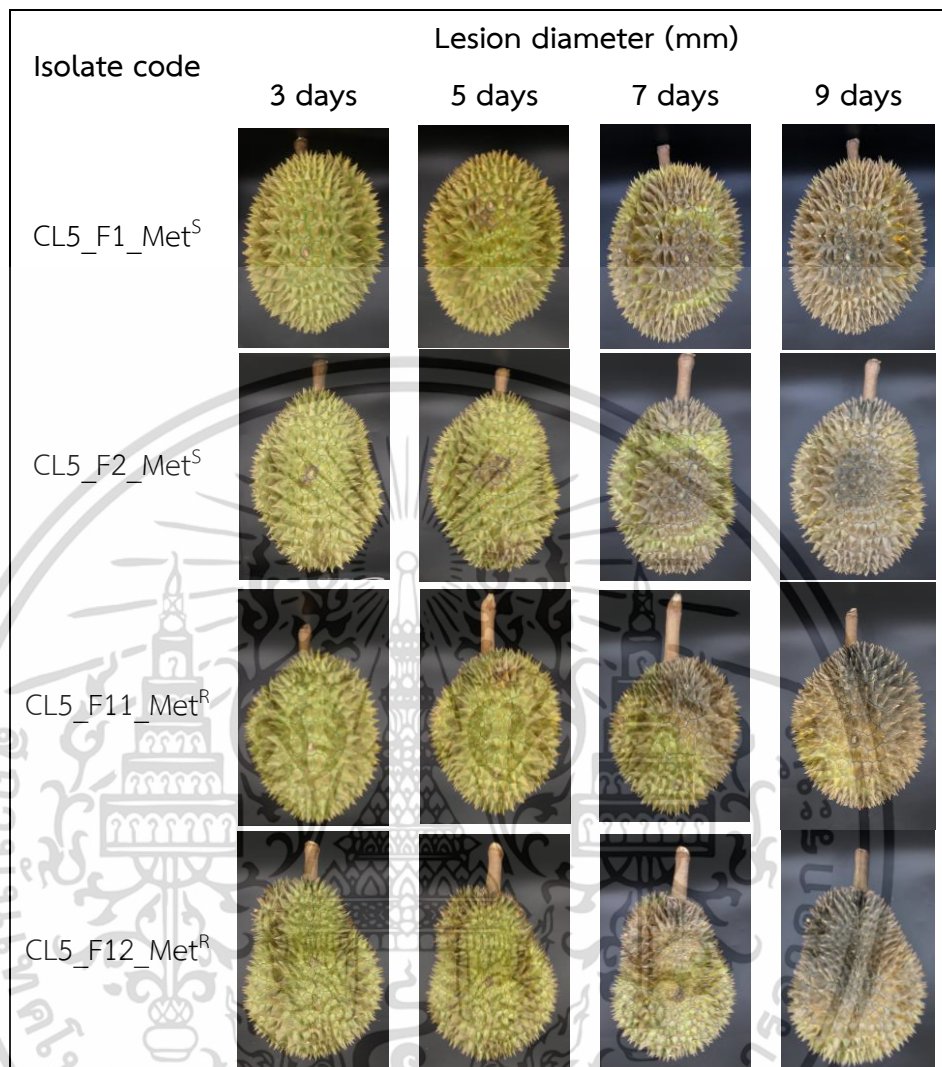


Figure 4.7 Symptoms on durian fruit after inoculation with CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> and CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> of *Phytophthora palmivora* isolates for 9 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.6 คัดเลือกสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* โดยวิธี paper disc diffusion

จากการทดสอบคัดเลือกสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านจำนวน 36 ตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{V/ml}$  มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* จำนวน 4 ไอโซเลท พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ทั้งนี้พบว่าตัวอย่างสารสกัดหยาบที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* ที่มากกว่า 50% มีจำนวน 9 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.4 และ P8.4 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F11 ที่ 67.21 และ 62.74% ตามลำดับ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P20.2 ยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F1 ที่ 52.79% ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P20.4 ยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F1 ที่ 54.77% ในขณะที่ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P49.3 ยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F1 และ CL5\_F2 ที่ 65.04 และ 53.56% ตามลำดับ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P49.4 ยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F2 ที่ 60.58% ทั้งนี้ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P56.6, P173.3 และ P173.4 ยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F11 ที่ 54.34, 57.75 และ 67.21% ตามลำดับ นอกจากนี้ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.6 ยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F2 ที่ 50.41% (Table 4.8 และ Figure 4.8)

**Table 4.8** Inhibitory effect of crude extracts from 36 samples of *Piper* spp. on *Phytophthora palmivora* Isolates CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> and CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> by paper disc diffusion method.

<i>Piper</i> spp. extracts sample	Percent inhibition (%) <sup>1</sup>			
	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	CL5_F12_Met <sup>R</sup>
P8.1	39.35 <sup>b-e</sup>	7.04 <sup>k-o</sup>	10.78 <sup>f-o</sup>	15.39 <sup>d-j</sup>
P8.2	10.96 <sup>g-j</sup>	5.03 <sup>l-o</sup>	18.69 <sup>e-l</sup>	11.62 <sup>i-k</sup>
P8.3	3.67 <sup>h-j</sup>	8.37 <sup>k-o</sup>	7.76 <sup>f-o</sup>	13.01 <sup>f-k</sup>
P8.4	3.00 <sup>ij</sup>	-0.77 <sup>m-p</sup>	62.74 <sup>ab</sup>	12.60 <sup>g-k</sup>
P8.5	45.50 <sup>b-d</sup>	9.96 <sup>j-n</sup>	24.61 <sup>e-i</sup>	13.55 <sup>e-k</sup>
P8.6	37.31 <sup>b-f</sup>	41.91 <sup>b-e</sup>	34.99 <sup>b-f</sup>	14.74 <sup>d-j</sup>
P20.1	44.76 <sup>b-d</sup>	31.81 <sup>d-h</sup>	14.78 <sup>f-m</sup>	18.95 <sup>c-g</sup>
P20.2	52.79 <sup>a-c</sup>	31.81 <sup>i-m</sup>	17.78 <sup>e-l</sup>	18.76 <sup>d-h</sup>
P20.3	43.94 <sup>b-d</sup>	21.94 <sup>g-k</sup>	4.12 <sup>g-p</sup>	16.40 <sup>d-i</sup>
P20.4	54.77 <sup>ab</sup>	44.46 <sup>b-d</sup>	8.41 <sup>f-o</sup>	15.82 <sup>d-i</sup>
P20.5	49.57 <sup>a-d</sup>	39.19 <sup>b-f</sup>	-14.47 <sup>n-q</sup>	11.20 <sup>i-k</sup>
P20.6	41.50 <sup>b-e</sup>	26.42 <sup>e-i</sup>	-13.36 <sup>m-q</sup>	25.86 <sup>a-c</sup>
P38.1	36.78 <sup>c-f</sup>	13.60 <sup>i-m</sup>	-0.32 <sup>i-q</sup>	10.73 <sup>i-k</sup>
P38.2	21.27 <sup>f-h</sup>	-7.03 <sup>op</sup>	-7.55 <sup>j-q</sup>	12.58 <sup>g-k</sup>
P38.3	35.97 <sup>c-f</sup>	1.23 <sup>m-p</sup>	1.69 <sup>h-q</sup>	20.95 <sup>b-d</sup>
P38.4	41.27 <sup>b-e</sup>	-13.81 <sup>p</sup>	-5.25 <sup>j-q</sup>	8.51 <sup>j-l</sup>
P38.5	41.23 <sup>b-e</sup>	-0.78 <sup>m-p</sup>	-9.32 <sup>l-q</sup>	20.42 <sup>b-e</sup>
P38.6	39.16 <sup>b-f</sup>	6.63 <sup>k-o</sup>	-0.36 <sup>i-q</sup>	16.25 <sup>d-i</sup>
P49.1	47.45 <sup>a-d</sup>	3.19 <sup>l-o</sup>	-1.97 <sup>i-q</sup>	19.84 <sup>b-f</sup>
P49.2	45.98 <sup>b-d</sup>	17.76 <sup>h-l</sup>	-8.07 <sup>k-q</sup>	26.48 <sup>ab</sup>
P49.3	65.04 <sup>a</sup>	53.56 <sup>ab</sup>	4.35 <sup>g-p</sup>	20.57 <sup>b-d</sup>
P49.4	32.02 <sup>d-f</sup>	60.58 <sup>a</sup>	12.60 <sup>f-n</sup>	17.26 <sup>d-i</sup>
P49.5	-5.95 <sup>j</sup>	-2.34 <sup>n-p</sup>	-23.12 <sup>pq</sup>	8.02 <sup>kl</sup>
P49.6	-6.41 <sup>j</sup>	6.44 <sup>k-o</sup>	8.42 <sup>f-o</sup>	7.85 <sup>kl</sup>

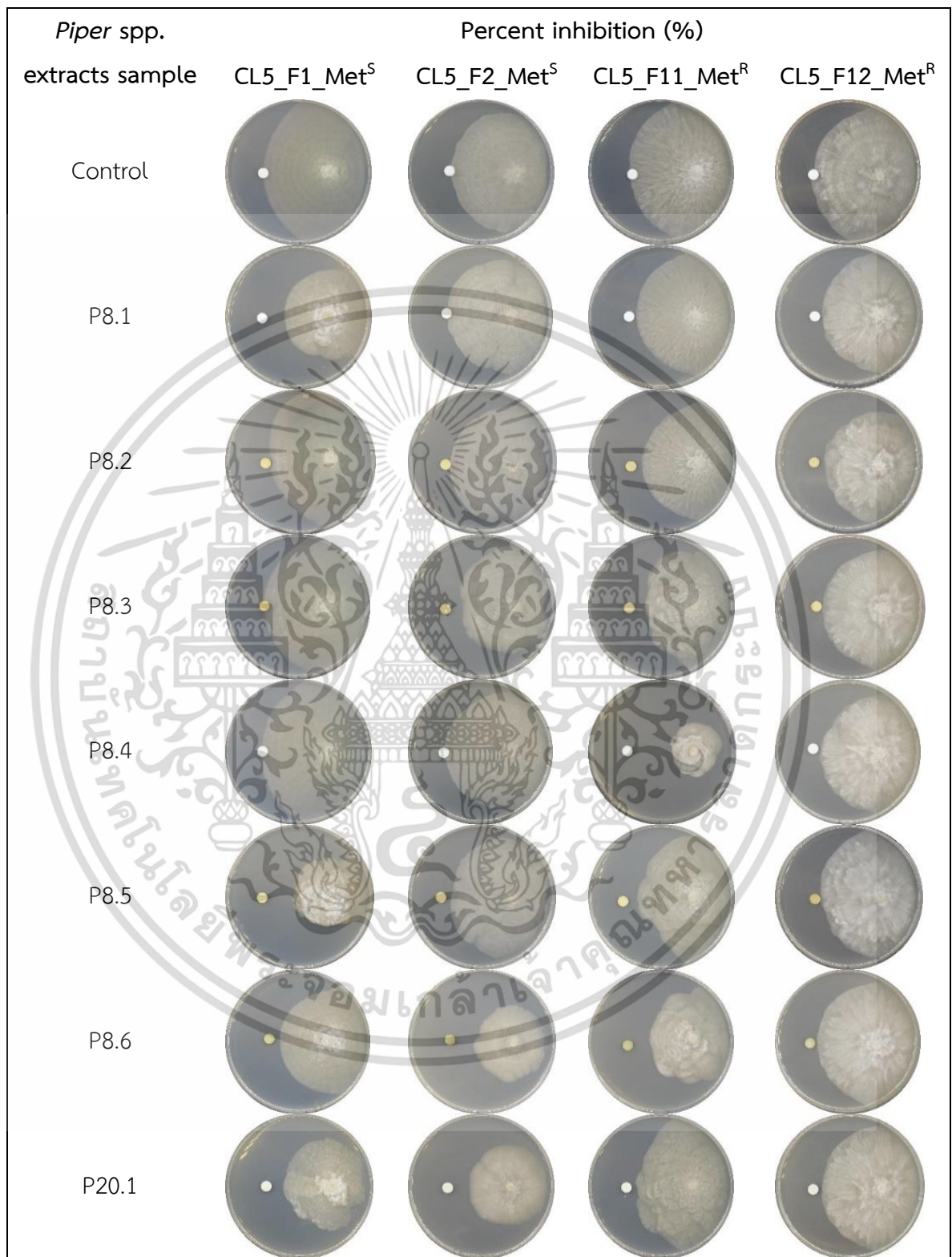
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4.8 Continues.

<i>Piper</i> spp. extracts sample	Percent inhibition (%) <sup>14</sup>			
	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	CL5_F12_Met <sup>R</sup>
P56.1	35.06 <sup>d-f</sup>	2.34 <sup>l-o</sup>	30.47 <sup>c-g</sup>	13.55 <sup>e-k</sup>
P56.2	35.92 <sup>c-f</sup>	30.18 <sup>d-h</sup>	-7.29 <sup>j-q</sup>	15.51 <sup>d-j</sup>
P56.3	35.17 <sup>d-f</sup>	25.46 <sup>f-j</sup>	-24.24 <sup>q</sup>	19.53 <sup>b-g</sup>
P56.4	36.52 <sup>c-f</sup>	40.16 <sup>b-f</sup>	20.37 <sup>E-j</sup>	13.50 <sup>e-k</sup>
P56.5	20.49 <sup>f-i</sup>	40.09 <sup>b-f</sup>	43.21 <sup>a-e</sup>	11.90 <sup>h-k</sup>
P56.6	25.72 <sup>e-g</sup>	39.25 <sup>b-f</sup>	54.34 <sup>a-d</sup>	20.96 <sup>b-d</sup>
P173.1	36.52 <sup>c-f</sup>	31.25 <sup>d-h</sup>	-17.31 <sup>o-q</sup>	3.67 <sup>lm</sup>
P173.2	47.80 <sup>a-d</sup>	35.51 <sup>c-g</sup>	19.58 <sup>e-k</sup>	-2.14 <sup>m</sup>
P173.3	48.43 <sup>a-d</sup>	40.94 <sup>b-f</sup>	57.75 <sup>abc</sup>	8.52 <sup>j-l</sup>
P173.4	41.63 <sup>b-e</sup>	35.25 <sup>c-g</sup>	67.21 <sup>a</sup>	2.48 <sup>lm</sup>
P173.5	44.13 <sup>b-d</sup>	42.06 <sup>b-d</sup>	28.12 <sup>d-h</sup>	28.39 <sup>a</sup>
P173.6	39.95 <sup>b-e</sup>	50.41 <sup>a-c</sup>	44.44 <sup>a-e</sup>	28.53 <sup>a</sup>
F-test	**	**	**	**
CV (%)	14.67	10.76	17.47	4.45

<sup>14</sup>Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same isolate code are significantly different as determined by least significant difference test at  $p < 0.01$

\*\* = statistically significant difference at  $P < 0.01$



**Figure 4.8** Effect of crude extracts from 36 samples of *Piper* spp. on the mycelium growth of *Phytophthora palmivora* 4 Isolates by paper disc diffusion method on V8 agar.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

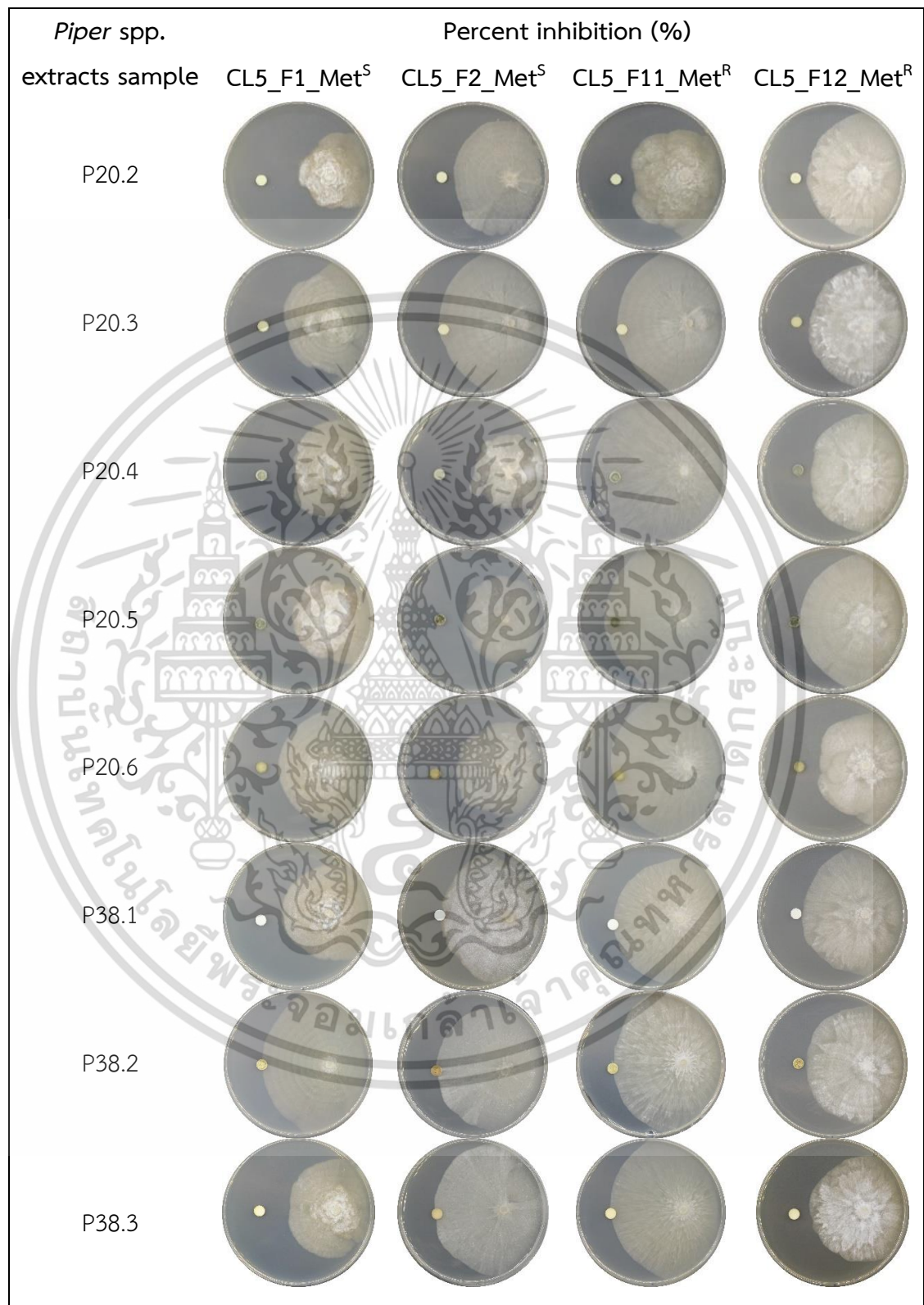


Figure 4.8 Continues.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

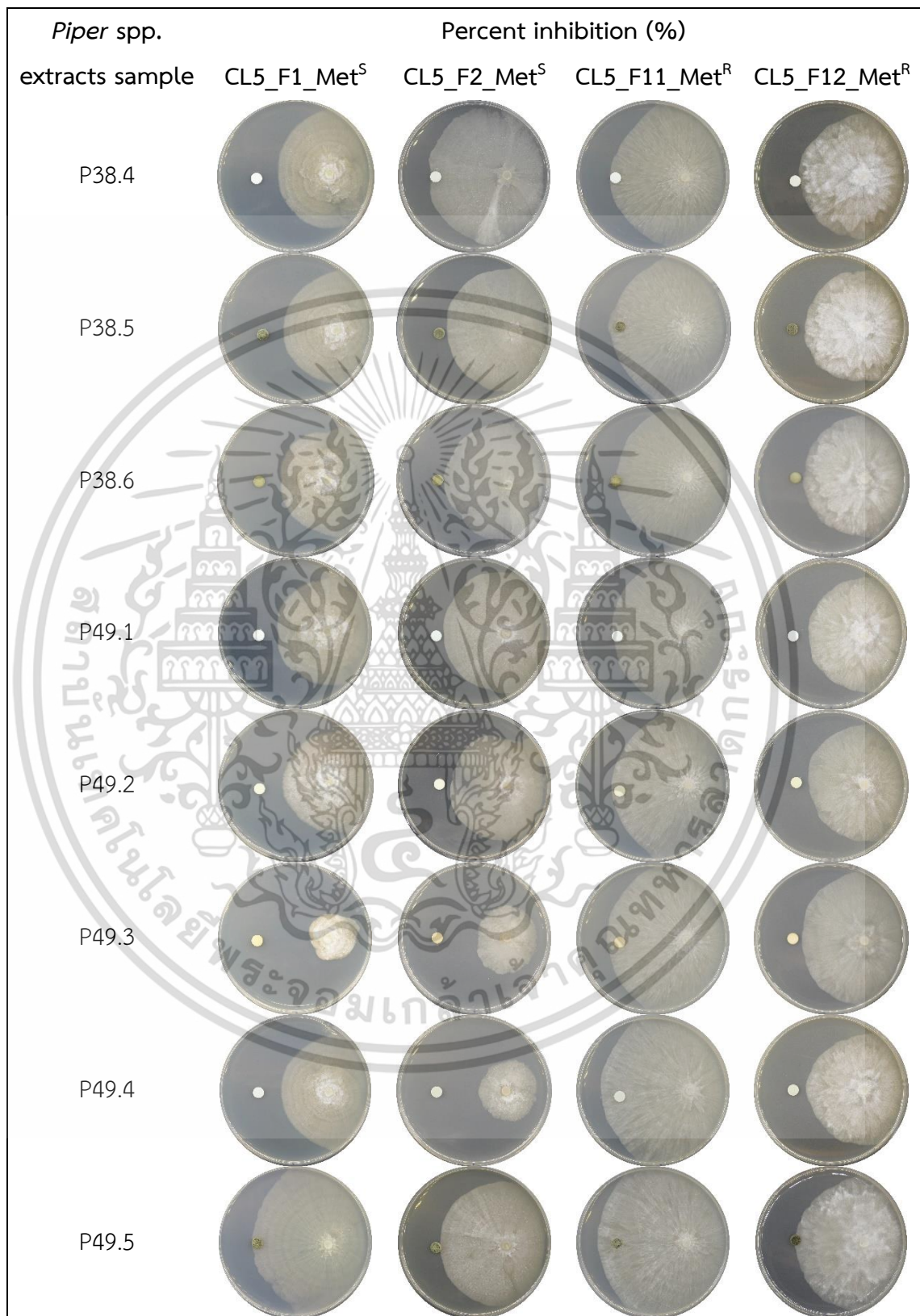


Figure 4.8 Continues.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

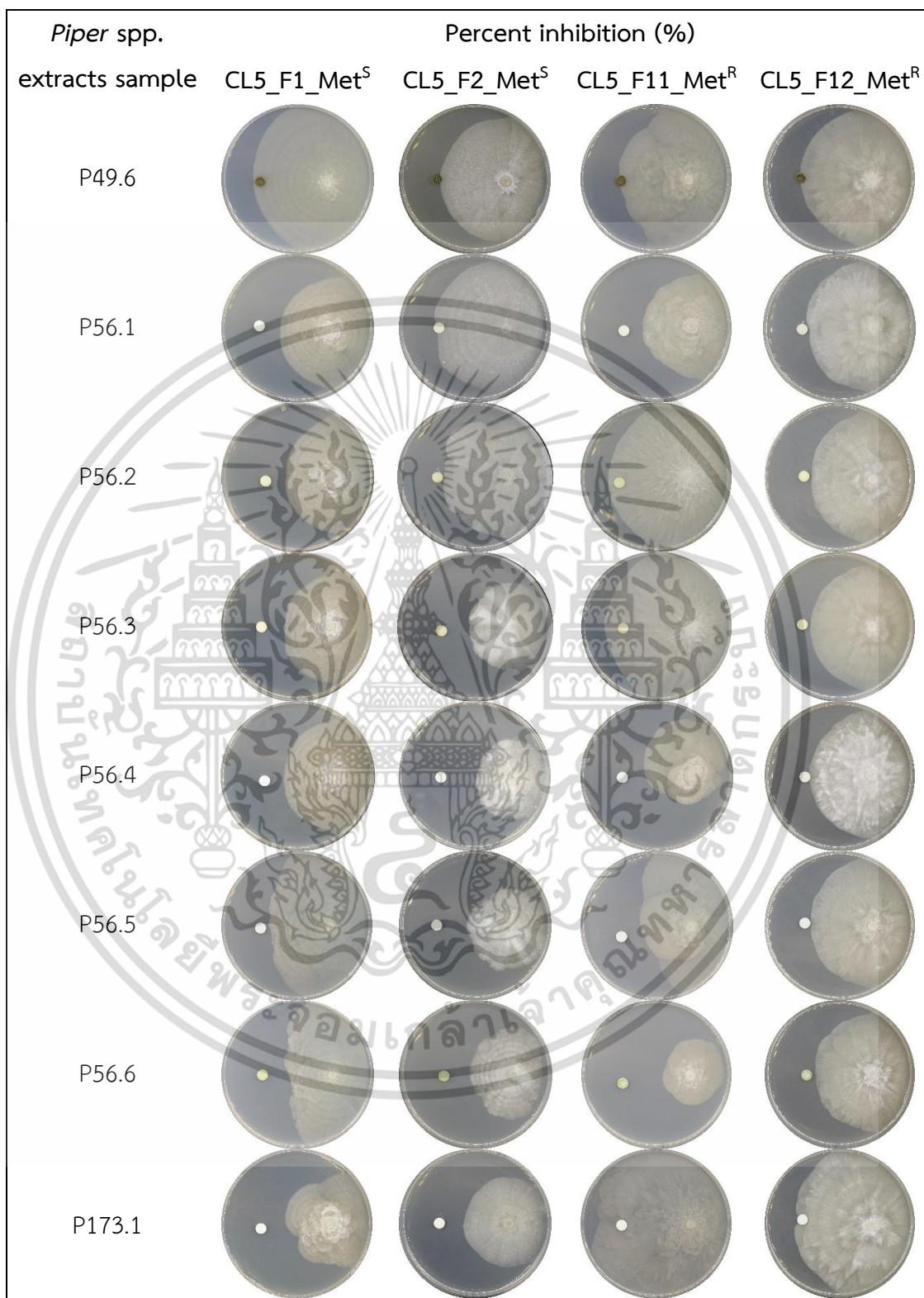


Figure 4.8 Continues.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

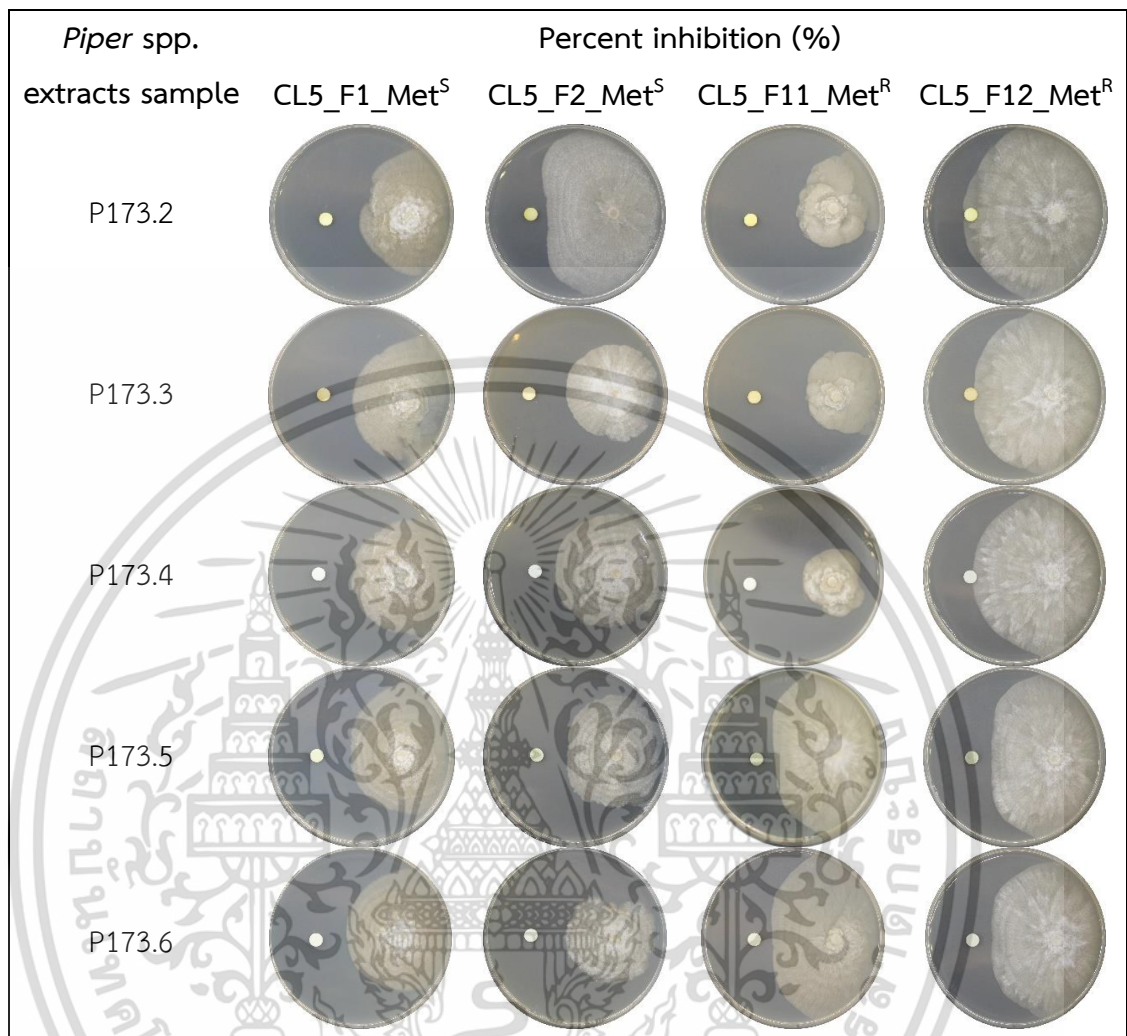
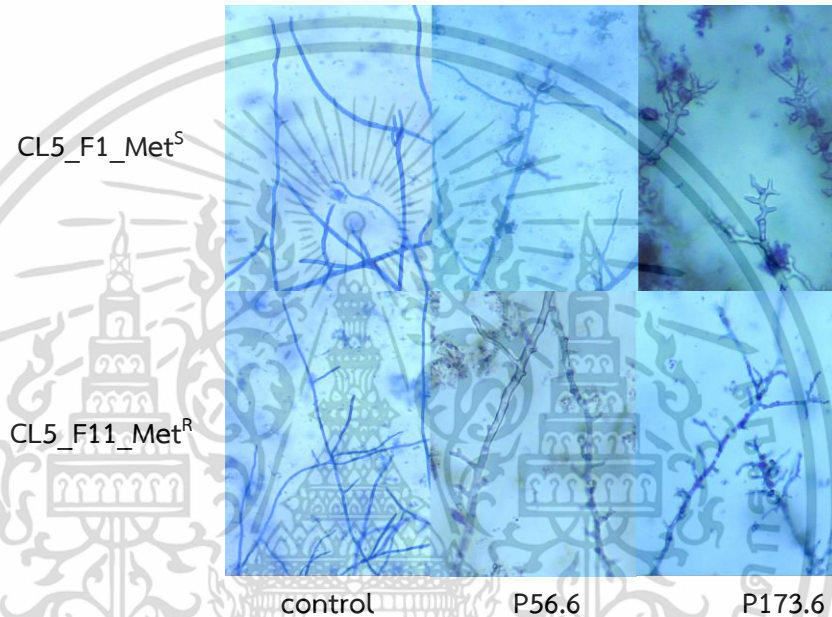


Figure 4.8 Continues.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการนำไปตรวจเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100 เท่า พบว่าตัวอย่างสารสกัดหยาบ คือ สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากลำต้นดีป्ली (P56.6) และสารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากใบพริกไทยก้านยาว (P173.6) ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L}/\text{mL}$  ทำให้ปลายเส้นใยของเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท มีลักษณะหยิก คดงอ บริเวณปลายเส้นใย และแตกแขนงออกมาได้น้อยลง ซึ่งผิดปกติแตกต่างออกไปจากชุดควบคุม (Figure 4.9)



**Figure 4.9** Mycelial characteristics of *Phytophthora palmivora* after treated with ethanol crude extract from the stem of *P. retrofractum* (P56.6) and leaf extract *P. griffithii* (P173.6) at 50,000  $\mu\text{L}/\text{mL}$  for 24 hour under the compound microscope (10x).

#### 4.7 ทดสอบสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* โดยวิธี paper disc diffusion

จากการทดลองสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง พบว่าตัวอย่างสารสกัดหยาบ P56.6 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อราที่ 25.47 และ 27.84% ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 และ 100,000  $\mu\text{L/ml}$  รองลงมา คือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P49.3 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อราที่ 25.41% ที่ระดับความเข้มข้น 25,000  $\mu\text{L/ml}$  นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับสารป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ที่ 43.64% (Table 4.9 และ Figure 4.10, 4.11)

จากการทดลองสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง พบว่าตัวอย่างสารสกัดหยาบ P8.4, P20.4, P49.3, P49.4 และ P173.6 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อราที่ 60.02, 60.75, 61.36, 61.43, 63.31, 63.46, 64.02, 64.72, 65.42, 66.02, 66.16, 66.96 และ 68.12% ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 25,000 50,000 และ 100,000  $\mu\text{L/ml}$  รองลงมา คือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.4 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อราที่ 58.33% ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับสารป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 64.61% (Table 4.9 และ Figure 4.12, 4.13)

จากการทดลองสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง พบว่าตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.4 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อราที่ 47.40% ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  รองลงมา คือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P56.6 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อราที่ 43.30% ที่ระดับความเข้มข้น 25,000  $\mu\text{L/ml}$  นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับสารป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> ที่ 26.13% (Table 4.9 และ Figure 4.14, 4.15)

จากการทดลองสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง พบว่าตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.4 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อราที่ 34.37% ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  รองลงมา คือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.6 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของ

เชื้อราที่ 26.24% ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{l/ml}$  นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับสารป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 55.02% (Table 4.9 และ Figure 4.16, 4.17)

**Table 4.9** Effect of crude extracts from 9 samples of *Piper* spp. on the mycelial growth of 4 isolates of *Phytophthora palmivora*.

<i>Piper</i> spp. extracts code	Concentration ( $\mu\text{l/ml}$ )	Percent inhibition (%) <sup>±</sup>			
		CL5_F1_Met <sup>S</sup>	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	CL5_F12_Met <sup>R</sup>
metalaxyl	100	43.64 <sup>a</sup>	64.61 <sup>a</sup>	26.13 <sup>a-f</sup>	55.02 <sup>a</sup>
P8.4	25,000	23.16 <sup>b-g</sup>	60.02 <sup>a</sup>	26.06 <sup>a-f</sup>	3.71 <sup>h-k</sup>
	50,000	18.54 <sup>e-j</sup>	64.72 <sup>a</sup>	-12.79 <sup>j</sup>	7.23 <sup>g-i</sup>
	100,000	16.58 <sup>h-k</sup>	68.12 <sup>a</sup>	-9.09 <sup>h-j</sup>	-2.52 <sup>jk</sup>
P20.2	25,000	15.59 <sup>h-l</sup>	42.52 <sup>de</sup>	-0.71 <sup>g-j</sup>	21.09 <sup>c-f</sup>
	50,000	23.49 <sup>b-f</sup>	24.85 <sup>fg</sup>	-10.98 <sup>j</sup>	1.07 <sup>h-k</sup>
	100,000	19.25 <sup>d-h</sup>	33.30 <sup>ef</sup>	7.01 <sup>e-j</sup>	-0.68 <sup>i-k</sup>
P20.4	25,000	17.40 <sup>f-k</sup>	56.58 <sup>a-c</sup>	2.22 <sup>g-j</sup>	19.04 <sup>c-f</sup>
	50,000	19.06 <sup>e-h</sup>	66.16 <sup>a</sup>	-13.76 <sup>j</sup>	18.11 <sup>d-f</sup>
	100,000	19.00 <sup>e-i</sup>	66.96 <sup>a</sup>	9.82 <sup>e-i</sup>	5.92 <sup>g-i</sup>
P49.3	25,000	25.41 <sup>b-d</sup>	60.75 <sup>a</sup>	41.19 <sup>a-c</sup>	6.22 <sup>g-i</sup>
	50,000	15.00 <sup>h-l</sup>	64.02 <sup>a</sup>	5.62 <sup>e-j</sup>	7.39 <sup>gh</sup>
	100,000	19.40 <sup>c-h</sup>	61.43 <sup>a</sup>	6.13 <sup>e-j</sup>	22.69 <sup>c-e</sup>
P49.4	25,000	12.52 <sup>j-m</sup>	66.02 <sup>a</sup>	12.65 <sup>d-g</sup>	0.31 <sup>h-k</sup>
	50,000	12.45 <sup>j-m</sup>	65.42 <sup>a</sup>	13.51 <sup>d-g</sup>	19.60 <sup>c-f</sup>
	100,000	19.20 <sup>e-h</sup>	63.46 <sup>a</sup>	4.75 <sup>f-j</sup>	-0.66 <sup>i-k</sup>
P56.6	25,000	8.65 <sup>m</sup>	12.64 <sup>h</sup>	43.30 <sup>ab</sup>	15.62 <sup>ef</sup>
	50,000	27.84 <sup>b</sup>	9.35 <sup>hi</sup>	16.64 <sup>d-g</sup>	-11.15 <sup>l</sup>
	100,000	25.47 <sup>bc</sup>	13.75 <sup>gh</sup>	1.37 <sup>g-j</sup>	-3.35 <sup>kl</sup>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4.9 Continues.

<i>Piper</i> spp. extracts code	Concentration ( $\mu$ l/ml)	Percent inhibition (%) <sup>1/4</sup>			
		CL5_F1_Met <sup>S</sup>	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	CL5_F12_Met <sup>R</sup>
P173.3	25,000	14.24 <sup>h-m</sup>	43.41 <sup>de</sup>	17.37 <sup>d-g</sup>	5.19 <sup>h-j</sup>
	50,000	15.42 <sup>h-l</sup>	38.28 <sup>de</sup>	19.98 <sup>c-g</sup>	-0.40 <sup>h-k</sup>
	100,000	11.80 <sup>k-m</sup>	46.04 <sup>cd</sup>	9.96 <sup>e-i</sup>	6.70 <sup>g-i</sup>
P173.4	25,000	11.56 <sup>k-m</sup>	47.10 <sup>b-d</sup>	24.83 <sup>b-f</sup>	23.86 <sup>cd</sup>
	50,000	12.80 <sup>l-m</sup>	58.33 <sup>ab</sup>	47.40 <sup>a</sup>	34.37 <sup>b</sup>
	100,000	9.41 <sup>lm</sup>	42.60 <sup>de</sup>	15.32 <sup>d-g</sup>	-2.06 <sup>jk</sup>
P173.6	25,000	23.35 <sup>b-f</sup>	63.46 <sup>a</sup>	20.60 <sup>c-g</sup>	13.28 <sup>fg</sup>
	50,000	24.25 <sup>b-e</sup>	61.36 <sup>a</sup>	32.20 <sup>a-d</sup>	26.24 <sup>c</sup>
	100,000	17.12 <sup>g-k</sup>	63.31 <sup>a</sup>	27.04 <sup>a-e</sup>	19.88 <sup>c-f</sup>
<i>Piper</i> spp. extracts code (A)		**	**	**	**
Concentration (B)		**	**	**	**
A*B		**	**	**	**
CV (%)		4.16	11.06	13.83	5.18

<sup>1/4</sup>Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same isolate code are significantly different as determined by least significant difference test at  $p < 0.01$

\*\* = statistically significant difference at  $P < 0.01$

จากการหาความสัมพันธ์เชิงเส้น logarithm ของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใย (แกน Y) ในแต่ละระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน (แกน X) วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของสมการ Regression equation เพื่อคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (half maximal effective concentration : EC<sub>50</sub>) พบว่าประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* ที่ค่า EC<sub>50</sub> <25,000 ดังนี้ ตัวอย่าง P8.4 และ P49.3 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ทั้ง 4 ไอโซเลท ในขณะที่ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P49.4, P56.6, P173.4 และ P173.6 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้จำนวน 3 ไอโซเลท คือ CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P20.2 และ P20.4 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้จำนวน 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> และตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.3 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้จำนวน 2 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> และ CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> (Table 4.10)

**Table 4.10** *Piper* spp., regression equation, coefficient of determination ( $R^2$ ) and 50% effective concentration of mycelium growth of *Phytophthora palmivora* causing durian disease.

<i>Piper</i> spp. extracts code	Isolate code	Regression equation	$R^2$	EC <sub>50</sub> ** (mg/L)
P8.4	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	$y = -4.746\ln(x) + 70.782$	0.9483	<25,000
	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	$y = 5.8454\ln(x) + 1.0432$	0.9915	<25,000
	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	$y = -25.36\ln(x) + 275.73$	0.6718	<25,000
	CL5_F12_Met <sup>R</sup>	$y = -4.494\ln(x) + 51.431$	0.398	<25,000
P20.2	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	$y = 2.6401\ln(x) - 9.1223$	0.2143	>100,000
	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	$y = -6.656\ln(x) + 105.57$	0.2723	<25,000
	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	$y = 5.5688\ln(x) - 61.813$	0.1829	<25,000
	CL5_F12_Met <sup>R</sup>	$y = -15.7\ln(x) + 177.07$	0.8099	<25,000
P20.4	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	$y = 1.1542\ln(x) + 5.999$	0.7219	>100,000
	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	$y = 7.4854\ln(x) - 17.753$	0.8073	<25,000
	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	$y = 5.4822\ln(x) - 59.89$	0.0997	<25,000
	CL5_F12_Met <sup>R</sup>	$y = -9.464\ln(x) + 116.76$	0.8029	<25,000
P49.3	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	$y = -4.335\ln(x) + 66.844$	0.3307	<25,000
	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	$y = 0.4891\ln(x) + 56.774$	0.0387	<25,000
	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	$y = -25.29\ln(x) + 291.28$	0.7391	<25,000
	CL5_F12_Met <sup>R</sup>	$y = 11.881\ln(x) - 116.45$	0.803	<25,000
P49.4	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	$y = 4.8186\ln(x) - 37.413$	0.7421	<25,000
	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	$y = -1.846\ln(x) + 84.94$	0.9137	>100,000
	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	$y = -5.699\ln(x) + 71.961$	0.6692	<25,000
	CL5_F12_Met <sup>R</sup>	$y = -0.7\ln(x) + 13.987$	0.0018	<25,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4.10 Continues.

<i>Piper</i> spp. extracts code	Isolate code	Regression equation	R <sup>2</sup>	EC <sub>50</sub> ** (mg/l)
P56.6	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	$y = 12.133\ln(x) - 110.62$	0.6461	<25,000
	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	$y = 0.8056\ln(x) + 3.1983$	0.0596	>100,000
	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	$y = -30.25\ln(x) + 347.69$	0.976	<25,000
	CL5_F12_Met <sup>R</sup>	$y = -13.68\ln(x) + 148.43$	0.4746	<25,000
P173.3	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	$y = -1.76\ln(x) + 32.864$	0.4367	<25,000
	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	$y = 1.8989\ln(x) + 22.032$	0.1113	>100,000
	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	$y = -5.345\ln(x) + 73.604$	0.508	<25,000
	CL5_F12_Met <sup>R</sup>	$y = 1.0892\ln(x) - 7.9553$	0.0407	>100,000
P173.4	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	$y = -1.551\ln(x) + 28.037$	0.3928	<25,000
	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	$y = -3.246\ln(x) + 84.47$	0.0772	40913.55
	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	$y = -6.86\ln(x) + 103.41$	0.0833	<25,000
	CL5_F12_Met <sup>R</sup>	$y = -18.7\ln(x) + 221.02$	0.4777	<25,000
P173.6	CL5_F1_Met <sup>S</sup>	$y = -4.494\ln(x) + 70.197$	0.6436	<25,000
	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	$y = -0.115\ln(x) + 63.957$	0.0047	>100,000
	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	$y = 4.6455\ln(x) - 23.65$	0.307	<25,000
	CL5_F12_Met <sup>R</sup>	$y = 4.7609\ln(x) - 31.712$	0.2593	<25,000

\* y = percentage of mycelial growth inhibition; x = fungicide concentration. \*\* Calculated by the concentration equation (mg/l).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

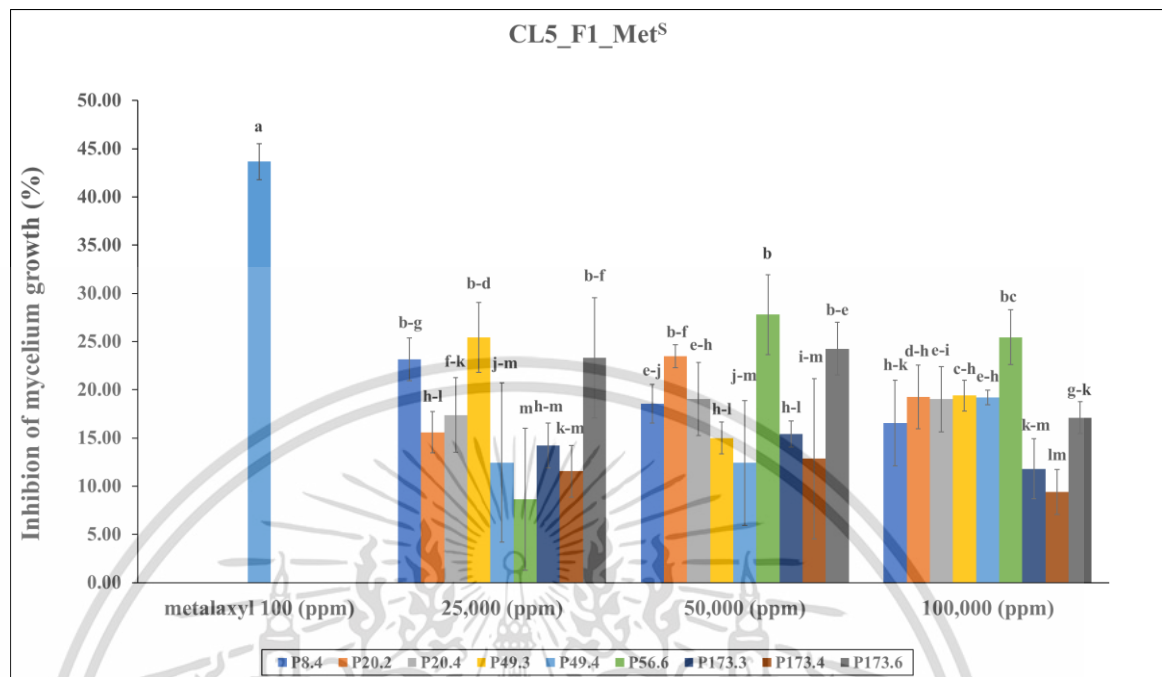
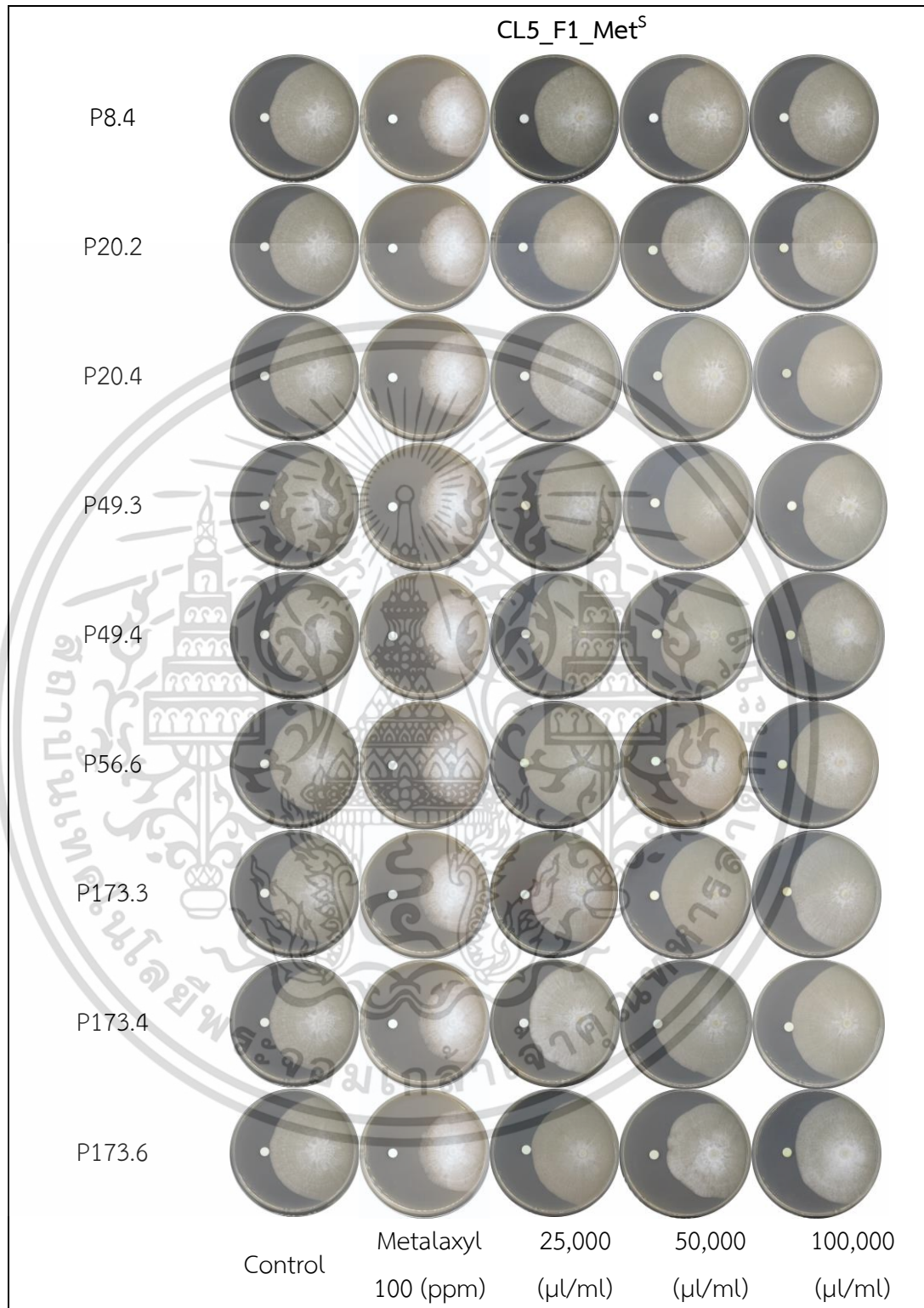


Figure 4.10 Effect of crude extracts from 9 samples of *Piper* spp. on the mycelial growth of CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> *Phytophthora palmivora*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**Figure 4.11** Effect of crude extracts from 9 samples of *Piper* spp. on the mycelial growth of CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> *Phytophthora palmivora*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

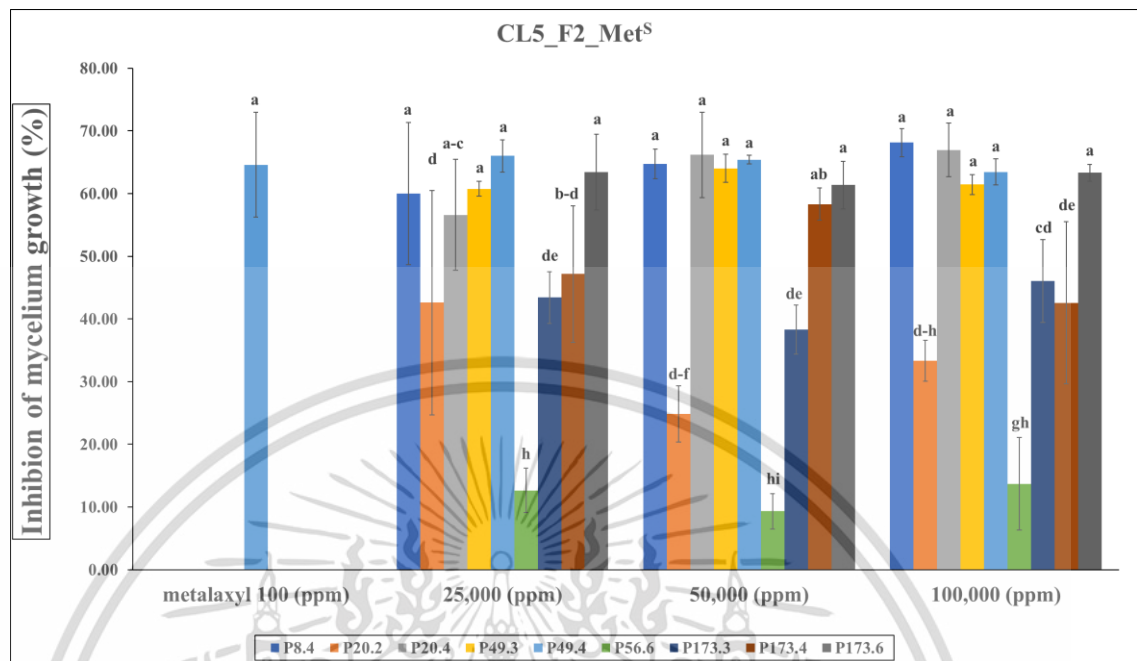
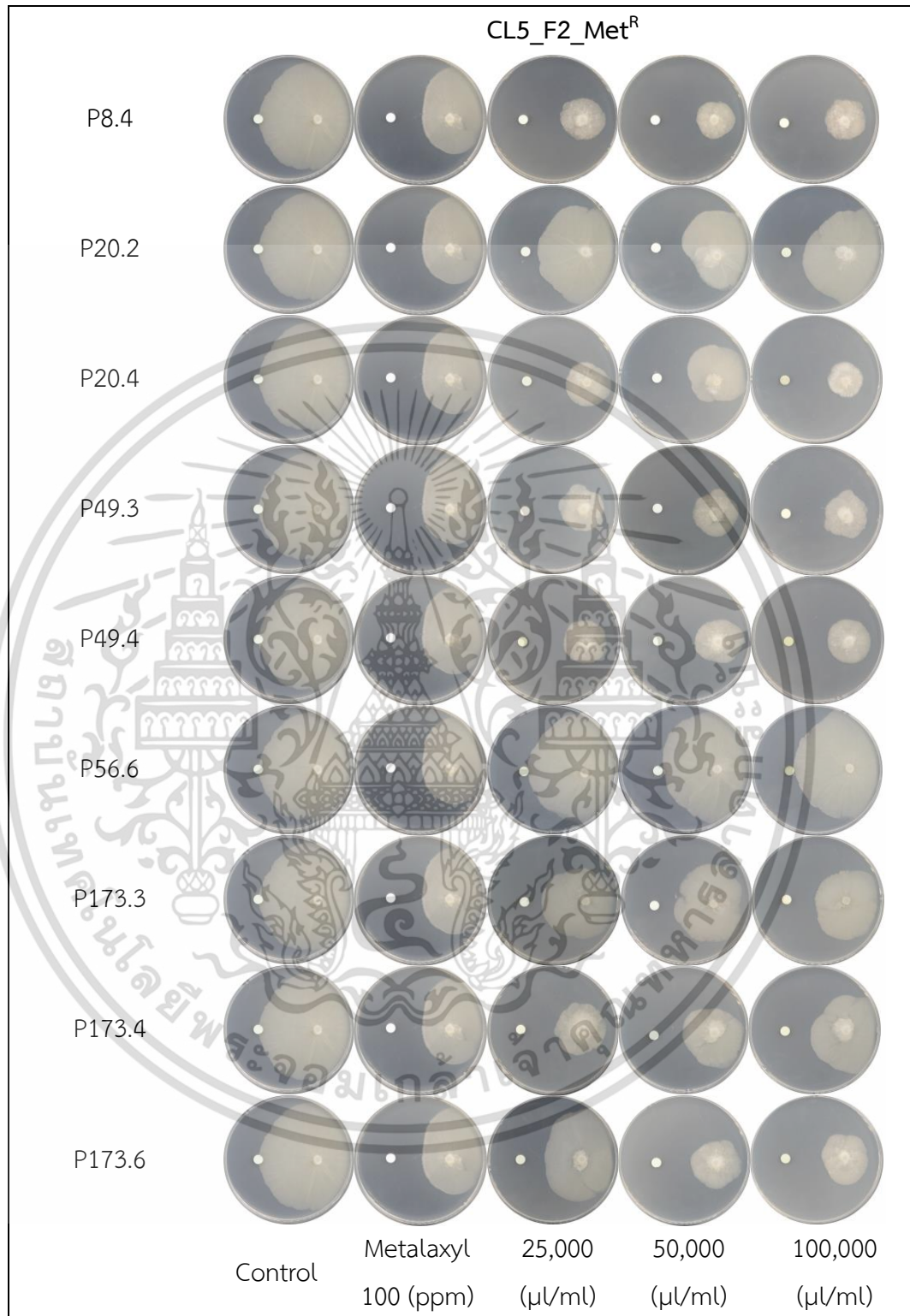


Figure 4.12 Effect of crude extracts from 9 samples of *Piper* spp. on the mycelial growth of CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> *Phytophthora palmivora*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**Figure 4.13** Effect of crude extracts from 9 samples of *Piper* spp. on the mycelial growth of CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> *Phytophthora palmivora*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

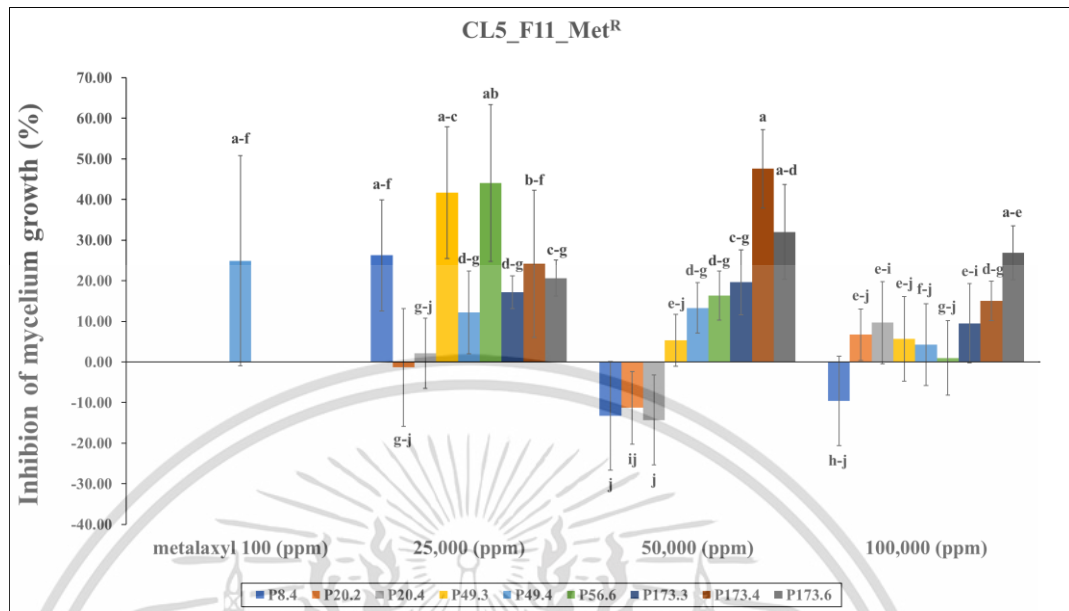
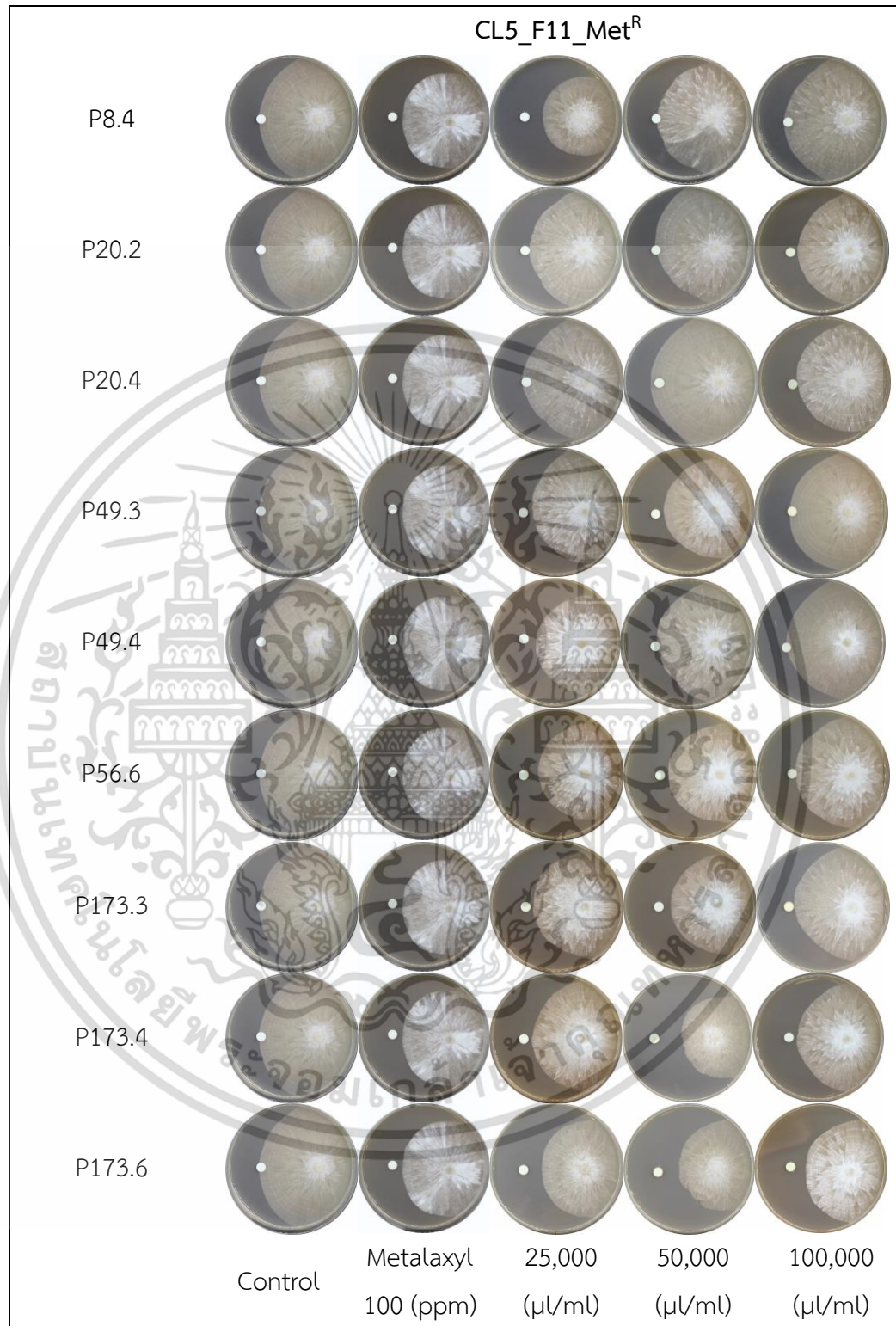


Figure 4.14 Effect of crude extracts from 9 samples of *Piper* spp. on the mycelial growth of CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> *Phytophthora palmivora*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**Figure 4.15** Effect of crude extracts from 9 samples of *Piper* spp. on the mycelial growth of CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> *Phytophthora palmivora*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

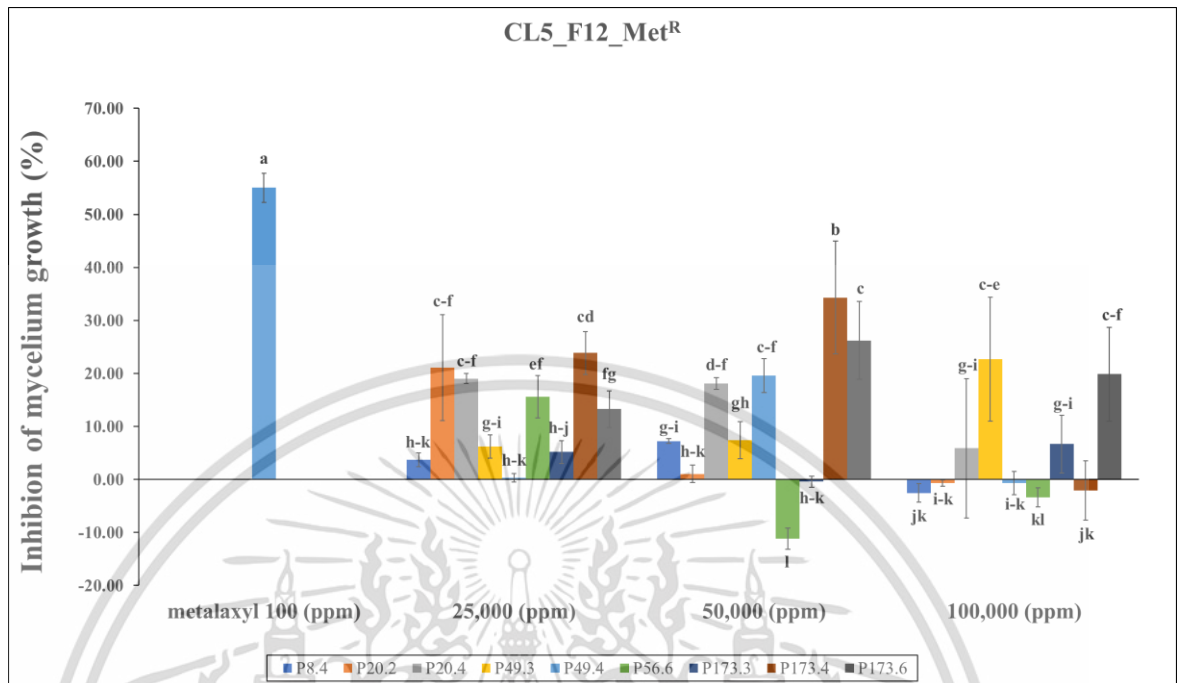
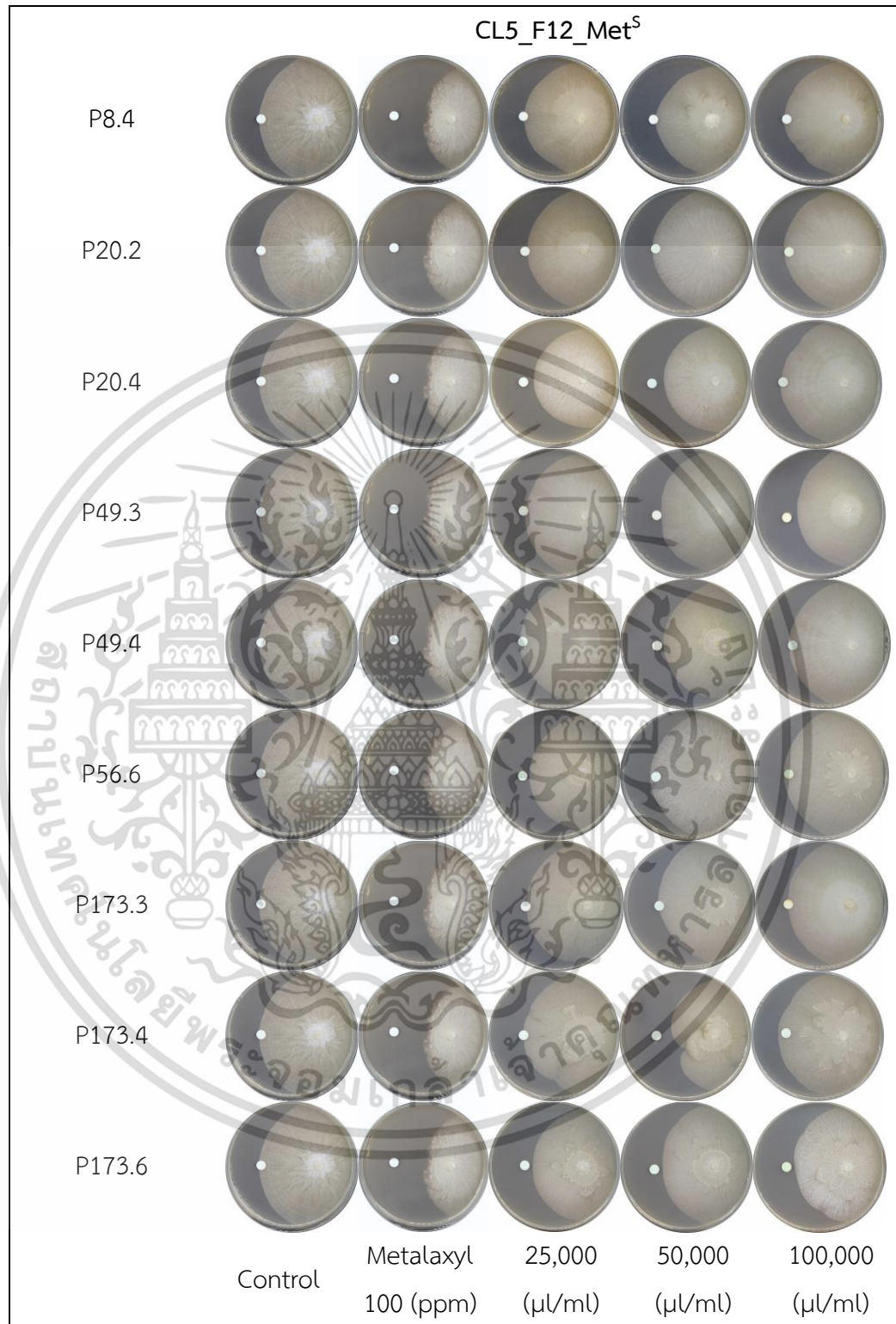


Figure 4.16 Effect of crude extracts from 9 samples of *Piper* spp. on the mycelial growth of CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> *Phytophthora palmivora*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**Figure 4.17** Effect of crude extracts from 9 samples of *Piper* spp. on the mycelial growth of CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> *Phytophthora palmivora*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.8 ทดสอบสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* บนใบทุเรียน

จากการทดลองสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านจำนวน 5 ชนิด คือ P20.4, P56.6, P173.3, P173.4 และ P173.6 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 และ 100,000  $\mu\text{l/ml}$  ต่อการควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* ไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> พบว่าในวันที่ 2 ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน และระดับความเข้มข้นของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> และ CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> ไม่มีปฏิสัมพันธ์ทางสถิติ ในขณะที่ไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ของตัวอย่างสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน และระดับความเข้มข้น มีปฏิสัมพันธ์ทางสถิติต่อการยับยั้งการเกิดโรคบนใบทุเรียนของเชื้อรา *P. palmivora* ทั้งนี้ในวันที่ 4 ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน และระดับความเข้มข้นของทั้ง 4 ไอโซเลท ไม่มีปฏิสัมพันธ์ทางสถิติต่อการยับยั้งการเกิดโรคบนใบทุเรียนของเชื้อรา *P. palmivora* (Table 4.11)

จากการทดลองพบว่าผลของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านในวันที่ 2 ต่อการควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* ของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่ไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.3 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 และ 100,000  $\mu\text{l/ml}$  สามารถควบคุมการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ได้ 100% รองลงมา คือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P56.6 และ P173.4 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{l/ml}$  สามารถควบคุมการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 95.78 และ 88.24% ตามลำดับ และตัวอย่างสารสกัดหยาบ P20.4 และ P173.4 ที่ระดับความเข้มข้น 100,000  $\mu\text{l/ml}$  สามารถควบคุมการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 92.78 และ 93.39% ตามลำดับ ทั้งนี้ผลของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านในวันที่ 4 ต่อการควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* ของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่ไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> มีความแตกต่างทางสถิติ กล่าวคือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.6 ที่ระดับความเข้มข้น 100,000  $\mu\text{l/ml}$  สามารถควบคุมการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 94.45% ได้ดีที่สุดในรองลงมา คือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.3 และ P173.4 ที่ระดับความเข้มข้น 100,000  $\mu\text{l/ml}$  มีสามารถควบคุมการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 91.34% ทั้งนี้ไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.3 ที่ระดับความเข้มข้น 100,000  $\mu\text{l/ml}$  มีสามารถควบคุมการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> ที่ 50.73% ได้ดีที่สุดในรองลงมา

เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm พบว่าในวันที่ 2 สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 100% รองลงมา คือ ไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> และ CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> ที่ 65.80-91.57% นอกจากนี้ในวันที่ 4 สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 90.87% รองลงมา คือ ไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> และ CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> ที่ 61.86-90.13% (Table 4.11 และ Figure 4.18, 4.20, 4.22, 4.24)



**Table 4.11** Effect of crude extracts from 5 samples of *Piper* spp. on leaves after inoculation with 4 isolates of *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.

<i>Piper</i> spp. extracts code	Concentration (µl/ml)	Percent inhibition (%) <sup>1/4</sup>							
		CL5_F1_Met <sup>S</sup>		CL5_F2_Met <sup>S</sup>		CL5_F11_Met <sup>R</sup>		CL5_F12_Met <sup>R</sup>	
		2 days	4 days	2 days	4 days	2 days	4 days	2 days	4 days
metalaxyl	100	91.57	90.13	65.80 <sup>c</sup>	75.55 <sup>d</sup>	72.94	61.86 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	90.87 <sup>a-c</sup>
P20.4	50,000	91.91	88.44	80.01 <sup>a-c</sup>	79.84 <sup>b-d</sup>	60.94	29.74 <sup>bc</sup>	85.82 <sup>b-d</sup>	88.39 <sup>a-c</sup>
	100,000	86.38	88.04	92.78 <sup>ab</sup>	84.13 <sup>a-d</sup>	60.22	19.29 <sup>c</sup>	97.92 <sup>ab</sup>	84.54 <sup>c</sup>
P56.6	50,000	90.14	89.17	95.00 <sup>ab</sup>	89.68 <sup>a-c</sup>	59.65	12.74 <sup>c</sup>	100 <sup>a</sup>	93.70 <sup>a</sup>
	100,000	91.70	86.93	74.79 <sup>dc</sup>	81.17 <sup>b-d</sup>	54.88	22.10 <sup>c</sup>	91.35 <sup>a-d</sup>	88.89 <sup>a-c</sup>
P173.3	50,000	90.57	89.17	100 <sup>a</sup>	78.66 <sup>cd</sup>	66.60	38.20 <sup>a-c</sup>	93.23 <sup>a-c</sup>	88.98 <sup>a-c</sup>
	100,000	93.51	88.66	100 <sup>a</sup>	91.34 <sup>ab</sup>	68.81	50.73 <sup>ab</sup>	82.11 <sup>cd</sup>	88.89 <sup>a-c</sup>
P173.4	50,000	88.36	90.36	88.24 <sup>ab</sup>	84.05 <sup>a-d</sup>	69.53	38.08 <sup>a-c</sup>	100 <sup>a</sup>	88.83 <sup>a-c</sup>
	100,000	81.44	55.66	93.39 <sup>ab</sup>	91.34 <sup>ab</sup>	65.44	29.69 <sup>bc</sup>	79.25 <sup>d</sup>	84.77 <sup>bc</sup>
P173.6	50,000	85.16	90.48	83.17 <sup>a-c</sup>	86.76 <sup>a-d</sup>	64.79	19.11 <sup>c</sup>	97.98 <sup>ab</sup>	91.53 <sup>ab</sup>
	100,000	94.25	88.22	87.62 <sup>a-c</sup>	94.45 <sup>a</sup>	68.08	25.16 <sup>bc</sup>	81.13 <sup>cd</sup>	86.62 <sup>bc</sup>
<i>Piper</i> spp. extracts code (A)		ns	ns	**	*	ns	**	ns	ns
Concentration (B)		ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	*
A*B		ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
CV (%)		82.22	36.93	89.99	47.86	38.75	24.75	101.03	37.03

<sup>1/4</sup>Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same isolate code are significantly different as determined by the least significant difference test at  $p < 0.01$

\* = statistically significant difference at  $P < 0.01$

\*\* = statistically significant difference at  $P < 0.01$

ns = no statistically significant difference

จากการทดลองสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านจำนวน 5 ชนิด คือ P20.4, P56.6, P173.3, P173.4 และ P173.6 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 และ 100,000  $\mu\text{L/ml}$  ต่อการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* ไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> พบว่าในวันที่ 2 ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน และระดับความเข้มข้นของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> และ CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> ไม่มีปฏิสัมพันธ์ทางสถิติ ในขณะที่ไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ของตัวอย่างสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน และระดับความเข้มข้น มีปฏิสัมพันธ์ทางสถิติ ต่อการยับยั้งการเกิดโรคบนใบทุเรียนของเชื้อรา *P. palmivora* ทั้งนี้ในวันที่ 4 ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน และระดับความเข้มข้นของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ไม่มีปฏิสัมพันธ์ทางสถิติ ในขณะที่ไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ของตัวอย่างสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน และระดับความเข้มข้น มีปฏิสัมพันธ์ทางสถิติต่อการยับยั้งการเกิดโรคบนใบทุเรียนของเชื้อรา *P. palmivora* (Table 4.12)

จากการทดลองพบว่าผลของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านในวันที่ 2 ต่อการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* ทั้ง 4 ไอโซเลท มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.4 ทุกความเข้มข้น สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 100% ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P20.4 ทุกความเข้มข้น สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> และ CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 100% และตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.3 ทุกความเข้มข้น สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ที่ 100% ขณะที่ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P56.6 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> และ CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ที่ 97.54 และ 100% ตามลำดับ และตัวอย่างสารสกัด P173.3 ที่ระดับความเข้มข้น 100,000  $\mu\text{L/ml}$  สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 97.54% รองลงมา คือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P20.4 และ P173.3 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 93.90-96.51% ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.6 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ที่ 98.07 และ 98.44% ตามลำดับ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.3 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> ที่ 96.79% และตัวอย่างสารสกัดหยาบ P56.6 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 93.95% ทั้งนี้ผลของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านในวันที่ 4 ต่อการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* ของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P20.4 และ P173.4 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  สามารถป้องกัน

การเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 97.54 และ 100% ได้ดีที่สุด ตามลำดับ รองลงมา คือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P56.6 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 µl/ml สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 93.64 และ 95.59% ตามลำดับ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.3 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 µl/ml สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 93.67% และตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.4 และ P173.6 ที่ระดับความเข้มข้น 100,000 µl/ml สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 95.14% ในขณะที่ CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ กล่าวคือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.4 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 µl/ml สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ที่ 98.15% ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P20.4, P56.6 และ P173.6 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 µl/ml สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ที่ 95.47, 96.66 และ 95.71% ตามลำดับ และตัวอย่างสารสกัดหยาบ P20.4 และ P173.4 ที่ระดับความเข้มข้น 100,000 µl/ml สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ที่ 97.26 และ 95.71% ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm พบว่า ในที่ 2 สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl สามารถยับยั้งการเข้าทำลายได้ทั้ง 4 ไอโซเลท ที่ 100% นอกจากนี้ในวันที่ 4 สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 100% รองลงมา คือ ไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 94.05-98.63% (Table 4.12 และ Figure 4.19, 4.21, 4.23, 4.25)

**Table 4.12** Effect of crude extracts from 5 samples of *Piper* spp. on leaves before inoculation with 4 isolates of *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.

<i>Piper</i> spp. extracts code	Concentration (µl/ml)	Percent inhibition (%) <sup>1/</sup>							
		CL5_F1_Met <sup>S</sup>		CL5_F2_Met <sup>S</sup>		CL5_F11_Met <sup>R</sup>		CL5_F12_Met <sup>R</sup>	
		2 days	4 days	2 days	4 days	2 days	4 days	2 days	4 days
metalexyl	100	100 <sup>a</sup>	98.63 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	95.80 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	94.05 <sup>a</sup>
P20.4	50,000	100 <sup>a</sup>	95.47 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	93.90 <sup>ab</sup>	67.46 <sup>b</sup>	94.40 <sup>ab</sup>	87.60 <sup>cd</sup>
	100,000	100 <sup>a</sup>	97.26 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>	88.54 <sup>dc</sup>	100 <sup>a</sup>	54.36 <sup>b-d</sup>	79.51 <sup>cd</sup>	85.68 <sup>de</sup>
P56.6	50,000	100 <sup>a</sup>	96.66 <sup>ab</sup>	97.54 <sup>a</sup>	95.59 <sup>ab</sup>	88.64 <sup>a-c</sup>	59.48 <sup>bc</sup>	93.95 <sup>ab</sup>	93.64 <sup>ab</sup>
	100,000	86.94 <sup>c</sup>	90.78 <sup>c</sup>	77.02 <sup>b</sup>	85.63 <sup>cd</sup>	79.04 <sup>cd</sup>	37.93 <sup>de</sup>	66.62 <sup>de</sup>	88.07 <sup>b-d</sup>
P173.3	50,000	100 <sup>a</sup>	93.52 <sup>bc</sup>	82.32 <sup>b</sup>	85.22 <sup>cd</sup>	96.51 <sup>ab</sup>	67.52 <sup>b</sup>	94.08 <sup>ab</sup>	93.67 <sup>ab</sup>
	100,000	100 <sup>a</sup>	95.89 <sup>ac</sup>	97.54 <sup>a</sup>	95.14 <sup>ab</sup>	87.19 <sup>b-d</sup>	43.02 <sup>c-e</sup>	91.35 <sup>a-c</sup>	88.07 <sup>b-d</sup>
P173.4	50,000	100 <sup>a</sup>	98.15 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	97.57 <sup>a</sup>	96.79 <sup>ab</sup>	71.45 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	91.91 <sup>a-c</sup>
	100,000	100 <sup>a</sup>	95.89 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>	95.14 <sup>ab</sup>	87.92 <sup>a-d</sup>	59.48 <sup>bc</sup>	100 <sup>a</sup>	86.21 <sup>c-e</sup>
P173.6	50,000	98.44 <sup>ab</sup>	95.71 <sup>ab</sup>	81.25 <sup>b</sup>	79.35 <sup>cd</sup>	98.07 <sup>ab</sup>	61.36 <sup>b</sup>	85.75 <sup>cd</sup>	87.47 <sup>cd</sup>
	100,000	97.23 <sup>b</sup>	94.86 <sup>a-c</sup>	79.02 <sup>b</sup>	81.17 <sup>d</sup>	76.36 <sup>d</sup>	26.50 <sup>de</sup>	71.57 <sup>de</sup>	81.46 <sup>e</sup>
<i>Piper</i> spp. extracts code (A)		**	*	**	**	**	**	**	**
Concentration (B)		**	ns	ns	ns	**	**	**	**
A*B		**	ns	ns	**	ns	ns	*	ns
CV (%)		109.79	64.08	125.08	60.93	90.46	28.03	73.46	32.93

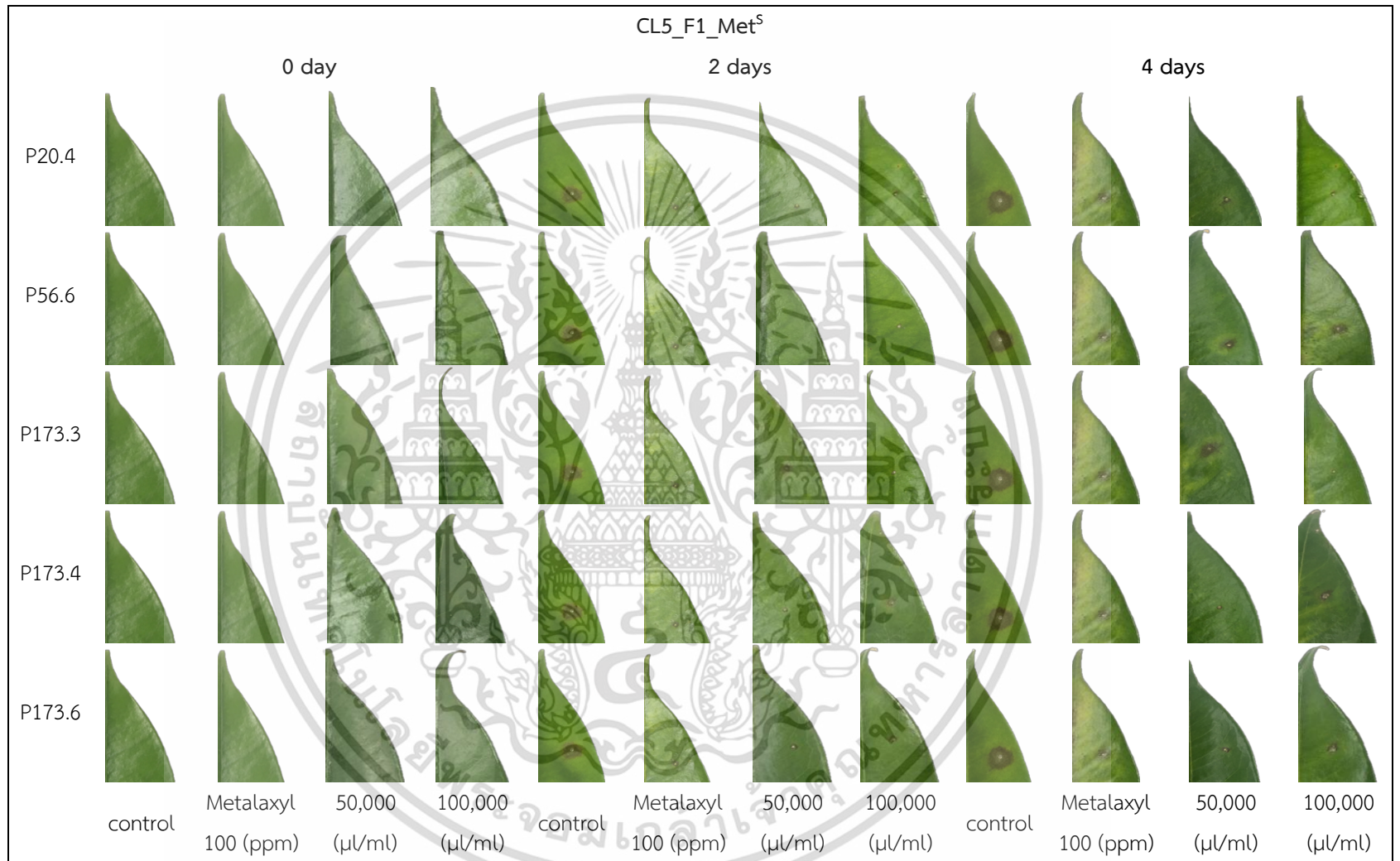
<sup>1/</sup>Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same isolate code are significantly different as determined by least significant difference test at  $p < 0.01$

\* = statistically significant difference at  $P < 0.01$

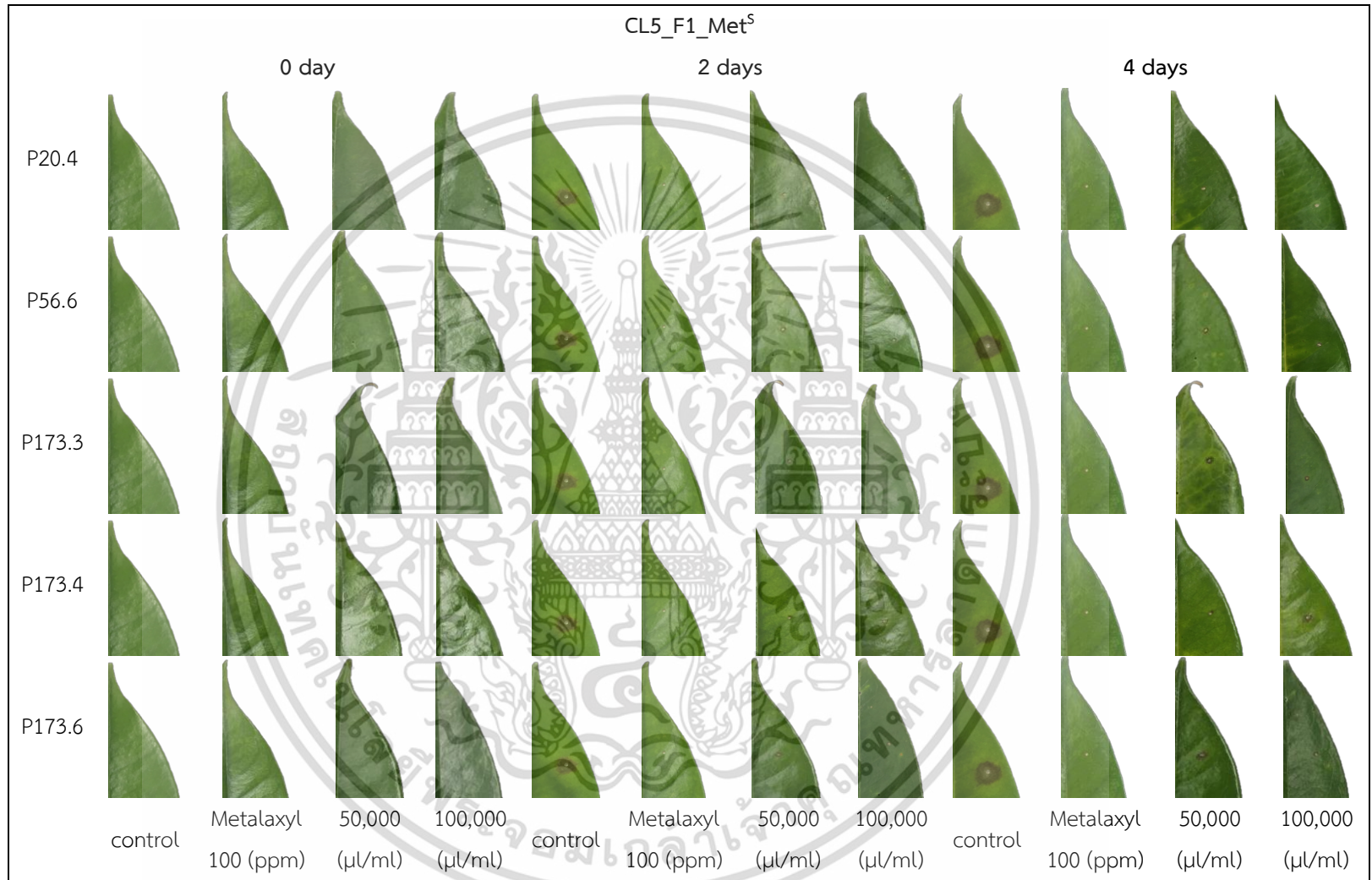
\*\* = statistically significant difference at  $P < 0.01$

ns = no statistically significant difference

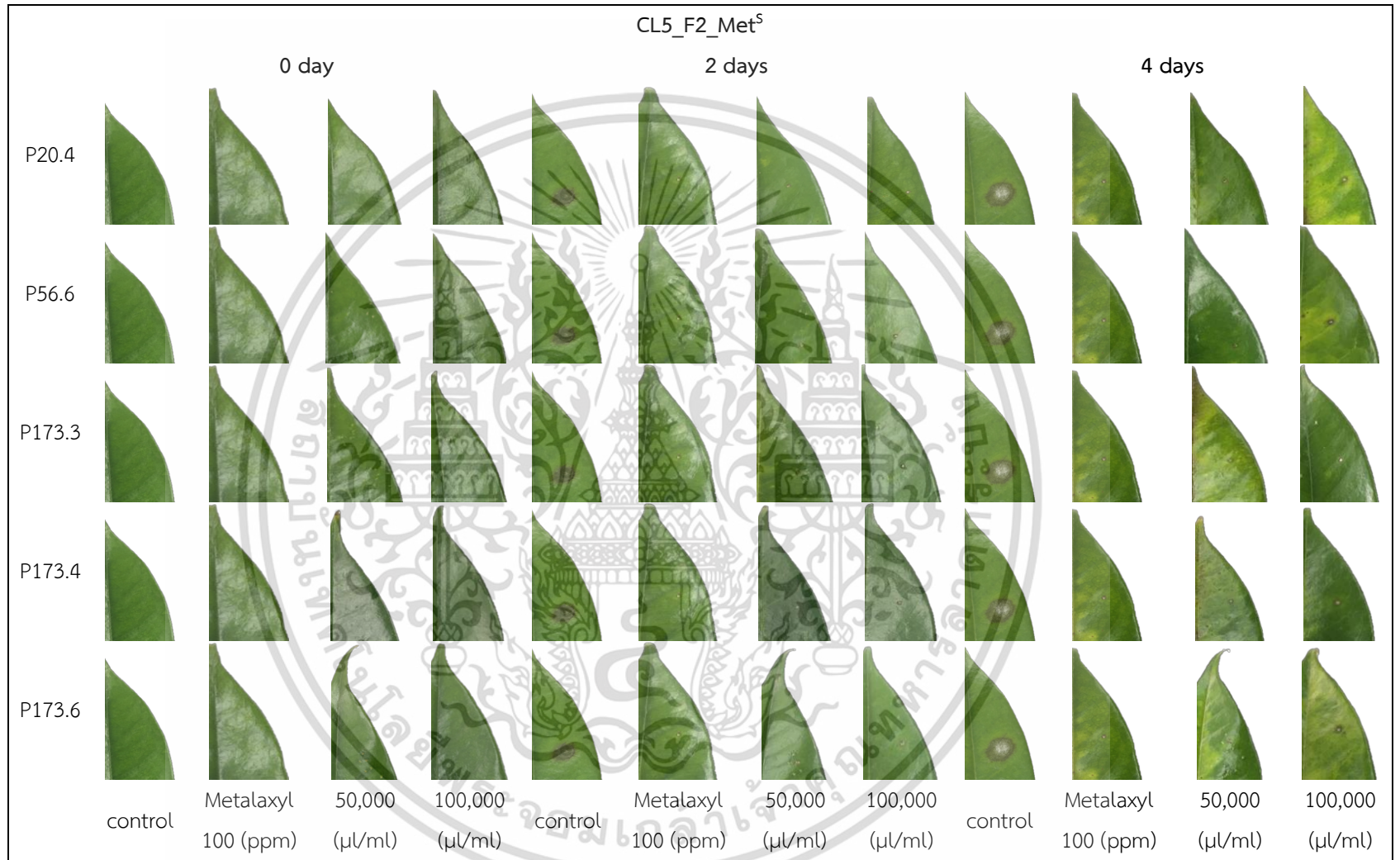
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



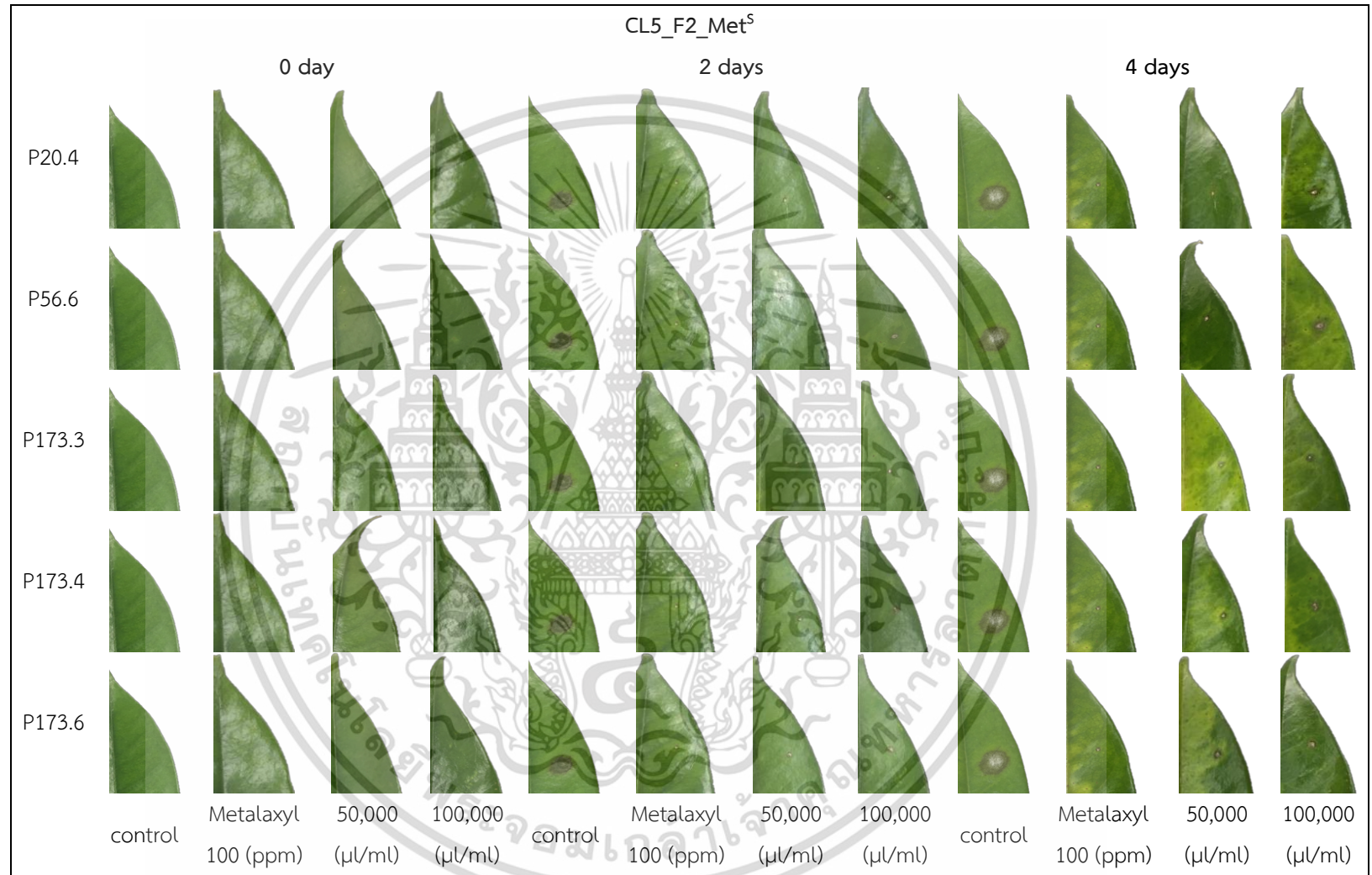
**Figure 4.18** Effect of crude extracts from 5 samples of *Piper* spp. on leaves after inoculation with CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.



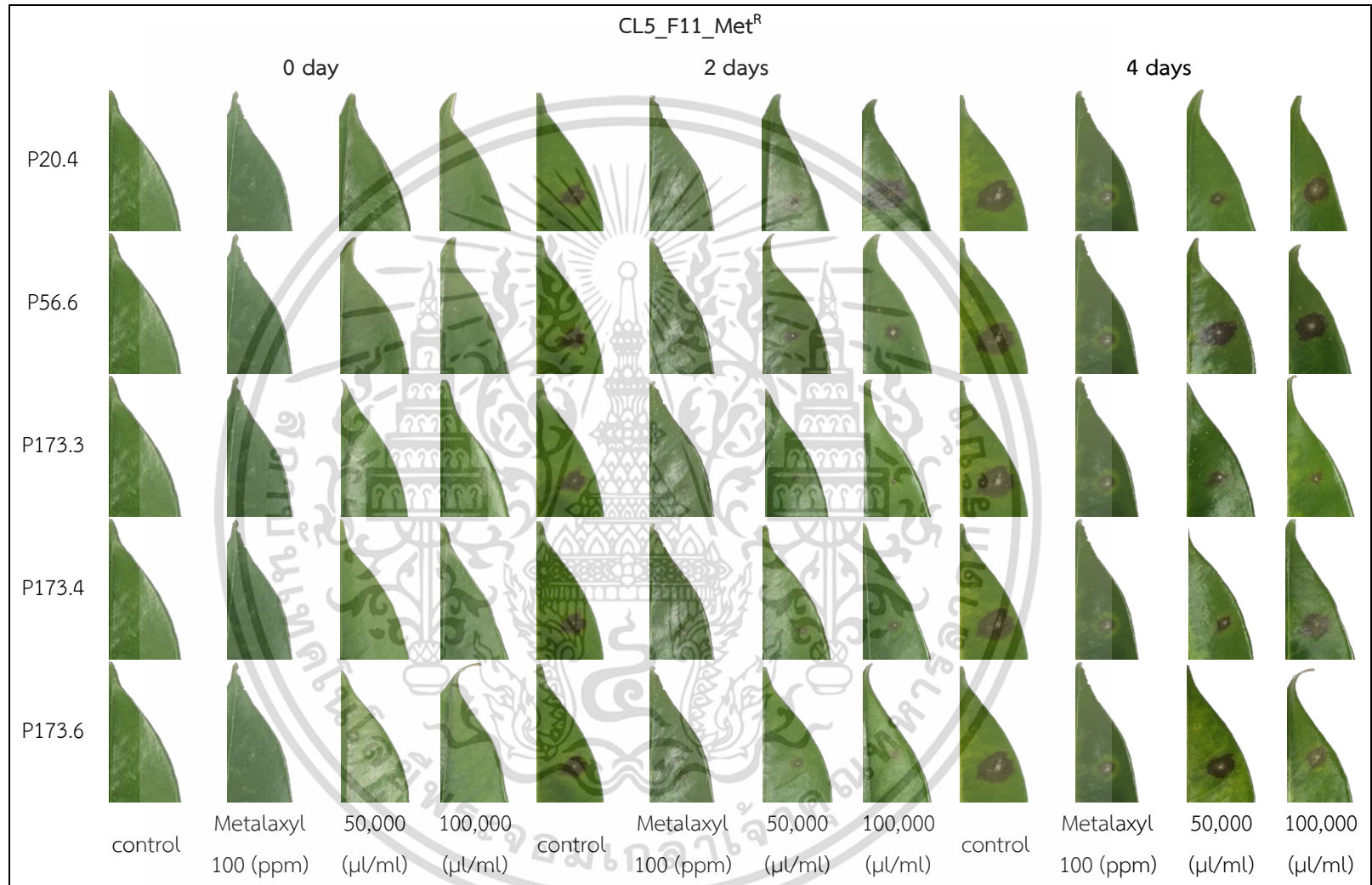
**Figure 4.19** Effect of crude extracts from 5 samples of *Piper* spp. on leaves before inoculation with CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.



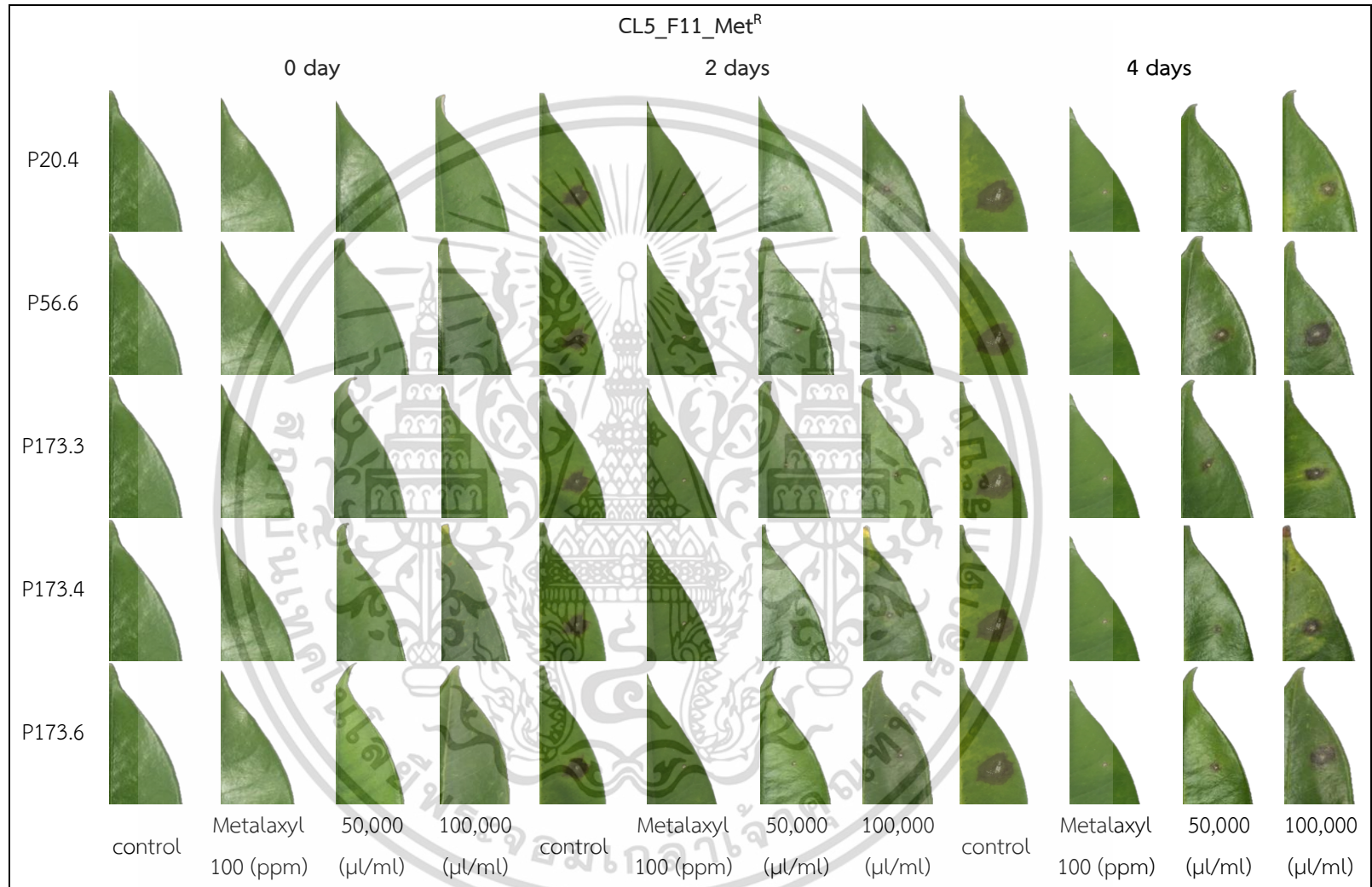
**Figure 4.20** Effect of crude extracts from 5 samples of *Piper* spp. on leaves after inoculation with CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.



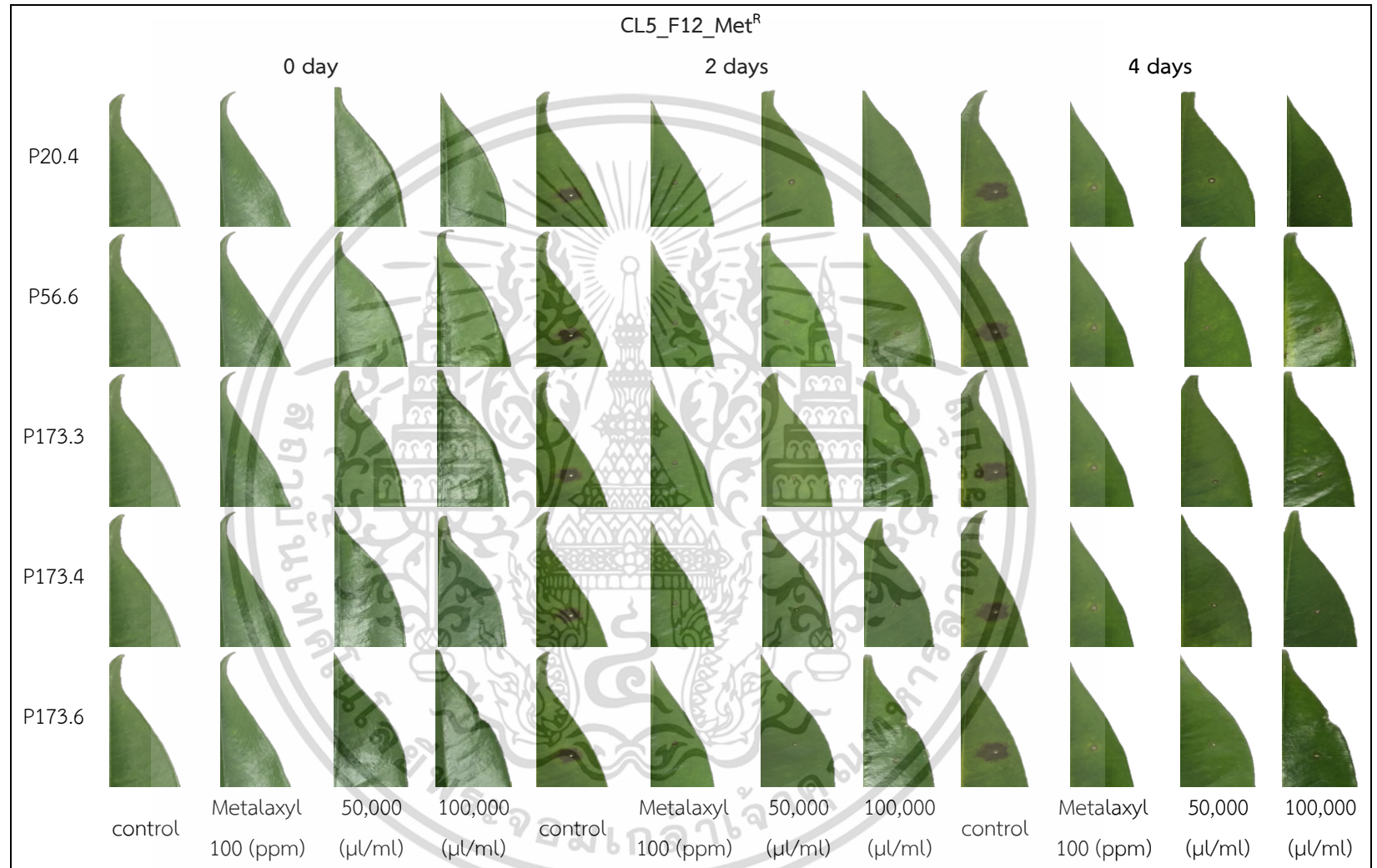
**Figure 4.21** Effect of crude extracts from 5 samples of *Piper* spp. on leaves before inoculation with CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.



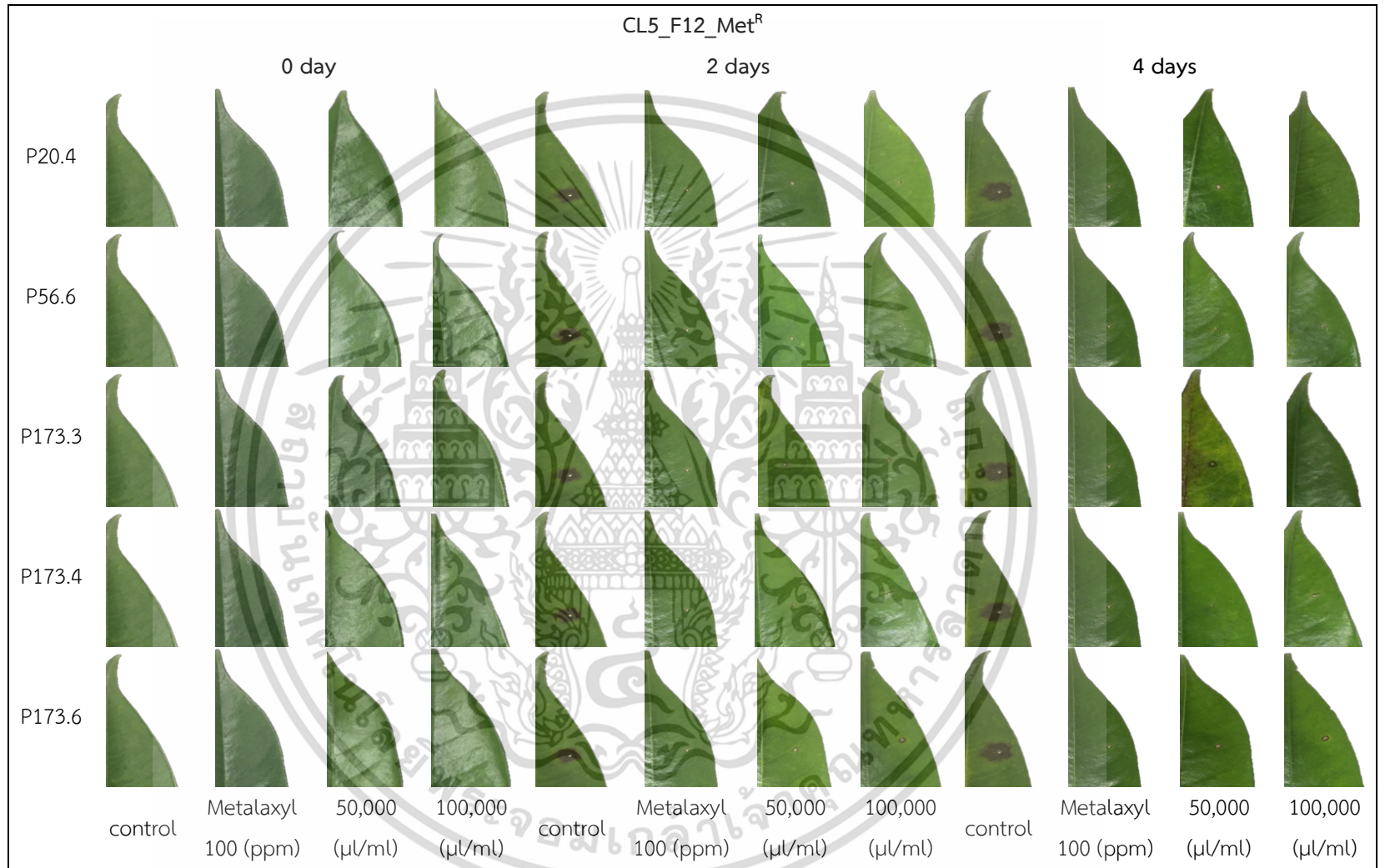
**Figure 4.22** Effect of crude extracts from 5 samples of *Piper* spp. on leaves after inoculation with CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.



**Figure 4.23** Effect of crude extracts from 5 samples of *Piper* spp. on leaves before inoculation with CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.



**Figure 4.24** Effect of crude extracts from 5 samples of *Piper* spp. on leaves after inoculation with CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.



**Figure 4.25** Effect of crude extracts from 5 samples of *Piper* spp. on leaves before inoculation with CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.

จากการทดสอบสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *P.palmivora* ที่ระดับความเข้มข้น 25,000, 50,000 และ 100,000 ppm ต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อรา *P.palmivora* สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4.13

**Table 4.13** Summary the effect of crude extracts from piperaceous on the mycelial growth of 4 isolates of *Phytophthora palmivora*.

<i>Piper</i> spp. extracts code	Concentration ( $\mu\text{L/ml}$ )	sensitive		resistant	
		CL5_F1_Met <sup>S</sup>	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	CL5_F12_Met <sup>R</sup>
metalaxyl	100 ppm	×	✓	×	✓
สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเฮกเซนจากใบพลูอาจารย์กอง	25,000	×	×	×	×
	50,000	×	✓	×	×
	100,000	×	✓	×	×
สารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทจากใบต้อ	25,000	×	✓	×	×
	50,000	×	×	×	×
	100,000	×	×	×	×
สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเฮกเซนจากใบต้อ	25,000	×	✓	×	×
	50,000	×	✓	×	×
	100,000	×	✓	×	×
สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากลำต้นสะค้านดง	25,000	×	✓	×	×
	50,000	×	✓	×	×
	100,000	×	✓	×	×

Table 4.13 Continues.

<i>Piper</i> spp. extracts code	Concentration ( $\mu$ l/ml)	sensitive		resistant	
		CL5_F1_Met <sup>S</sup>	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	CL5_F12_Met <sup>R</sup>
metalaxyl	100 ppm	×	✓	×	✓
	25,000	×	✓	×	×
สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเฮกเซนจากใบสะค้านดง	50,000	×	✓	×	×
	100,000	×	✓	×	×
	25,000	×	×	×	×
สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากลำต้นดีปาลี	50,000	✓	×	×	×
	100,000	×	×	×	×
สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากลำต้นพริกไทย	25,000	×	×	×	×
ก้านยาว	50,000	×	×	×	×
	100,000	×	×	×	×
	25,000	×	×	×	×
สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเฮกเซนจากใบพริกไทยก้านยาว	50,000	×	×	×	×
	100,000	×	×	×	×
	25,000	×	×	×	×
สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากใบพริกไทย	50,000	×	×	×	×
ก้านยาว	100,000	×	×	×	×

✓ = Percent inhibition on fungal growth at  $\geq$  50%; × = Percent inhibition on fungal growth at < 50 %

จากการทดลองสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านที่ระดับความเข้มข้น 50,000 และ 100,000  $\mu\text{l/ml}$  ต่อการควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* บนใบทุเรียน สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4.14

**Table 4.14** Summary the effect of crude extracts from 5 samples of piperaceous on leaves after inoculation with 4 isolates of *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.

<i>Piper</i> spp. extracts code	Concentration ( $\mu\text{l/ml}$ )	sensitive		resistant	
		CL5_F1_Met <sup>S</sup>	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	CL5_F12_Met <sup>R</sup>
metalaxyl	100 ppm	✓	✓	✓	✓
สารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทจากใบต้อ	50,000	✓	✓	✗	✓
	100,000	✓	✓	✗	✓
สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากลำต้น ดีป्ली	50,000	✓	✓	✗	✓
	100,000	✓	✓	✗	✓
สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากลำต้น พริกไทยก้านยาว	50,000	✓	✓	✗	✓
	100,000	✓	✓	✗	✓
สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเฮกเซนจากใบพริกไทย ก้านยาว	50,000	✓	✓	✗	✓
	100,000	✗	✓	✗	✓
สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากใบ พริกไทยก้านยาว	50,000	✓	✓	✗	✓
	100,000	✓	✓	✗	✓

✓ = Percent inhibition on leaves after inoculation with *Phytophthora palmivora* on wounded leaves. at  $\geq 50\%$

✗ = Percent inhibition on leaves after inoculation with *Phytophthora palmivora* on wounded leaves at  $< 50\%$

จากการทดลองสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านที่ระดับความเข้มข้น 50,000 และ 100,000  $\mu\text{l/ml}$  ต่อการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* บนใบทุเรียน สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4.15

**Table 4.15** Summary the Effect of crude extracts from 5 samples of piperaceous on leaves before inoculation with 4 isolates of *Phytophthora palmivora* on wounded leaves for 4 days.

<i>Piper</i> spp. extracts code	Concentration ( $\mu\text{l/ml}$ )	sensitive		resistant	
		CL5_F1_Met <sup>S</sup>	CL5_F2_Met <sup>S</sup>	CL5_F11_Met <sup>R</sup>	CL5_F12_Met <sup>R</sup>
metalaxyl	100 ppm	✓	✓	✓	✓
สารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทจากใบต้อ	50,000	✓	✓	✓	✓
	100,000	✓	✓	✓	✓
สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากลำต้นตีปาลี	50,000	✓	✓	✓	✓
	100,000	✓	✓	✗	✓
สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากลำต้นพริกไทย ก้านยาว	50,000	✓	✓	✓	✓
	100,000	✓	✓	✗	✓
สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเฮกเซนจากใบพริกไทยก้านยาว	50,000	✓	✓	✓	✓
	100,000	✓	✓	✓	✓
สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากใบพริกไทย ก้านยาว	50,000	✓	✓	✓	✓
	100,000	✓	✓	✓	✓

✓ = Percent inhibition on leaves before inoculation with *Phytophthora palmivora* on wounded leaves. at  $\geq 50\%$

✗ = Percent inhibition on leaves before inoculation with *Phytophthora palmivora* on wounded leaves at  $< 50\%$

## บทที่ 5

### วิจารณ์ผลการทดลอง

#### 5.1 แยก เก็บรวบรวม และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคทุเรียน

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียนจากแปลงปลูกทุเรียนของเกษตรกรในเขตพื้นที่ ตำบลเขาไชยราช อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร สามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์จากผลทุเรียน ได้จำนวน 4 ไอโซเลท จัดจำแนกเป็นเชื้อราสายพันธุ์ *P. palmivora* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ เรวัตม์ และคณะ (2562), Drenth and Guest (2004) และ Suksiri *et al.* (2018) รายงานว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. palmivora* ที่เข้าทำลายทุเรียนในประเทศไทย มีความผันแปรของลักษณะทางสัณฐานวิทยาค่อนข้างมาก ลักษณะโคโลนีแบบ radiate, stellate และ chrysanthemum มีความหลากหลาย มีการสร้าง sporangium หลากรูปแบบ เช่น ovoid, ellipsoid, obpyriform, ovoid- obpyriform, spherical และ pyriform พบการสร้าง chlamydospore รูปร่างค่อนข้างกลม และยังสามารถเข้าทำลายพืชได้ เช่น โกโก้ ยางพารา พริกไทย ปาล์ม น้ำมัน ส้ม และมะนาว (Gallegly and Hong, 2008; Das *et al.*, 2015; Torres-londono, 2016) จากผลการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างทางลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. palmivora* ทั้ง 4 ไอโซเลท

#### 5.2 การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

จากการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) พบว่า การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS rDNA โดยใช้ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS6 มีขนาดชิ้นส่วนของดีเอ็นเอประมาณ 800 คู่เบส และเมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาจาก BLAST จากฐานข้อมูลของ GenBank พบว่า เชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลท มีความเหมือนกับเชื้อรา *P. palmivora* 100% ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ วาสิณี และคณะ (2560) และ Kongtragoul *et al.* (2021) รายงานว่า การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ด้วยเทคนิค ITS rDNA โดยใช้ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาจาก BLAST จากฐานข้อมูลของ GenBank พบว่า เชื้อรา *Phytophthora* sp. มีความคล้ายกับเชื้อรา *P. palmivora* นอกจากนี้ Cooke *et al.* (2000) ได้ทำการตรวจสอบสายพันธุ์ของเชื้อรา *Phytophthora* ด้วยเทคนิค ITS rDNA พบว่าสายพันธุ์ของเชื้อรา *Phytophthora* จัดออกเป็น 3 กลุ่ม คือ *Pythium*, *Peronospora* และ *Halophytophthora* ทั้งนี้ยังพบรายงานที่เชื้อรา *P. palmivora* สามารถก่อให้เกิดความเสียหายต่อประเทศที่ปลูกทุเรียน เช่น ออสเตรเลีย,

ฟิลิปปินส์, อินโดนีเซีย, เวียดนาม และมาเลเซีย (Drenth and Guest, 2004; Abad and Cruz, 20013; Azni *et al.*, 2017; Sundram and Intan-Nur, 2017; Maizatul-Suriza *et al.*, 2019)

### 5.3 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* บนต้นกล้าทุเรียน

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนต้นกล้าทุเรียน จำนวน 4 ไอโซเลท พบว่าเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถก่อโรคบนต้นกล้าทุเรียน หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 5-10 สัปดาห์ ทุกไอโซเลทก่อให้เกิดโรค (DI) 100% โดยมีระดับความรุนแรงของโรค (DSI) เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 10 สัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ เบ็ญจมาศ (2542), Vawdrey *et al.* (2005) และ Soytong (2010) ที่ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. palmivora* บนต้นกล้าทุเรียนโดยการราดลงในดินด้วย sporangial suspension พบว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถก่อให้เกิดโรค และสร้างความรุนแรงในการเกิดโรคทำให้ต้นกล้าแสดงอาการผิดปกติ เช่น รากเน่าเป็นสีน้ำตาล ใบเหลือง และเหี่ยว หรือต้นกล้าทุเรียนตาย นอกจากนี้ยังพบว่าการจุ่มรากใน sporangial suspension ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. สามารถก่อให้เกิดโรค และสร้างความรุนแรงในพืชตระกูลส้มได้ (ชัยวัฒน์ และคณะ, 2560; Hung *et al.*, 2015; Boughalleb-M'hamdi *et al.*, 2018)

### 5.4 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* บนผลทุเรียน

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. palmivora* จำนวน 4 ไอโซเลท บนผลทุเรียน พบว่าทุกไอโซเลท สามารถก่อให้เกิดโรคบนผลทุเรียนได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Azni *et al.* (2019) ที่ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. palmivora* สายพันธุ์มาเลเซีย ฝักโกโก้ พบว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถเข้าทำลายผลทุเรียน หลังจากปลูกเชื้อ 3 วัน เริ่มแสดงอาการจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก และหลังจากปลูกเชื้อ 6 วัน พบบาดแผลขยายใหญ่ขึ้นจากสีน้ำตาล เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำเข้ม และพบเส้นใยสีขาวบริเวณบาดแผล นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *P. palmivora* ที่เป็นสาเหตุโรคทุเรียน สามารถก่อให้เกิดโรค และสร้างความรุนแรงกับพืชชนิดอื่นได้ เช่น ฝักโกโก้ ยางพารา และปาล์มน้ำมัน (Azni *et al.*, 2019; Latifah *et al.*, 2018; Solpot and Cumagum, 2021)

## 5.5 คัดเลือกสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* โดยวิธี paper disc diffusion

จากการคัดเลือกสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านจำนวน 36 ตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{V/ml}$  มีจำนวน 9 ตัวอย่าง ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Silva and Bastos (2007) และ Suprapta *et al.* (2008) พบว่าพืชสายพันธุ์ *Piper betle* ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.1% (w/v) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* และน้ำมันหอมระเหยจาก *Piper callosum*, *Piper marginatum* และ *Piper enckea* ที่ความเข้มข้น 0.75  $\mu\text{V/ml}$  และ 1.0  $\mu\text{V/ml}$  มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย และการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Crinipellis pernicioso*, *P. palmivora* และ *P. capsici* สามารถการยับยั้งได้ 100% และรายงานของ Varma *et al.* (2009) รายงานว่า ที่ระดับความเข้มข้น 100, 150 และ 200  $\mu\text{g}$  สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora capsici* ทั้งนี้ยังพบรายงานของ Janthong *et al.* (2021) รายงานว่า สารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน ได้แก่ *P. betle*, *Piper retrofractum*, และ *Piper griffithii* ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/ml ด้วยวิธี paper disc diffusion มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* และ *C. gloeosporioides* นอกจากนี้ธัญญวาริน และคณะ (2560) รายงานว่า สารสกัดหยาบจากพลู ที่ระดับความเข้มข้น 100,000 ppm มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *Penicillium citrinum* และ *Aspergillus flavus var. flavus* ที่แยกได้จากยางพาราแผ่น ทั้งนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhae* (Datta *et al.*, 2011; Khan *et al.*, 2013; Sreejai *et al.*, 2019) เนื่องจากสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านมีสารออกฤทธิ์ ประกอบด้วยสาร alkaloids, tannins, quinones, coumarins, phenolic compounds, phytoalexin, chalcone, eugenol, pinene และ flavonoids (Dyer *et al.*, 2004; Aravind *et al.*, 2008; Ruiz *et al.*, 2011; Castro *et al.*, 2015; Martín-Rodríguez *et al.*, 2015; Kaypetch and Thaweboon, 2018; Janthong *et al.*, 2021)

## 5.6 ทดสอบสารสกัดจากพืชสกุลสะค้าน และประเมินประสิทธิภาพต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* โดยวิธี paper disc diffusion

จากการทดสอบสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านจำนวน 9 ตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 25,000 50,000 และ 100,000  $\mu\text{L/ml}$  พบว่า ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P173.4 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup>, CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวนิดา และคณะ (2565) พบว่า สารสกัดหยาบจากชะพลู ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 20, 50 และ 100 mg/ml มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ด้วยวิธีการ agar well diffusion โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเชิงบวก คือ สาร mancozeb ที่ระดับความเข้มข้น 2 mg/ml และจากรายงานของวรัญญ และปราณี (2556) รายงานว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพร 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือ metalaxyl และ DMSO สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ได้ถึง 100% เมื่อเทียบเท่ากับการใช้สาร metalaxyl ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ทั้งนี้ยังพบรายงานของ Silva and Bastos (2007) และ Suprpta *et al.* (2008) รายงานว่า พืชสายพันธุ์ *Piper betle* ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.1% (w/v) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* และน้ำมันหอมระเหยจาก *Piper callosum*, *Piper marginatum* และ *Piper enckea* ที่ความเข้มข้น 0.75  $\mu\text{L/ml}$  และ 1.0  $\mu\text{L/ml}$  มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย และการออกสปอร์ของเชื้อรา *Crinipellis pernicioso*, *P. palmivora* และ *P. capsici* สามารถการยับยั้งได้ 100% นอกจากนี้พบรายงานของปริศนา, (2560) และ Janthong *et al.* (2021) รายงานว่า สารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน ที่ระดับความเข้มข้น 30, 40, 50 และ 100 mg/ml ด้วยวิธี paper disc diffusion มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum capsica*, *C. gloeosporioides* และ *P. palmivora* ในขณะที่ลลิตา และคณะ (2558) รายงานว่า ฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากพลู ที่ระดับความเข้มข้น 4.8, 19.5, 39, 78.1, 156.2, 312.5, 625, 1,250, 2,500, 5,000 และ 10,000  $\mu\text{g/ml}$  สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้สูงสุดโดยมีค่าดัชนีการยับยั้งระหว่าง 38.89-66.67% ทั้งนี้พบว่าสารสกัดจากพลูมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Candida* spp., และ *Sclerotium rolfsii* รวมทั้งเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovra* (ปิยะวดี และสุมนา, 2550; สุธานันท์, 2550; วิชา และศศิธร, 2553; Kaypetch and Thaweboon, 2018)

## 5.7 ทดสอบสารออกฤทธิ์จากพืชสกุลสะค้านต่อการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* บนใบทุเรียน

จากการทดสอบสารออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านจำนวน 5 ตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 และ 100,000  $\mu\text{L/ml}$  ต่อการควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* พบว่าลักษณะอาการการเข้าทำลายหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 2 วัน ใบเริ่มมีจุดฉ่ำน้ำเล็กๆ และหลังจากวางสารสกัดหยาบเพื่อควบคุมเชื้อราเป็นเวลา 4 วัน บาดแผลไม่มีการขยายเพิ่มขึ้น ซึ่งสารสกัดหยาบจำนวน 3 ตัวอย่าง คือ P173.3, P173.4 และ P173.6 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อราได้ มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้การทดสอบสารออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านต่อการป้องกันกำจัดการเข้าทำลายของเชื้อรา พบว่าลักษณะอาการหลังจากวางสารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้ววางเชื้อรา *P. palmivora* เชื้อราไม่สามารถเข้าทำลายใบทุเรียนได้ ซึ่งสารสกัดหยาบทั้ง 5 ตัวอย่าง มีประสิทธิภาพยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อราได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ในการควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของทุกไอโซเลทได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และในการป้องกันกำจัดการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของทุกไอโซเลท ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ของทุกไอโซเลท ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Mongkol et al. (2016) รายงานว่า สารสกัดจากใบ *Piper betle*, *Piper ribesoides* และเมล็ด *Piper nigrum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย MeOH และ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ซึ่งพบสารที่สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา ได้แก่ essential oils, alkaloids, saponins, terpenes, flavonoids, peptides และ proteins พบว่าสารสกัดจากใบและเมล็ดจากพืชสกุลสะค้านที่ระดับความเข้มข้น 1,000  $\mu\text{L/ml}$  มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ทั้งนี้ยังพบรายงานของ Janthong et al. (2021) รายงานว่า สารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน ได้แก่ *P. betle*, *Piper retrofractum*, และ *Piper griffithii* ที่สกัดด้วย ethyl acetate และ ethanol ซึ่งพบสารที่สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา ได้แก่ alkaloids, tannins, quinones, coumarins, phenolic compounds และ phytoalexin พบว่าสารสกัดจากพืชสกุลสะค้านที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* และ *C. gloeosporioides* และยังพบสารสกัดหยาบจากพุดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate, acetone, ethanol 95% และ dichloromethane ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus*, *C. gloeosporioides* และ *Penicillium* sp. (วนัสนันท์ และพิทยา, 2548; ปิยะวดี และสุมนา, 2550) นอกจากนี้ยังพบรายงานของ Silva and Bastos (2007) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจาก *Piper callosum* และ *Piper enckea* ที่ความเข้มข้น 0.75  $\mu\text{L/mL}$  และ 1.0  $\mu\text{L/mL}$  มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย *P. palmivora* ได้ 100% และยังสอดคล้องกับรายงานของวรัญญู และ

ปราณี (2556) รายงานว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพร 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกันเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือ metalaxyl และ DMSO สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ได้ถึง 100% เมื่อเทียบเท่ากับการใช้สาร metalaxyl ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ทั้งนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhae* (Datta *et al.*, 2011; Khan *et al.*, 2013; Sreejai *et al.*, 2019)

ทั้งนี้พบว่าสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm (a.i. 25% WP) สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ทุกไอโซเลท เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ได้ทำบาดแผลก่อนและหลังวางเชื้อ โดยใช้วิธีการหยดสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl บนบาดแผลซึ่งทำให้ผลยับยั้งกับเชื้อโดยตรง จึงทำให้การทดลองครั้งนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* แต่อย่างไรก็ตามอัตราแนะนำที่ใช้ในแปลงปลูก คือ 60 g/น้ำ 20 L (750 ppm a.i.) ซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป

## บทที่ 6

### สรุปผลการทดลอง

จากการแยกเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่าของทุเรียน ได้จำนวน 4 ไอโซเลท คือ CL5\_F1, CL5\_F2, CL5\_F11 และ CL5\_F12 และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 agar และ CA agar สามารถแบ่งลักษณะโคโลนีที่พบได้ 2 แบบ ได้แก่ แบบ radiate และ stellate มีการสร้าง sporangium 2 แบบ คือ ellipsoid และ ovoid และพบการสร้าง chlamydospore และทดสอบความไวต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl พบว่าไอโซเลท CL5\_F1 และ CL5\_F2 อ่อนแอต่อ metalaxyl (Met<sup>S</sup>) ส่วนไอโซเลท CL5\_F11 และ CL5\_F12 ต้านทานต่อ metalaxyl (Met<sup>R</sup>) จากนั้นทำการศึกษา ลักษณะทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยการใช้ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS6 มีขนาดชิ้นส่วนของดีเอ็นเอประมาณ 800 คู่เบส และเมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาจาก BLAST ที่ได้จากฐานข้อมูลของ GenBank พบว่าทั้ง 4 ไอโซเลท มีความเหมือนกับเชื้อรา *P. Palmivora* 100% และทุกไอโซเลทก่อให้เกิดโรคบนต้นกล้าทุเรียน และบนผลทุเรียน

จากผลของการคัดเลือกสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านจำนวน 36 ตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 µl/ml ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* 4 ไอโซเลท ด้วยวิธี paper disc diffusion พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเฮกเซนจากใบพลูอาจารย์ก่อง (P8.4), ตือ (P20.4), สะค้านดง (P49.4), พริกไทย (P173.4) สารสกัดหยาบที่สกัดจากเอทานอลจากลำต้นสะค้านดง (P49.3), ดีปลี (P56.6), พริกไทยก้านยาว (P173.3) และจากใบพริกไทยก้านยาว (P173.6) และสารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลอะเซเตท จากใบตือ (P20.2) ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 µl/ml มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* มากกว่า 50% อยู่ที่ 50.41-67.21% จากการคัดเลือกสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้านจำนวน 9 ตัวอย่าง พบว่าสารสกัดหยาบ P56.6 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 µl/ml มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ที่ 27.84% ได้ดีที่สุด สารสกัดหยาบ P8.4 ที่ระดับความเข้มข้น 100,000 µl/ml มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 68.12% ได้ดีที่สุด สารสกัดหยาบ P173.4 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 µl/ml มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> ที่ 47.40% และไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 34.37% ได้ดีที่สุด ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 64.61% ได้ดีที่สุด

นอกจากนี้ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลสะค้าน P20.4, P56.6, P173.3, P173.4 และ P173.6 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 และ 100,000  $\mu\text{L/ml}$  ต่อการควบคุมและป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท บนใบทุเรียน เป็นเวลา 4 วัน พบว่าสารสกัดหยาบทั้ง 5 ชนิด ทุกความเข้มข้น สามารถควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. palmivora* ไอโซเลท CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ได้ 88.04-90.48% และตัวอย่างสารสกัดหยาบ P56.6 ที่ระดับความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  สามารถควบคุมการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 93.70% ในขณะที่สารสกัดหยาบ P173.3 และ P173.6 ที่ระดับความเข้มข้น 100,000  $\mu\text{L/ml}$  สามารถควบคุมการเข้าทำลายไอโซเลท CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> ที่ 50.73% และ CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 94.45% ได้ดีที่สุด ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเข้าทำลายทั้ง 4 ไอโซเลท ที่ 61.86-90.87% ทั้งนี้ ตัวอย่างสารสกัดหยาบ P20.4 และ P173.3 ที่ความเข้มข้น 50,000  $\mu\text{L/ml}$  สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 100% และไอโซเลท CL5\_F12\_Met<sup>R</sup> ที่ 93.67% ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดหยาบ P173.4 สามารถป้องกันการเข้าทำลายได้ 2 ไอโซเลท คือ CL5\_F11\_Met<sup>R</sup> และ CL5\_F1\_Met<sup>S</sup> ที่ 71.45% และ 98.15% ได้ดีที่สุด ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของไอโซเลท CL5\_F2\_Met<sup>S</sup> ที่ 100%

## บรรณานุกรม

- กนกนาฏ เรืองวิเศษ. 2540. “การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* เพื่อควบคุมโรครากเน่าของทุเรียนที่เกิดจาก *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. ในสภาพสวนของเกษตรกร.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 135 หน้า
- กลุ่มวิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์ดินและน้ำพื้นที่พีชไร่. 2548. “ยางพารา.” กรมพัฒนาที่ดิน. กรุงเทพฯ. 127 หน้า.
- เกศสุคนธ์ มณีวรรณ และ นิตยา คอนสาร. 2561. “การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบพลูด้วยคลื่นไมโครเวฟ.” วารสารแก่นเกษตร. 46(1) : 1230-1235
- ชัยวัฒน์ โตอนันต์, โรเบิร์ต เจมส์ แมกกอฟเวิน, รัชดาวรรณ ชีวังกูร, เกษม สร้อยทอง และฐิติมา วงษ์วานม. 2562. “โครงการวิจัยเรื่องการจัดการโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานอย่างแม่นยำ และยั่งยืนในจังหวัดเชียงใหม่.” คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 119 หน้า.
- เดือนใจ บุญ-หลง, สุชาติ วิจิตรานนท์ และ แสงมณี ชิงดวง. 2545. “โรคไม้ผล.” สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร. 120 หน้า.
- ทวี เก่าศิริ. 2545. “Phytophthora ราศัตรูพืชที่สำคัญ.” [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล <https://www.thaigreenagro.com/phytophthora-ราศัตรูพืชที่สำคัญ/>. : (23 มีนาคม 2565).
- ธัญญ์วาริน ชูวัฒนวรกุล, สมจินตนา ทวีพานิชย์, พิษญาภรณ์ สุวรรณภูฏ และสายสมร ล้าลอง. 2560. “ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของ เชื้อรา *Penicillium citrinum* *Aspergillus flavus* var. *flavus* และ *Aspergillus tamarisii* ที่แยกได้จากยางพาราแผ่น.” วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 45(2) : 276-286.
- นิพนธ์ วิสารทานนท์ และ จักรพงษ์ เจริญศิริ. 2541. “โรคไม้ผล.” กรมวิชาการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 ฝ่ายวิเคราะห์และบริการ. จันทบุรี. 74 หน้า.
- นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2542. “โรคไม้ผลเขตร้อนและการป้องกันกำจัด.” บริษัท เจ फिल्म โปรเซส จำกัด, กรุงเทพมหานคร. 172 หน้า.
- เบญจมาศ บรรณเจตประดิษฐ์. 2542. “การคัดเลือกสายพันธุ์ทุเรียนพื้นเมืองภาคใต้ของประเทศไทยที่ต้านทานต่อเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Bult.) Bult. ด้วยวิธีทดสอบโรคและไอโซไซม์.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ปริศนา วิริยะจิตสมบูรณ์. 2560. โครงการย่อยในชุดโครงการ “การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสมุนไพรในสกุลสะค้านเพื่อพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์.” โครงการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มศักยภาพเชิงบูรณาการเพื่อการแข่งขัน.

- ปัญจมา กวางดี๊ด และสมศิริ แสงโชติ. 2545. “การจัดการโรคผลเน่าของทุเรียน (*Durio zibethinus* Murr.) ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl.” **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.** 33 : 45-48.
- ปิยะวดี เจริญวัฒน์ และสุนณา ปานสมุทร. 2550. “การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดจากสะค้านและพลูในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบางชนิด.” มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
- พรพิมล อธิปัญญาคม, สุณิรัตน์ สีมะเดื่อ, ชนินทร ดวงสะอาด และอมรรักษ์ คัดใจเดียว. 2562. “การศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าและรากเน่าของมันสำปะหลังโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลทางชีวโมเลกุล.” **วารสารวิชาการเกษตร.** 37(3) : 307-319.
- ภัสจันท์ หิรัญ, อรพิน เกิดชูชื่น และณัฐรา เลหาหลุจิดต์. 2552. “ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย 4 ชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus* spp.” **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.** 40(3) (พิเศษ) : 45-48.
- มณิรัตน์ คุณาพิทักษ์ธรรม. 2561. “การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเกิดโรคของ เชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนในประเทศไทย.” **ในรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์.** คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี. 41 หน้า.
- ยุพิน ทศนวิจิตรพันธ์. 2558. “ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสะค้านและสะค้านแดง.” **วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี.** 88 หน้า.
- รัชณี บุญเรือง. 2552. “การยับยั้งก่อโรคใบร่วงบนต้นยางพาราด้วยสารสกัดจากพืช.” **วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต.** มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. กรุงเทพฯ. 65 หน้า.
- เรวัธ เพ็ญซ้าย, จีรสิน ลีโนทก, อรุมา เพ็ญซ้าย และเนตรนภิส เขียวขำ. 2562. “ประสิทธิภาพของโดเมทอมอร์ฟ 50% W/V SC ในการควบคุมโรคลำต้นเน่า ของกล้าทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora*.” **ใน : การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 57.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพฯ. หน้า 155-162.
- ลลิตา คชารัตน์, ประภัสสร รักถาวร, อุดมลักษณ์ สุขอิตตะ และเกสรี กลิ่นสุคนธ์. 2558. “การเสริมฤทธิ์ร่วมกันของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อราเอนโดไฟต์และน้ำมันหอมระเหยจาก พืชสมุนไพร เพื่อเพิ่มศักยภาพในการควบคุมการเน่าเสียของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว.” **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53.** สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ. 635-642 หน้า.

- วนันันท์ สะอาดล้วน และพิทยา สรวมศิริ. 2548. “ผลยับยั้งของสารสกัดจากผลดีปลีต่อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของผลมะม่วง.” **วารสารเกษตร**. 1(3) : 251-257.
- วนิดา ชื่นชื่น, สุกันยา รักษาสรระน้อย, สมศักดิ์ อยู่บริบูรณ์ และวรรณกร กิจจะ. 2562. “การยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินในเขตพื้นที่ ตาบลกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์.” **วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง**. 28(1) : 52-64.
- วรัญญู แก้วดวงตา และปราณี เริ่มกระโทก. 2556. “ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย ในการควบคุมโรคเน่าดำของกล้วยไม้หวายเอื้องสกุล.” **ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม**. 5 หน้า.
- วัชรา สุวรรณอาศน์ และศศิธร วุฒินิชย์. 2553. “ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าและของผักในเรือนทดลอง.” **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48**. กรุงเทพฯ. 301-309 หน้า.
- วาสิณี ธรรมสถิต, สุจิตรา สุคนธมัต และดุชนิ ธนะบริพัฒน์. 2560. “การคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกจากทุเรียนในจังหวัดจันทบุรีและจังหวัดชุมพร.” **วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง**. 26(2) : 1-14.
- สถาบันวิจัยยาง. 2555. “ข้อมูลวิชาการยางพารา 2555.” **กรมวิชาการเกษตร**. กระทรวงและสหกรณ์. 123 หน้า.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2564. [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : <http://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/journal/2564/yearbook2563.pdf>. (23 มีนาคม 2565).
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 2562. โรคทุเรียน [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : <https://www.doa.go.th/share/attachment.php?aid=2968>. (23 มีนาคม 2565).
- สุธานันท์ นาคประนอม. 2550. “ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Sclerotium rolfsii* เชื้อราสาเหตุโรคพืช.” **ปัญหาพิเศษปริญญาตรี**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.
- หทัยทิพย์ พันฤทธิ์ดำ. 2556. “การสังเคราะห์อนุภาคไทเทเนียมไดออกไซด์ระดับนาโนเพื่อฆ่าเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคใบร่วงของต้นยางพารา.” **วิทยานิพนธ์ หลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมวัสดุ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**. 1 50 หน้า.

- หน่วยถ่ายทอดเทคโนโลยี ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี. 2551. “เทคโนโลยีการผลิตทุเรียนให้มีคุณภาพ.”  
ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. 51 หน้า.
- อรุณรัตน์ ฉวีราช, รุ่งลาวัลย์ สุตมุล, ธวัชชัย ธานี, โกวิท น้อยโคตร และฉัตรทอง เจือจันทร์. 2554.  
“การศึกษาคุณสมบัติทางยาสมุนไพรสกุลพริกไทยในประเทศไทย.” รายงานการวิจัย. ทูลอดหนุน  
การวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Abad, R. G. and Cruz, K. J. T. 2013. “Incidence of *Phytophthora* fruit rot on four durian cultivars in Davao City, Philippines.” In *IV International Symposium on Improving the Performance of Supply Chains in the Transitional Economies* 1006. 35-39.
- Agrios, G. N. 2005. “Plant pathology.” 5<sup>th</sup> edition. **Academic Press**. USA. 948 p.
- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Alhadrami, H. A. A. and Bhandari, A. 2015.  
“Quantification of total phenol, flavonoid content and pharmacognostical evaluation including HPTLC fingerprinting for the standardization of *Piper nigrum* Linn fruits.”  
**Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. 5(2) : 101-107.
- Ali, A., Lim, X.Y., Chong, C.H., Mah, S.H. and Chua, B.L. 2018. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from betel leaves (**Piper betle**): Extraction kinetics and modeling. **Separation Science and Technology**. 53(14) : 2192-2205.
- Aravind, R., Kumar, A., Eapen, S.J. and Ramana. K.V. 2008. “Endophytic bacterial flora in root and stem tissues of black pepper (*Piper nigrum* L.) genotype: isolation, identification, and evaluation against *Phytophthora capsici*.” **Letters in Applied Microbiology** 48 : 58–64.
- Asia-Pacific Association of Agricultural Research Institutions. 2018. “Durian in Thailand: A Success Story. **Asia-Pacific Association of Agricultural Research Institutions**.” Bangkok : Thailand. 71 p.
- Azni, M.I.N.A., Sundram, S. and Ramachandran, V. 2019. “Pathogenicity of Malaysian *Phytophthora palmivora* on cocoa, durian, rubber and oil palm determines the threat of bud rot disease.” **Forest Pathology**. 49(6).
- Azni, M.I.N.A., Sundram, S., Ramachandran, V., and Abu Seman, I. 2017. “An *in vitro* investigation of Malaysian *Phytophthora palmivora* isolates and pathogenicity study on oil palm.” **Journal of Phytopathology**, 165(11-12) : 800-812.

- Barh, D., Barve, N., Gupta, K., Chandra, S., Jain, N., Tiwari, S., Azevedo, V., *et al.* 2013. “Exoproteome and secretome derived broad spectrum novel drug and vaccine candidates in *Vibrio cholerae* targeted by *Piper betel* derived compounds.” **Public Library of Science.** 8(1) : 52773.
- Basak, S., and Guha, P. 2015. “Modelling the effect of essential oil of betel leaf (*Piper betle* L.) on germination, growth, and apparent lag time of *Penicillium expansum* on semi-synthetic media.” **International journal of food microbiology.** 215 : 171-178.
- Birhanu S, Akhtar MS, Muleta D. 2014. “Management of post-harvest fruit spoilage fungi by some potential spice extracts.” **Arch Phytopath Plant Protect.** 47(17) : 2124–2140.
- Boughalleb-M’hamdi, N., Benfradj, N., Migliorini, D., Luchi, N., and Santini, A. 2018. “*Phytophthora nicotianae* and *P. cryptogea* causing gummosis of citrus crops in Tunisia.” **Tropical plant pathology.** 43(1) : 36-48.
- Castro,C.C.B.B, Costa, P.S., Laktin G.T., Carvalho, P.H.D., Geraldo , R.B., Moraes, J., Pinto, P.L.S., Couri, M.R.C., Pinto, P.F., Filho, A.A.D.S. 2015. “Cardamonin, a schistosomicidal chalcone from *Piper aduncum* L. (Piperaceae) that inhibits *Schistosoma mansoni* ATP diphosphohydrolase.” **Phytomedicine.** 22 : 921–928.
- Chaveerach, A., Mokkamul, P., Sudmoon, R., and Tanee, T. 2006. “Ethnobotany of the genus *Piper* (Piperaceae) in Thailand.” **Ethnobotany Research and Applications.** 4 : 223-231.
- Cooke, D. E. L., Drenth, A., Duncan, J. M., Wagels, G., and Brasier, C. M. 2000. “A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes.” **Fungal genetics and biology.** 30(1) : 17-32.
- Costa, G.M., Endo, E.H., Cortez, D.A.G., Nakamura, T.U., Nakamura, C.V., Dias Filho, B.P. 2016. “Antimicrobial effects of *Piper hispidum* extract, fractions and chalcones against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*.” **Journal de Mycologie Médicale.** 26 : 217-226.
- Damicone, J. 2017. Fungicide Resistance Management. [Online].Available : <http://osu.facts.okstate.edu>. (23 May 2022).

- Das, A.K., Nerkar, S., Kumar, A. and Bawage, S. 2015. "Detection, identification and characterization of *Phytophthora* spp." **Infecting citrus in India. Journal of Plant Pathology.** 55-69.
- Datta, A., Ghoshdastidar, S., and Singh, M. 2011. "Antimicrobial property of *Piper betel* leaf against clinical isolates of bacteria." **International Journal of Pharma Sciences and Research.** 2(3) : 104-109.
- Deising, B.H., Reimann, S. and Pascholati, S.F. 2008. "Mechanisms and significance of fungicide resistance." **Brazilian Journal of Microbiology.** 39 : 286-295.
- Do Carmo, D. F. M., Amaral, A. C. F., Machado, G. M., Leon, L. L., and Silva, J. R. D. A. 2012. "Chemical and biological analyses of the essential oils and main constituents of *Piper* species." **Molecules.** 17(2) : 1819-1829.
- Drenth, A., and Guest, D. I. 2004. "Diversity and management of *Phytophthora* in Southeast Asia." **Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR).** 114 : 238.
- Dyer, L.A., Richards, J. and Dodson, C.D. 2004. "Isolation, synthesis, and evolutionary ecology of *Piper* amides. In *Piper: A model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution.*" **Metallurgical and Materials Transactions A: Physical Metallurgy and Materials Science.** 117-139 pp.
- Erwin, D.C. and Ribeiro, O.K. 1996. *Phytophthora Diseases worldwide.* St Paul, MN: American Phytopathological Society.
- Fazal, F., Mane, P. P., Rai, M. P., Thilakchand, K. R., Bhat, H. P., Kamble, P. S., Palatty, P. L., and Baliga, M. S. 2014. "The phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Piper betel*. linn (Betel Leaf): A pan-asiatic medicinal plant." **Chinese journal of integrative medicine.** 1-11.
- Ferguson, A.J. and Jeffers, S.N. 1999. "Detecting multiple species of *Phytophthora* in container mixes from ornamental crop nurseries." *Plant Disease.* 83 : 1129-1136.
- fractions of *Piper nigrum* Linn. seeds and *Piper betle* Linn. leaves." **International Journal of Control, Automation and Systems.** 3 : 344-349.

- Gallegly, M. E. and Hong C. 2008. “**Phytophthora: identifying species by morphology and DNA fingerprints.**” The American Phytopathological Society APS, St. Paul, Minnesota : USA.
- Gisi, U. and Sierotzki, H. 2015. “**Oomycete Fungicides: Phenylamides, Quinone Outside Inhibitors, and Carboxylic Acid Amides.** *In: Ishii, H. and Hollomon, (eds.).*” Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Springer : Japan. 145-174 pp.
- Guest, D.I., Anderson, R.D., Foard, H.J., Phillips, D., Worboys, S. and Middleton, R.M. 1994. “Long-term control of Phytophthora diseases of cocoa using trunk-injected phosphonate.” **Plant Pathology.** 43 : 479-492.
- Gupta, S. A. R. I. K. A., Kiran, K. and Datta, A. 2012. “Bio-control of clinical fungal isolates associated with fungal keratitis using medicinal plant extract.” **International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Science.** 4(4) : 544-547.
- Ho, w.c. and Ko, W.H. 1997. “A simple method for obtaining single-spore isolates of fungi.” **Botanical Bulletin of Academia Sinica.** 38 : 41-44.
- Hung, P.M., Wattanachai, P., Kasem, S. and Poeaim, S. 2015. “Biological Control of *Phytophthora palmivora* Causing Root Rot of Pomelo Using *Chaetomium* spp.” **Mycoblogy.** 43(1) : 63-70.
- Janthonga, P., Suwanphakdeeb, C., Leepasertc, T. and Wiriyaitsomboona, P. 2021. “Bioefficacy of *Piper* extracts in the management of chilli anthracnose.” **Archives of Phytopathology and Plant Protection.** 1-15 p.
- Jeffers, S.N. and Martin, S. 1986. “Identifying species of *Phytophthora.*” **Plant Disease.** 70 : 1038-1043.
- Kaypetch, R., and Thaweboon, S. 2018. “Antifungal property of *Piper betle* leaf oil against oral *Candida* species.” **Édition Diffusion Presse Sciences.** In MATEC Web of Conferences. 242 : 01021.
- Khan, A.U., Ali, S., Rehman, A.U., Ali, H., Ahmad, T., Waqar, M., and Niaz, Z. 2013. “Antibacterial Activity of *Nigella sativa* and *Piper nigrum.*” **Asian Journal of Natural and Applied Sciences.** 2(4) : 173-179.
- Kim, K. J., Lee, M. S., Jo, K., and Hwang, J. K. 2011. “Piperidine alkaloids from *Piper retrofractum* Vahl. protect against high-fat diet-induced obesity by regulating lipid

- metabolism and activating AMP-activated protein kinase.” **Biochemical and biophysical research communications.** 411(1) : 219-225.
- Kongtragoul, P., Ishikawa, K., and Ishii, H. 2021. “Metalaxyl Resistance of *Phytophthora palmivora* Causing Durian Diseases in Thailand.” **Horticulturae.** 7(10) : 375.
- Latifah, M., Kamaruzaman, S., Abidin, M. Z., and Nusaibah, S.A. 2018. “Identification of *Phytophthora* spp. from perennial crops in Malaysia, its pathogenicity and cross-pathogenicity.” **Sains Malaysiana.** 47(5) : 909-921.
- Maizatul-Suriza, M., Dickinson, M. and Idris, A. S. 2019. “Molecular characterization of *Phytophthora palmivora* responsible for bud rot disease of oil palm in Colombia.” **World Journal of Microbiology and Biotechnology.** 35(3) : 1-23.
- Martín-Rodríguez, A.J., Ticona, J.C., Jiménez, I.A., Flores, N., Fernández, J.J., and Bazzocchi I.L. 2015. “Flavonoids from *Piper delineatum* modulate quorum-sensing-regulated phenotypes in *Vibrio harveyi*.” **Phytochemistry.** 117 : 98-106.
- Mgbeahuruike, E. E., Yrjönen, T., Vuorela, H., and Holm, Y. 2017. “Bioactive compounds from medicinal plants: Focus on *Piper species*.” **South African Journal of Botany.** 112 :54-69.
- Mgbeahuruike, E.E., Yrjönen, Vuorela, T., H. and Holm, Y. 2017. Bioactive compounds from medicinal plants: Focus on *Piper species*. **South African Journal of Botany.** 112 : 54-69.
- Mongkol, R., Piapukiew, J. and Chavasiri, W. 2016. “Chemical constituents from *Melodorum fruticosum* Lour. Flowers against plant pathogenic fungi.” **Agriculture and Natural Resources.** 50 : 270-5.
- Muharini, R., Liu, Z., Lin, W., and Proksch, P. 2015. “New amides from the fruits of *Piper retrofractum*.” **Tetrahedron Letters.** 56(19) : 2521-2525.
- Orav, A., Stulova, I., Kailas, T. and Müürisepp, M. 2004. “Effect of storage on the essential oil composition of *Piper nigrum* L. fruits of different ripening states.” **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 52(9) : 2582-2586.
- Ounchokdee, U., Rueangrit, S. and Dethoup, T. 2016. “Antifungal activity profile of *Piper longum* fruit extract against plant pathogenic fungi.” **Journal of Biopesticides.** 9(2) : 97-103.

- Patra, B., Das, M. T. and Dey S. K. 2016. "A review on *Piper betle* L." **Journal of Medicinal Plants Studies**. 4(6) : 185-192.
- Phatthalung, P. N., Chusri, S. and Voravuthikunchai, S. P. 2012. "Thai ethnomedicinal plants as resistant modifying agents for combating *Acinetobacter baumannii* infections." **BMC Complementary and Alternative Medicine**. 12(1) : 1-8.
- Piasai, R., Chalmers, P., Piasai, O., and Khewkhom, N. 2021. "Postharvest fungicide dips to control fruit rot of 'Monthong' durian (*Durio zibethinus*)." **European Journal of Plant Pathology**. 160 : 325–336.
- Pineda, R.M., Vizcaíno, S.P., Carlos, M., García, P., Jesús, H.G.G., and Diego, L.D.R. 2012. "Chemical composition and antifungal activity of *Piper auritum* kunth and *Piper holtonii* C. DC. against phytopathogenic fungi Chilean." **Journal of Agricultural Research**. 72(4) : 507-515.
- Queiroza, A.C., Alvesb, H.S., Cavalcante-Silvaa, L.H.A., Diasa, T.L.M.F., Santosa, M.S., Meloa, G.M.A., Campesattoa, E.A., Chavesc, M.C.O. and Alexandre-Moreiraa, M.S. 2014. "Antinociceptive and anti-inflammatory effects of flavonoids PMT1 and PMT2 isolated from *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae) in mice." **Natural Product Research**. 28(6) : 403–406.
- Radulovic, N.S., Blagojevic, P.D., Stojanovic-Radic, Z.Z. and Stojanovic, N.M. 2013. "Antimicrobial Plant Metabolites: Structural Diversity and Mechanism of Action." **Current Medicinal Chemistry**. 20 : 932-952.
- Rifai, Y. and Aswad, M. 2012. "A new lignan from *Piper nigrum* fruit." **International Journal of Control, Automation and Systems**. 3 : 1585-1586.
- Rintu, D., Shinjini, M., Kaustab, M., Pramathadhip, P., Umesh, P.S. and Banerjee, E.R. 2015. "Antioxidant and anti-inflammatory activities of different varieties of *Piper* Leaf extracts (*Piper betle* L.)." **OMICS Journal of Nutrition and Food Sciences**. 5(5) : 415.
- Row, L.C.M. and Ho, J.C. 2009. "The Antimicrobial Activity, Mosquito Larvicidal Activity, Antioxidant Property and Tyrosinase Inhibition of *Piper betle*." **Journal of the Chinese Chemical**. 56 : 653-658.

- Ruiz, C., Haddad, M., Alban, J., Bourdy, G. and Reategui, R. 2011. "Activity-guided isolation of antileishmanial compounds from *Piper hispidum*." **Phytochemistry Letters**. 4 : 363–366.
- Sanubol, A., Chaveerach, A., Tanee T. and Sudmoon, R. 2017. Pre-clinical evaluation of extracts and essential oils from Betle-like scent *Piper* species identified potential cancer treatment. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**. 14(1) : 89-102.
- Sarker, S.R., McComb, J., Burgess, T.I., Hardy, and Giles E. St. J. 2020. "Antimicrobials in *Phytophthora* isolation media and the growth of *Phytophthora* species." **Plant pathology**. 69(8) : 1426-1436.
- Shetty, S. and Vijayalaxmi, K. K. 2017. "Phyto chemical investigation of extract/solvent
- Silva, D.M.M.H. and Bastos, C.N. 2007. "Antifungal activity of essential oils of *Piper* species against *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* and *Phytophthora capsicii*." **Fitopatologia Brasileira**. 32 :143-145.
- Singburaudom, N. 2015. "Hydroxychavicol from *Piper betel* leave is an antifungal activity against plant pathogenic fungi." **Journal of Biopesticides**. 8(2) : 82-92.
- Solpot, T.C. and Cumagun, C.J.R. 2022. "Phylogenetic analyses and cross-infection studies of *Phytophthora* species infecting cacao and durian in South-Central Mindanao, Philippines." **Journal of Phytopathology**. 170(1) : 41-56.
- Soytong, K. 2010. "Evaluation of *Chaetomium*-Biological Fungicide to Control *Phytophthora* Stem and Root Rot of Durian." **Research Journal**. 3(2) :115-124.
- Sreejai, R., Raju, A., Dani Benchamin, J.R.F., Sujitha, S., and Kurup, B.S. 2019. "Comparative study of anti-microbial and phytochemical analysis of *Piper longum* and *Piper nigrum*." **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**. 8(2) : 195-197.
- Suksiri, S., Laipasas, P., Soytong, K. and Poeaim, S. 2018. "Isolation and Identification of *Phytophthora* sp. and *Pythium* sp. from Durian Orchard in Chumphon Province, Thailand." **International Journal of Agricultural Technology**. 14(3) : 389-402.
- Sundram, S. and Intan-Nur, A. A. 2017. "South American Bud rot: A biosecurity threat to South East Asian oil palm." **Crop Protection**. 101 : 58-67.

- Suprpta, D.N., Sudana, M., Alit-Susanta, W.G.N. and Sudiarta, P. 2008. “Plant extracts to control cocoa black pod disease caused by *Phytophthora palmivora*.” **Journal of International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences**. (Philippines).
- Suwanphakdee, C. and Chantaranothai, P. 2011. “A new species and three taxonomic changes in *Piper* (Piperaceae) from Thailand.” **Blumea**. 56(3): 235-239.
- Suwanphakdee, C., Simpson, D.A., Hodkinson, T.R. and Chantaranothai, P. 2020. “A synopsis of Thai *Piper* (Piperaceae).” **Thai Forest Bulletin (Botany)**. 48(2) : 145–183.
- Torres-londono, G.A. 2016. “Morphological characterization, virulence, and fungicide sensitivity evaluation of *Phytophthora palmivora*.” Doctor of Philosophy, Michigan State University.
- Ugusman, A., Zakaria, Z., Hui, C.K., Nordin, N.A.M.M. and Mahdy, Z.A. 2012. “Flavonoids of *Piper sarmentosum* and its cytoprotective effects against oxidative stress.” **experimental and clinical sciences Journal**. 11 :705– 714.
- Varma, R. S., George, K. J., Balaji, S. and Parthasarathy, V. A. 2009. “Differential induction of chitinase in *Piper colubrinum* in response to inoculation with *Phytophthora capsici*, the cause of foot rot in black pepper.” **Saudi journal of biological sciences**. 16(1) : 11-16.
- Vawdrey, L.L., Langdon, P. and Martin, T. 2005. “Incidence and pathogenicity of *Phytophthora palmivora* and *Pythium vexans* associated with durian decline in far northern Queensland.” **Australasian Plant Pathology**. 34(1) : 127-128.
- Worrall, J.J. 1999. “**Structure and Dynamics of Fungal Populations.**” Kluwer Academic Publishers : Netherlands. 348 p.
- Zhang, L. L. and Xu, G. J. 2015. “Comparative study on antioxidant activity of essential oil from white and black pepper.” **European Journal of Food Science and Technology**. 3(3) : 10-16.
- Zou, L., Hu, Y. Y. and Chen, W. X. 2015. “Antibacterial mechanism and activities of black pepper chloroform extract.” **Journal of Food Science and Technology**. 52(12) : 8196-8203.

## ประวัติผู้เขียน



ชื่อ-สกุล	นางสาวประไพภักดิ์ ศรีขยัน
วัน/เดือน/ปี เกิด	2 ธันวาคม 2542
ที่อยู่อาศัย	บ้านเลขที่ 43/1 หมู่ 6 ตำบลนาสัก อำเภอสวี จังหวัดชุมพร 86130
ประวัติการศึกษา	อนุบาล 1-2 โรงเรียนบ้านแก่งกระทิง อำเภอสวี จังหวัดชุมพร ประถมศึกษา 1-6 โรงเรียนบ้านแก่งกระทิง อำเภอสวี จังหวัดชุมพร มัธยมศึกษา 1-3 โรงเรียนนาสักวิทยา อำเภอสวี จังหวัดชุมพร มัธยมศึกษา 4-6 โรงเรียนสวีวิทยา อำเภอสวี จังหวัดชุมพร ปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร เขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร ปัจจุบันศึกษาปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้