ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมี cyazofamid และ fluazinam ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน ในสภาพห้องปฏิบัติการ

In vitro evaluation of cyazofamid and fluazinam for controlling *Phytophthora* sp., causal agent of durian disease

ณัฐธิดา เชียงสวน

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช)
ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับที่............/..............
งานทะเบียนและประมวลผล

โครงงานพิเศษปีการศึกษา 2565

ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid และ fluazinam ในการควบคุม เชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียนในสภาพห้องปฏิบัติการ

In vitro evaluation of cyazofamid and fluazinam for controlling *Phytophthora* sp. causal agent of durian disease

นายสาวณัฐธิดา เชียงสวน

โครงงานพิเศษนี้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

(เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช)

ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เห็นชอบ/รับรอง

P. Kongtragoul

(รศ.ดร.พรประพา คงตระกูล)
อาจารย์ที่ปรึกษา

โครงงานพิเศษนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรื่อง : ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมี cyazofamid และ fluazinam ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียนในสภาพห้องปฏิบัติการ

ผู้เขียน : นางสาวณัฐธิดา เชียงสวน

ปริญญา : วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช)

หลักสูตร : เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช

ภาควิชา : เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก : รศ.ดร. พรประพา คงตระกูล

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Phytophthora* sp. เป็นเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า และผลเน่า เป็นปัญหาสำคัญที่สุดในการปลูกทุเรียน เนื่องจากทำให้ต้นทุเรียนที่กำลังเจริญเติบโตและให้ผลผลิตยืนต้นตายได้ จึงมีแนวทางในการศึกษาสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดใหม่บนฉลากผลิตภัณฑ์ (FRAC code) ต่างกันเพื่อลดการใช้กลุ่มสารเคมีกลุ่มเดียวกัน ซึ่งอาจจะก่อให้เกิดการต้านทานต่อสารเคมีดังกล่าว สำหรับการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) เก็บรวบรวมและจัดจำแนกตามลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน 2) ทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบของเชื้อราที่แยกได้ 3) ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam และ cyazofamid ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา แยกเชื้อราสาเหตุโรคได้ จำนวน 10 ไอโซเลท คือ คือ M_1, M_2, M_3, Pt_, Pt_2, Ts_1, Ts_2, Ts_3, Ts_4, และ Ts_5 พบลักษณะโคโลนีแบบ stellate และ ลักษณะแบบ radiate เส้นใยไม่มีผนังกั้น สร้าง sporangium แบบ ovoid, ellipsoid และมี papillate ชัดเจน หรือ semi-papillate และ พบการสร้าง chlamydospores รูปร่างค่อนข้างกลม ทุกไอโซเลทสามารถก่อให้เกิดโรคบนใบทุเรียนได้ ทำการทดสอบ สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam (29) และ สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid (21) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10, และ 100 mg/l พบว่าสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทุกไอโซเลท ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 12.65-60.22 mg/l และ สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid มีค่า EC_{50} >100 mg/l

คำสำคัญ: เชื้อรา *Phytophthora* sp., cyazofamid, fluazinam

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title : *In vitro* evaluation of cyazofamid and fluazinam for controlling *Phytophthora* sp., causal agent of durian disease

Author : Miss Nattida Chaingsuan

Degree : Bachelor of Science (Management Technology for Plant Production

Program : Management Technology for Plant Production

Department : Agricultural Technology

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Pornprapa Kongtragoul

Abstract

Phytophthora sp. is the causative agent of root and fruit rot, the most important problem in durian cultivation. Because it causes the growing durian tree and perennials to die, there are different guidelines for studying new fungicides on product labels (FRAC code) to reduce the use of the same chemical group, which may cause resistance to such chemicals. The purposes of this study were to 1) collect and classify *Phytophthora* sp., the causative agent of durian disease, 2) test the pathogenicity on the leaves of the fungal isolates, and 3) evaluate the efficacy of protective chemicals—antifungal fluazinam and cyazofamid against fungal growth inhibition. The results show that ten isolates of pathogenic fungi were identified, namely M_1, M_2, M_3, Pt_, Pt_2, Ts_1, Ts_2, Ts_3, Ts_4, and Ts_5. The stellate and radiate colonies were found ovoid, ellipsoid, papillate, or semi-papillate, and chlamydospores formed. The shape is quite round. All isolates were pathogenic on durian leaves. The fungicide fluazinam (29) and cyazofamid (21) were tested at 1, 10, and 100 mg/l concentrations. The fungicide fluazinam inhibited the growth of all isolates with an EC_{50} of 12.65-60.22 mg/l, and the cyazofamid fungicide had an EC_{50} of >100 mg/l.

Keywords: *Phytophthora* sp., cyazofamid, fluazinam

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษครั้งนี้ลุล่วงไปด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. พรประพา คงตระกูล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ให้คำแนะนำปรึกษา และแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทำโครงงานพิเศษนี้ ตลอดจนชี้แนะข้อบกพร่องในการจัดทำโครงงานพิเศษ และกราบขอบพระคุณอาจารย์ประจำหลักสูตรเทคโนโลยีการจัดการผลิตพืชที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำตลอดจนอบรบสั่งสอนข้าพเจ้ามาโดยตลอดนอกจากนี้ขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ และ น้อง ๆ หลักสูตรเทคโนโลยีการจัดการผลิตพืชทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือให้กำลังใจจนทำให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี จึงขอกราบพระคุณไว้ในโอกาศนี้

สุดท้ายข้าพเจ้าขอกราบขอบคุณพระคุณบิดามารดา บุคคลในครอบครัว ที่ได้ให้การสนับสนุนทั้งกำลังกายกำลังใจในการศึกษาและการทำโครงงานพิเศษสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ณัฐธิดา เชียงสวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของทุเรียน	3
2.2 เชื้อรา *Phytophthora* sp.	3
2.3 โรคทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp.	5
2.4 สารเคมีกลุ่ม C ที่ใช้ในการทดสอบป้องกันกำจัดเชื้อรา *Phytophthora* sp.	7
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	11
3.1 เก็บรวบรวมและแยกเชื้อรา *Phytophthora* sp.	11
3.2 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora* sp.	12
3.3 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบของเชื้อรา *Phytophthora* sp.	12
3.4 ประเมินประสิทธิภาพของ cyazofamid และ fluazinam	13
บทที่ 4 ผลการทดลอง	15
4.1 การแยกและรวบรวมเชื้อรา *Phytophthora* sp.	15
4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora* sp.	16
4.3 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบเชื้อรา *Phytophthora* sp.	20
4.4 ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid และ fluazinam ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp.	23
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง	29
5.1 เก็บรวบรวม จัดจำแนก และ ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora* sp.	29
5.2 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบเชื้อรา *Phytophthora* sp.	29
5.3 ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันดำจัดเชื้อรา cyazofamid และ fluazinam ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp.	29
บทที่ 6 สรุปการทดลอง	31
เอกสารอ้างอิง	32
ประวัติผู้แต่ง	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

3.1	NARH–M1 V8 selective medium for *Phytophthora* species.	12
4.1	List of location details and condition in Chumphon	15
4.2	Morphology characterization of *Phytophthora* sp. Isolates causing durian disease.	17
4.3	Lesion diameter on durian leaves after inoculation with *Phytophthora* sp. on wounded leaves for 3 days	20
4.4	Inhibitory effects of fungicides at 1, 10, and 100 mg/l on radius of colony and mycelial growth of *Phytophthora* sp.	24
4.5	Fungicides, regression equation, coefficient of determination (R2), sensitivity and 50% effective concentration of mycelial growth of *Phytophthora* sp. causing durian disease.	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

2.1 Symptoms caused by *Phytophthora* sp. in durian: 4
A) root rot; B) patch canker; C) leaf blight; and D) fruit rot
2.2 The life cycle of *Phytophthora* sp. 5
2.3 Modeling of enzyme groups complex I-IV 7
2.4 Chemical structure of cyazofamid 8
2.5 Chemical structure of fluazinam 9
4.1 Symptoms of *Phytophthora* disease on naturally infected 15
(A) durian stem, (B) durian fruits.
4.2 Morphological characteristics of *Phytophthora* sp. isolates 18
causing durian disease; colony (A), hypha (B), sporangium (C),
and chlamydospores (D)
4.3 Pathogenic test on detached leaf assays after inoculated with 21
10 isolates for 3 days.
4.4 The effect of cyazofamid and fluazinam at 1, 10, and 100 mg/l 26
of *Phytophthora* sp. on PDA for 3 days

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ทุเรียน (*Durio zibethinus* L.) เป็นผลไม้เขตร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย เพราะสามารถเป็นผู้ผลิตและส่งออกทุเรียนรายใหญ่อันดับ 1 ของโลก โดยในปี พ.ศ. 2565 มีพื้นที่ปลูกทุเรียนทั้งประเทศ ประมาณ 1,344,369 ไร่ มีผลผลิตรวม 1,252,086 ตัน สร้างมูลค่าของผลผลิตได้ 125,788 ล้านบาท ทั้งนี้ทุเรียนเป็นพืชที่มีการเจริญเติบโตได้ดีในสภาพภูมิอากาศแบบประเทศไทย ปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกทุเรียนมากขึ้นในทุกภูมิภาค แหล่งผลิตทุเรียนที่สำคัญของภาคใต้ เช่น ชุมพร นครศรีธรรมราช และ สุราษฎร์ธานี ในส่วนของภาคตะวันออก เช่น จันทบุรี ตราด และ ระยอง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) เนื่องจากตลาดทั้งในและต่างประเทศมีความต้องการทุเรียนที่มีคุณภาพ และรสชาติดีจึงทำให้มีความต้องการของผลผลิตจำนวนมากขึ้นทุกปี (สุมิตร, 2560)

การปลูกทุเรียนตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่ประสบปัญหาด้านโรคพืช ได้แก่ โรครากเน่า โคนเน่า และผลเน่า (root rot, stem rot and fruit rot) เป็นสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora* sp. ซึ่งสร้างความเสียหายให้กับการผลิตทุเรียนในประเทศไทยเป็นอย่างมาก (มณีรัตน์, 2564) เชื้อรา *Phytophthora* sp. สามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงต้นโต สามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของต้นทุเรียน ลักษณะอาการเน่าของทุเรียน มีชื่อเรียกตามส่วนต่างๆ ที่เกิดโรค คือ โรครากเน่า โคนเน่า ลำต้นเน่า กิ่งเน่า และ ผลเน่า เชื้อราแพร่ระบาดเข้าทำลายราก และลุกลามสู่โคนต้น ในสภาพดินที่มีการระบายน้ำไม่ดี ทำให้ดินมีความชื้นสูง เป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรค การแพร่ระบาดของโรค สามารถติดไปกับหยดน้ำฝน หรือแพร่ระบาดทางลม เชื้ออาจติดไปกับดิน น้ำ และซากส่วนที่เป็นโรค เข้าทำลายใบ ลุกลามสู่กิ่งและผล ทำให้การแพร่ระบาดของโรคเป็นไปอย่างรุนแรงก่อให้เกิดความเสียหายทุเรียนหลายสายพันธุ์ เช่น หมอนทอง กระดุม ชะนี ก้านยาว กบสุวรรณ เป็นต้น (อมรรัตน์ และ พีระวรรณ, 2555) จากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* sp. สร้างความเสียหายให้เกษตรกรเป็นอย่างมาก สามารถเกิดขึ้นได้กับทุกส่วนของทุเรียน การป้องกันกำจัดที่ดีวิธีหนึ่งคือการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เกตรกรส่วนใหญ่จึงนิยมใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุมเชื้อราในกลุ่มนี้ เพราะสะดวกและได้ผลรวดเร็ว การศึกษาค้นคว้าในครั้งนี้เพื่อศึกษาประสิทธิภาพสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid และ fluazinam ในกลุ่ม C สารที่มีกลไกออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจ (Fungicide resistance action committee, 2022) ซึ่งควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. ในสภาพห้องปฏิบัติการ

1.2 วัตถุประสงค์

1. เก็บรวบรวม แยกเชื้อรา และจัดจำแนกตามลักษณะสัณฐานวิทยาของ เชื้อรา *Phytophthora* sp.

2. ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมี cyazofamid และ fluazinam ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียนในสภาพห้องปฏิบัติกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของทุเรียน

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตและส่งออกทุเรียนรายใหญ่ของโลก ตลาดหลักสำคัญคือ จีน โดยส่งออกในรูปแบบทุเรียนสดมากกว่าร้อยละ 90 ของการส่งออกทั้งหมดในปี 2561-2565 โดยปี 2565 มีพื้นที่ปลูกทุเรียนทั้งประเทศประมาณ 1,344,369 ไร่ โดยแบ่งเป็นภาคเหนือ 81,687 ไร่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 31,600 ไร่ ภาคกลาง 558,597 ไร่ ภาคใต้ 672,485 ไร่ มีปริมาณการส่งออก 916,670 ตัน มูลค่า 125,788 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) การส่งออกทุเรียนสดและผลิตภัณฑ์ ในปี 2565 มีปริมาณ 858,485 ตัน มูลค่า 117,432 ล้านบาท เพิ่มขึ้นร้อยละ 14.01 และร้อยละ 38.31 ต่อปี ตามลำดับ แบ่งเป็นทุเรียนสด 772,961 ตัน มูลค่า 102,222 ล้านบาท ทุเรียนแช่แข็ง 84,905 ตัน มูลค่า 14,798 ล้านบาท ทุเรียนกวน 192 ตัน มูลค่า 32 ล้านบาท ทุเรียนอบแห้ง 427 ตัน มูลค่า 379 ล้านบาท การส่งออกทุเรียนสดและผลิตภัณฑ์ในปี 2565 ลดลงจากปี 2564 ที่มีปริมาณ 925,974 ตัน มูลค่า 119,148 ล้านบาท หรือลดลงร้อยละ 7.29 และร้อยละ 1.44 ตามลำดับ เนื่องจากในปี 2565 ยังคงมีการแพร่ระบาดของโรคโควิด 19 ทั่วโลก แม้สถานการณ์เริ่มคลี่คลายในช่วงกลางปี ตลาดจีนซึ่งเป็นตลาดส่งออกหลักของไทยก็ยังคงมีมาตรการเข้มงวดในการนำเข้าสินค้า เพื่อลดความเสี่ยงของการนำเชื้อเข้าประเทศ เกิดปัญหาการขนส่งมีความล่าช้าของการผ่านด่านและตรวจปล่อยสินค้าที่ขนส่งผ่านเส้นทางขนส่งทางบกในช่วงผลผลิตสู่ตลาดอย่างมาก ทำให้ผลทุเรียนได้รับความเสียหายและคุณภาพลดลงก่อนถึงตลาดปลายทาง (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566)

2.2 เชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

อนุกรมวิธานของเชื้อรา *Phytophthora* sp. (Brich and Whisson, 2001)

Kingdom: Chromista

Class: Oomycetes

Oder: Peronosporales

Family: Pythiaceae

Genus: *Phytophthora*

2.2.1 กลไกการติดเชื้อรา *Phytophthora* sp.ในทุเรียน

เชื้อรา *Phytophthora* sp. เป็นเชื้อราชั้นต่ำที่อยู่ในดิน เจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนชื้น พื้นที่การระบายน้ำไม่ดี เป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ทำให้เกิดการแพร่กระจายได้รวดเร็วในทุเรียน เนื่องจากรากทุเรียนมีความอ่อนแอต่อโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Phytophthora* sp. ที่สามารถพักตัวอยู่ในดินได้นานหลายปีในรูปแบบของ chlamydospore เมื่อมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมคือมีความชื้นที่เพียงพอก็สามารถงอกเป็นเส้นใยสีขาว สร้างอวัยวะขยายพันธุ์ sporangium ภายในมีการสร้าง zoospores ให้เคลื่อนที่เข้าหาพืชและทำลายพืชได้ (Nadhirah and Nurul, 2022) การเข้าทำลายต้นทุเรียน จึงเข้าทางรากของต้นทุเรียน เมื่อเชื้อเข้าสู่ต้นทุเรียนได้แล้ว ก็จะขยายพันธุ์เข้าสู่ระบบท่อน้ำในลำต้น ทำให้เชื้อราสาเหตุโรค แพร่กระจายไปทั่วต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เริ่มจากราก ทำให้เกิดอาการ รากเน่า (Figure 2.1 A) เมื่อเชื้อสาเหตุขึ้นสู่ลำต้น ทำให้เกิดอาการลำต้นเน่า ลุกลามไปสู่ยอด ทำให้เกิดอาการ ยอดเหี่ยว และใบร่วง (Figure 2.1 B, C) หากเชื้อเข้าทำลายในช่วงฤดูผลผลิตผล จะทำให้เกิด โรคผลเน่า (Figure 2.1 D) ดังนั้น เชื้อรา *Phytophthora* sp. ในต้นทุเรียน จึงเป็นโรคที่เข้าทำลายได้ทั้งระบบต้น (Figure 2.1) (สุมิตร, 2560)

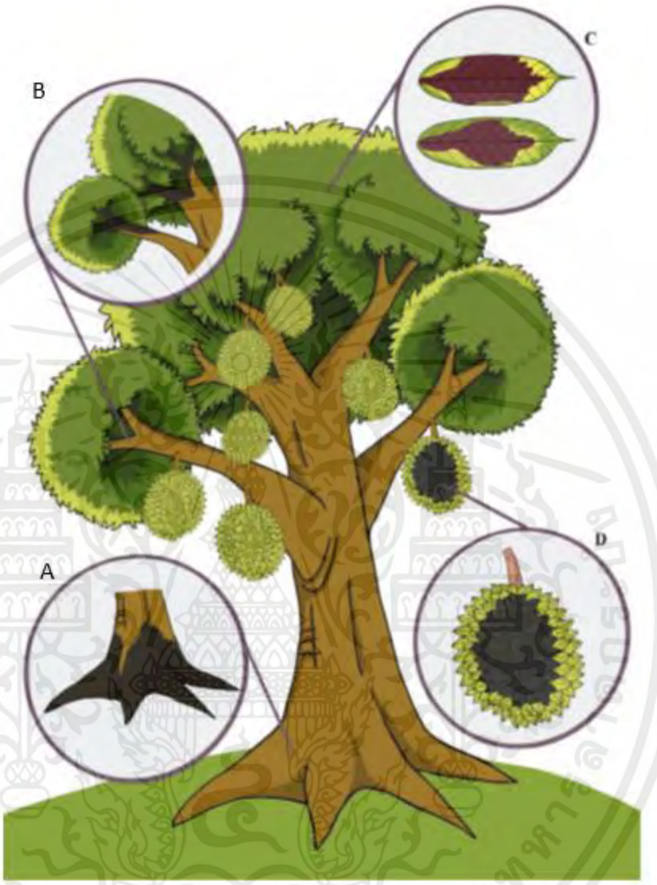


Figure 2.1 Symptoms caused by *Phytophthora* sp. in durian: A) root rot; B) patch canker; C) leaf blight; and D) fruit rot (Source: Nadhirah and Nurul, 2022)

2.2.2 วัฏจักรชีวิตของ *Phytophthora* sp.

Phytophthora sp. มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจะมีการสร้าง zoosporangia ซึ่งจะมีการปลดปล่อย zoosporangia จะเคลื่อนที่โดย biflagellate หลังจากเคลื่อนที่ในน้ำแล้วระยะหนึ่งจึงเจาะเข้าไปในเกราะ (encyst) และสร้าง zoospore ขึ้นอีก ส่วนการสืบพันธ์แบบอาศัยเพศนั้นเชื้อราเพศผู้ (male hypha) จะเจริญเป็นแอนเทอริเดียม (antheridium) และเชื้อราเพศเมีย (female hypha) จะเจริญเป็น oogonium จึงทำให้เกิด oospore ซึ่งจะงอกเป็นท่อและเจริญเป็นเส้นใย เกิดเป็น sporangium ต่อไป (Figure 2.2) (Nadhirah and Nurul, 2022)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

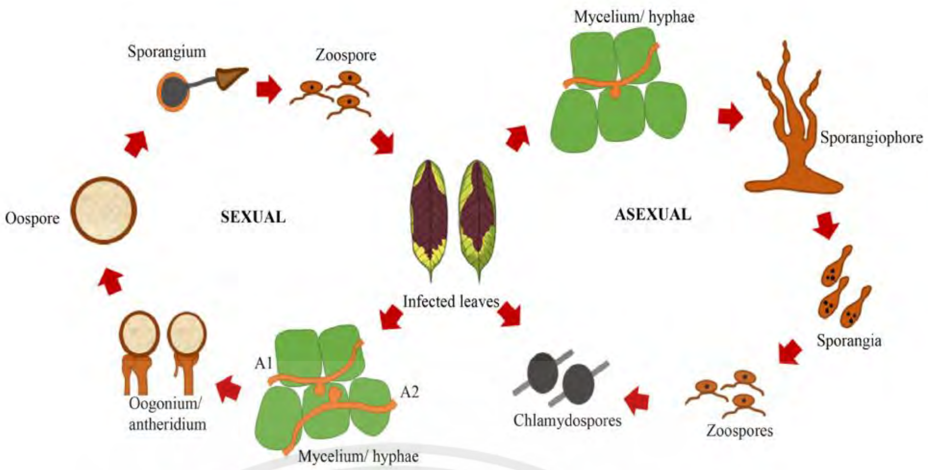


Figure 2.2 The life cycle of *Phytophthora* sp. (Sources: Nadhirah and Nurul, 2022)

2.3 โรคทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp.

2.3.1 โรครากเน่าโคนเน่า (Root and Stem rot)

โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน ซึ่งมีเชื้อรา *Phytophthora* sp. เป็นปัญหาสำคัญที่สุดในการปลูกทุเรียน เนื่องจากทำให้ต้นทุเรียนที่กำลังเจริญเติบโตและให้ผลผลิตยืนต้นตายได้ เชื้อราอาศัยอยู่ในดิน ที่มีการระบายน้ำไม่ดี ชื้น และแฉะตลอดเวลา เหมาะกับการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค สามารถแพร่ระบาดได้ทั้งในน้ำ และ อากาศ เชื้อราสาเหตุสามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกส่วนได้แก่ ราก ลำต้น กิ่ง ใบ และ ผล เกิดการลุกลามของโรคทำให้ทุเรียนแสดงอาการต้นโทรม ระบบรากเสีย มีอาการลำต้นหรือรากเน่า การแพร่ระบาดของเชื้อราเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดความเสียหายให้กับเกษตรกรเป็นอย่างมาก นับเป็นโรคที่สำคัญต่อการผลิตทุเรียนเป็นอย่างยิ่ง (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562)

ลักษณะอาการ

บริเวณรากมีลักษณะฉ่ำน้ำ และเน่า ทำให้เกิดอาการใบเหี่ยว เมื่ออาการรุนแรงใบจะเหลืองและหลุดร่วง พบว่ารากฝอยมีลักษณะเปลือกล่อน เปื่อยยุ่ยเป็นสีน้ำตาล ถ้าแผลขยายใหญ่ลุกลามไปยังรากแขนงและรอบโคนต้น ทำให้ทุเรียนใบรวงจนหมดต้นและยืนต้นตาย บริเวณปลือกแตกเป็นร่อง มีเมือกเยิ้มออกมาจากส่วนเปลือกของต้นที่แตก บางต้นอาจจะพบการเข้าทำลายของมอด และมอดจะนำเชื้อสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าแพร่กระจายไปยังส่วนอื่นของต้นทุเรียน (สำนักงานวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562)

การแพร่ระบาด

เชื้อราแพร่กระจายในอากาศโดยลม น้ำจะเป็นปัจจัยหลัก เนื่องจากเชื้อราอยู่ในที่ชื้นหรือน้ำในดิน ที่มีการระบายน้ำไม่ดี มีน้ำขัง จะสร้างสปอร์ ที่มีอวัยวะคล้ายแส้ ช่วยทำให้เคลื่อนย้ายในน้ำได้ เรียกว่า zoospore และสร้างสปอร์ที่มีผนังหนา สามารถพักตัวฝังอยู่ในดินได้เป็นเวลานานเรียกว่า chlamydospore เมื่อมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมจะเจริญและงอกเส้นใยแทงทะลุเข้าทำลายพืชได้ (สุมิตร, 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แนวทางการป้องกันกำจัด

1. หมั่นสำรวจแปลงปลูกอย่างสม่ำเสมอ หากพบโรค เก็บชิ้นส่วน แล้วนำไปเผาทำลายนอกแปลง
2. พื้นที่ปลูกควรมีการระบายน้ำที่ดี ไม่ควรมีน้ำท่วมขัง หากมีน้ำท่วมขังควรปรับให้พื้นที่มีการระบายออก
2. ปรับปรุงดิน โดยใส่ปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก และปรับสภาพดินให้มีค่าความเป็นกรดด่างของดินประมาณ 6.5
3. ต้นทุเรียนที่เป็นโรครุนแรงมาก หรือยืนต้นแห้งตาย ตัดแต่งกิ่งเป็นโรค กิ่งแห้ง ขุดออกแล้วนำไปทำลายนอกแปลงปลูกแล้วตากดินไว้ระยะหนึ่ง จึงปลูกทดแทน (สำนักงานวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2562)

2.3.2 โรคผลเน่า (Fruit rot)

เชื้อรา *Phytophthora* sp. สามารถเข้าทำลายผลทุเรียนได้ตั้งแต่ระยะผลอ่อน จนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตทุเรียน และหลังการเก็บเกี่ยวในระหว่างการบ่มผลทุเรียนให้สุก แต่มักพบเชื้อราเข้าทำลายระยะผลใกล้แก่ หรืออายุ 65 วันขึ้นไปหลังระยะหางแย้ไหม้ การเข้าสู่ผลของเชื้อสาเหตุ เกิดจากเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดินอยู่แล้ว ดินที่มีน้ำขังระบายน้ำออกได้ไม่ดี สามารถแพร่กระจ่ายในอากาศโดยลม หรือเกิดจากเชื้อราสาเหตุที่เข้าทำลายใบและกิ่งทุเรียนอยู่แล้ว เมื่อมีสภาพแวดล้อมมีความชื้นที่เหมาะสม เชื้อสาเหตุจะแพร่เข้าสู่ผลทุเรียน ถ้าอาการรุนแรงมาก ผลทุเรียนจะเน่าและร่วงหล่นก่อนการเก็บเกี่ยว และในช่วงระหว่างการบ่มผลทุเรียนให้สุก (สำนักงานเลขานุการกรม กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2563)

ลักษณะอาการ

ในระยะอาการเริ่มแรกผลที่ติดเชื้อราสาเหตุ บริเวณเปลือกจะแสดงอาการจุดขนาดเล็ก สีน้ำตาลดำฉ่ำน้ำ ที่เปลือกหรือก้นผลทุเรียน ต่อมาจุดแผลจะลุกลามขยายใหญ่ตามการสุกของผลทุเรียนจะพบลอยแตกระหว่างร่องหนาม ถ้าสภาพอากาศมีความชื้นสูงอาจพบเส้นใยสีขาวของเชื้อราสาเหตุโรคเจริญบริเวณแผล ลุกลามเข้าสู่เนื้อด้านใน ทำให้ผลเน่าและร่วงก่อนกำหนด ภายในผลจะพบเนื้อเยื้อโดยรอบของเปลือกเน่าช้ำสีน้ำตาล ทำให้เนื้อทุเรียนเสีย มีรสชาติเปรี้ยว ส่งกลิ่นเหม็น เชื้อราอาจเข้าลึกถึงเมล็ด โรคผลเน่า มีเชื้อสาเหตุชนิดเดียวกับโรครากเน่าและโคนเน่า ดังนั้นเพื่อป้องกันกำจัดโรคพืชให้มีประสิทธิภาพที่ดี ควรทำการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าไปพร้อมกัน (สำนักงานเลขานุการกรม กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2563)

แนวทางการป้องกันกำจัด

1. หมั่นสำรวจแปลงปลูกอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะในช่วงผลใกล้แก่ หากพบอาการผลเป็นจุดเน่า ควรทำการฉีดพ่นสาเคมี หรือเก็บผลเน่าที่ร่วงหล่นไปเผาทำลายนอกแปลง
2. ไม่นำเครื่องมือตัดแต่งที่ใช้กับต้นเป็นโรคไปใช้ต่อกับต้นปกติ และควรทำความสะอาดเครื่องมือก่อนนำไปใช้ใหม่ทุกครั้ง
3. ในแปลงปลูกที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคผลเน่าสูง เนื่องจากมีต้นที่เป็นโรครากเน่าและโคนเน่าในแปลงมาก หรือมีความชื้นในอากาศสูงในช่วงทุเรียนใกล้เก็บเกี่ยวผล เชื้อสาเหตุโรคอาจจะติดไปกับผลได้โดยยังไม่แสดงอาการ ดังนั้น การเก็บเกี่ยวผลต้องระมัดระวังไม่ให้ผลทุเรียนสัมผัสกับดิน โดยใช้ตระกล้าพลาสติกหรือเข่งที่สะอาด หรือปูพื้นดินที่จะวางผลด้วยวัสดุหรือกระสอบที่สะอาด เพื่อลดโอกาสที่ผลจะสัมผัสกับดินซึ่งมีเชื้อสาเหตุโรค และการขนย้ายควรระมัดระวังเพื่อไม่ให้เกิดแผลบนผลทุเรียน (สำนักงานเลขานุการกรม กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 สารเคมีกลุ่ม C ที่ใช้ในการทดสอบป้องกันกำจัดเชื้อรา *Phytophthora* sp.

2.4.1 กลไกลการออกฤทธิ์กลุ่ม C สารที่มีกลไกออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจ

กระบวนการหายใจระดับเซลล์ (cellular respiration) จะเป็นกระบวนการสลายโมเลกุลของสารอาหารภายในเซลล์ ที่เกิดจากขบวนการ ไกลโคลิซิส (glycolysis) ไพรูเวทออกซิเดชัน (pyruvate oxidation) วัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle) เกิดกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (electron transport chain) การขนส่งอิเล็กตรอนให้แก่ตัวรับอิเล็กตรอนที่แทรกอยู่ในเยื่อหุ้มชั้นในของไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ประกอบด้วยเอนไซม์ที่เกาะเป็นกลุ่ม (group) เรียกว่า โคเอนไซม์หรือหมู่พรอสเทติก (prosthetic group) ไซโทโครม (cytochrome, Cyt) และยูบิควิโนน (ubiquinone, UQ) การขนส่งอิเล็กตรอนจะส่งผ่านแบ่งเป็นกลุ่มตามลักษณะการทำงานของเอนไซม์ 4 กลุ่ม คือ Complex I, complex II, complex III และ complex IV (Ishii et al. 2001) (ธิดา, 2559) (Figure 2.3)

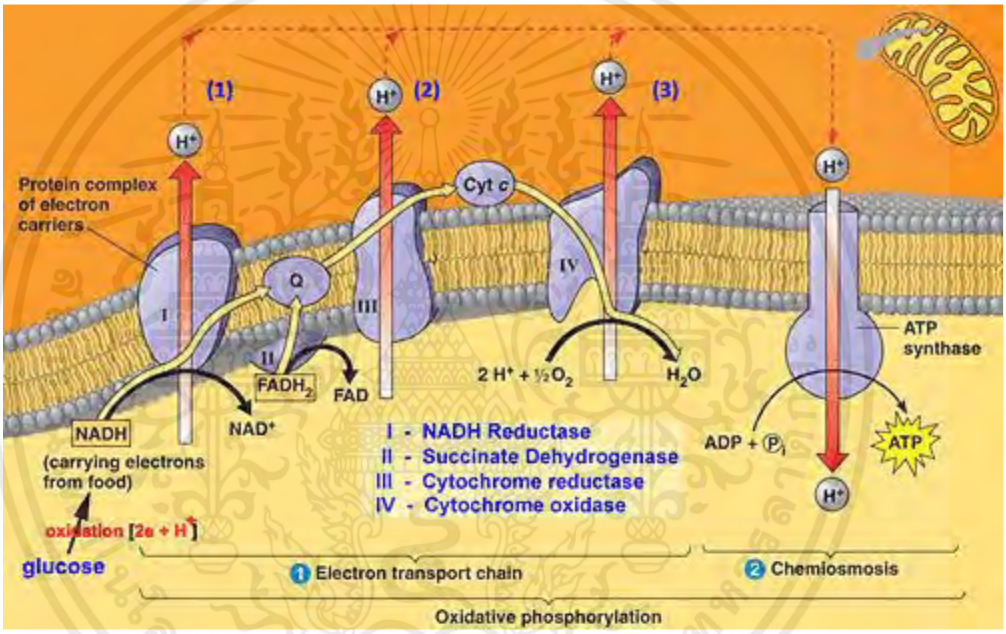


Figure 2.3 Modeling of enzyme groups complex I-IV

(**Source:** www.ck12.org/book/CK-12-Biology-Advanced-Concepts/section/5.13)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid

สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid มีรหัส FRAC code 21 จัดอยู่ในกลุ่ม Quinone inside Inhibitors; QiI–fungicides และอยู่ในกลุ่มเคมี cyano-imidazole กลุ่ม C4 เป็นสารที่มีกลไกออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจ มีจุดจับจำเพาะ complex III: cytochrome bc1 (ubiquinone reductase) ที่ Qi site ใน complex III จะประกอบด้วย cytochrome b, cytochrome c1 หรือเรียกโดยรวมว่า cytochrome bc1, Rieske iron sulfur protein (ISP) รวมทั้งกลุ่ม prosthetic โดยมีหน้าที่ขนส่งอิเล็กตรอนจากยูบิควิโนนไปยัง cytochrome c ควบคู่กับการเกิด Q cycle ซึ่งเป็นวงจรที่ยูบิคโนนจะถูกออกซิไดซ์และรีดิวซ์ (Q และ QH2) สลับกันเป็นวัฏจักร ซึ่งการถ่ายทอดอิเล็กตรอนจะเริ่มจากยูบิควิโนนที่อยู่บริเวณด้านนอกของเยื่อหุ้มชั้นในไมโทคอนเดรีย (Qo site) และรับอิเล็กตรอนสองตัวจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของยูบิควิโนน อิเล็กตรอนจะถูกแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งจะส่งไปยังยูบิควิโนนที่อยู่ที่ด้านในของเยื่อหุ้มชั้นในไมโทคอนเดรีย (Qi site) ผ่านหมู่ฮีม (heam) 2 ชนิดคือ bL และ bH ของไซโทโครมบีตามลำดับ อีกส่วนหนึ่งจะส่งต่อไปยัง ISP และ cytochrome c ตามลำดับ ซึ่ง cytochrome c จะมารับอิเล็กตรอนเพื่อส่งต่อไปยัง Complex IV ต่อไป ในระหว่างการขนส่งอิเล็กตรอนใน Complex นี้ จะมีการปั๊มโปรตอนผ่านเยื่อหุ้มออกไปด้านนอก (ธิดา, 2559) ไม่ทราบระดับความต้านทานที่แน่ชัด แต่คาดว่าเป็นกลุ่มสารที่มีความเสี่ยงอยู่ในระดับปานกลางถึงสูง โดยพบการกลายพันธุ์บริเวณจุดจับจำเพาะของเชื้อรา ไม่มีสเปกตรัมทับซ้อนกับ Oomycete ของสารฆ่าเชื้อรา cyazofamid และ amisulbrom (FRAC, 2022) (Figure 2.4)

Common name	:	cyazofamid
Molecular formulas	:	$C_{13}H_{13}ClN_4O_2S$
Chemical group	:	Quinone inside Inhibitors; QiI–fungicides (group 21)
Active ingredient	:	4-chloro-2-cyano-N,N-dimethyl-5-(4-methylphenyl)imidazole-1-sulfonamide
Chemical structure	:	

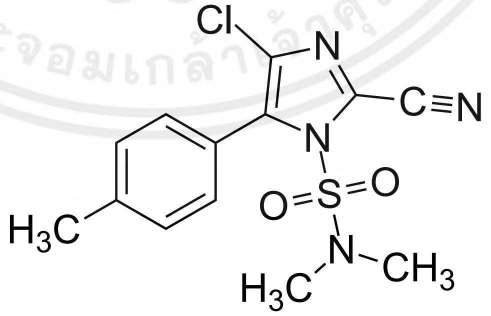


Figure 2.4 Chemical structure of cyazofamid
(**Source:** Fungicide resistance action committee, 2020)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Fluazinam

สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam มีรหัส FRAC code 29 จัดอยู่ในกลุ่ม 2,6-dinitro-anilines และอยู่ในกลุ่มเคมี fluazinam กลุ่ม C5 สารที่มีกลไกออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจ จุดจับจำเพาะ uncouplers of oxidative phosphorylation สารประกอบที่ลดแรงขับเคลื่อนโปรตอนที่ยับยั้งการสังเคราะห์ ATP ที่เกิดควบคู่กับการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ธิดา, 2559) พบการต้านทานจัดเป็นสารที่มีความเสี่ยงต่ำ แต่อย่างไรก็ตามพบความต้านทานของเชื้อรา *Botrytis* ของประเทศญี่ปุ่น (FRAC, 2022) (Figure 2.5)

Common name	:	fluazinam
Molecular formulas	:	$C_{13}H_4Cl_2F_6N_4O_4$
Chemical group	:	2,6-dinitro-anilines (group 29)
Active ingredient	:	3-Chloro-N-[3-chloro-2,6-dinitro-4-(trifluoromethyl)phenyl]-5-(trifluoromethyl)pyridin-2-amine
Chemical structure	:	

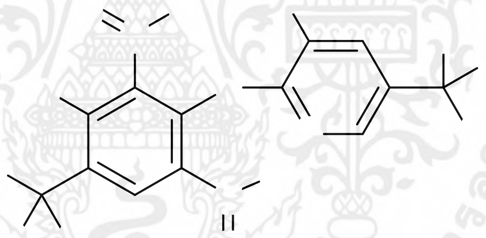


Figure 2.5 Chemical structure of fluazinam
(**Source:** Fungicide resistance action committee, 2021)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid

Did *et al*. (2017) ได้ทำการประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราบางชนิดต่อเชื้อรา *Phytophthora infestans* สาเหตุของโรคใบไหม้ในมะเขือเทศ จากการทดลองพบว่า ฤทธิ์ยับยั้งของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid ที่ผ่านการทดสอบแล้วใช้ในอัตราการแนะนำ 30 ml ที่ทดลองกับการเจริญเติบโตของไมซีเลียม PhK-1 และ PhK-2 ได้ค่า EC_{50} เท่ากับ 359.30 และ 531.56 mg/l ตามลำดับ

Marin and Peres (2021) ได้ทำการศึกษาการปรับปรุงกล่องเครื่องมือเพื่อจัดการโรค *Phytophthora* ที่ก่อให้เกิดโรคก่อเน่า และผลเน่าของสตอเบอร์รี่ การค้นหาทางเลือกของสารเคมี จากการทดลองพบว่า การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 5 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. nicotianae* 28 และ 32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รวมทั้งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. cactorum* 12 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Siegenthaler and Hansen (2021) ได้ทำการศึกษาความอ่อนแอต่อเชื้อรา *Phytophthora capsica* ที่แยกเชื้อสาเหตุได้จากรัฐเทนเนสซีต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid ที่ระดับความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 mg/l จากการทดลองพบว่า สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ค่า EC_{50} >1000 mg/l และมีความต้านทานสูง

สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam

Rekanovic *et al*. (2011) ได้ทำการประเมินความอ่อนแอของเชื้อรา *Phytophthora infestans* ที่แยกได้ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1.0 และ 10.0 mg/l จากการทดลองพบว่า สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam ต่อ *Phytophthora infestans* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ค่า EC_{50} เท่ากับ 0.14-0.27 mg/l ทุกไอโซเลทมีความอ่อนแอต่อสารเคมีป้องกันกำจัด fluazinam ตามเกณฑ์กำหนด FRAC 2022 ยังจัดให้ fluazinam เป็นสารเคมีป้องกันกำจัดที่มีความเสี่ยงต่ำต่อการดื้อยา

Did *et al*. (2017) ได้ทำการประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราบางชนิดต่อเชื้อรา *Phytophthora infestans* สาเหตุของโรคใบไหม้ในมะเขือเทศ จากการทดลองพบว่า ฤทธิ์ยับยั้งของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam ที่ผ่านการทดสอบแล้วใช้ในอัตราการแนะนำ 50 ml ที่ทดลองกับการเจริญเติบโตของไมซีเลียม PhK-1 และ PhK-2 ได้ค่า EC_{50} เท่ากับ 2.35 และ 11.84 mg/l ตามลำดับ

Marin and Peres (2021) ได้ทำการศึกษาการปรับปรุงกล่องเครื่องมือเพื่อจัดการโรค *Phytophthora* ที่ก่อให้เกิดโรคก่อเน่า และผลเน่าของสตอเบอร์รี่ การค้นหาทางเลือกของสารเคมี จากการทดลองพบว่า การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 5 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P*. nicotianae 44 และ 68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รวมทั้งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P*. cactorum 12 และ 22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 เก็บรวบรวมและแยกเชื้อรา *Phytophthora* sp.

3.1.1 เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคทุเรียนที่แสดงอาการจากเชื้อราสาเหตุ *Phytophthora* sp.

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างทุเรียนที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp. จากลำต้น และผลของทุเรียนในจังหวัดชุมพร ซึ่งแยกออกเป็น 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอปะทิว และอำเภอท่าแซะ มาทำการศึกษาและแยกเชื้อราสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

วิธีการบันทึกข้อมูล

1. บันทึกรายละเอียดของพืชที่พบตัวอย่าง
2. วัน/เดือน/ปี แหล่งที่พบ
3. พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS)
4. ถ่ายภาพ

3.1.2 การแยกเชื้อราจากตัวอย่างโรคทุเรียน

นำตัวอย่างโรคที่เก็บรวบรวมได้มาทำการแยกเชื้อรา โดยวิธี tissue transplanting โดยตัดชิ้นส่วนพืชบริเวณแผลที่พืชโดนเข้าทำลาย ให้มีขนาด 0.5 x 0.5 cm ฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวโดยแช่ sodium hypochlorite (10% Clorox®, USA) ประมาณ 3-5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 3-5 นาที ซับด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อให้แห้ง และนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NARH-M1 V8 selective medium โดยดัดแปลงจากวิธีของ Jeffers and Martin (1986); Ferguson and Jeffers (1999) ดังแสดงใน (Table 3.1) ภายในตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow clean bench) นำไปบ่มไว้ในตู้บ่มเชื้อ (incubator) 2-3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสังเหตุเห็นเส้นใยของเชื้อราที่เจริญออกมาใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. ตัดบริเวณปลายเส้นใยที่เจริญออกมาวางบนอาหาร V8 agar สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

การแยกเชื้อราบริสุทธิ์ด้วยวิธี single spore isolation (SSI) ดัดแปลงวิธีจาก Ho and Ko, (1997) ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. เขี่ยเส้นใยบริเวณที่มีสปอร์ของเชื้อรา โดยนำเส้นใยที่มีสปอร์ของเชื้อราใส่ลงใน micro tube ที่เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 1 ml. จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer เทลงบนจานอาหารเพาะเชื้อ Water agar (WA) นำมาเลี้ยงไว้อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และจุดหรือวาดวงกลมตรงที่มีสปอร์ด้านล่างของจานเพาะเชื้อ จากนั้นใช้มีด หรือ cork borer ตัดย้ายลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) (Difco™ ,USA) หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5-7 วัน และเก็บไว้ใน PDA slant สำหรับใช้ในการศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

*Clarified V8 Concentrate = Buffered V8 Juice [1.0 g $CaCO_3$/100 ml V8 Juice] clarified by:

• Centrifugation [1000 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)

3.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาแยกเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

นำเชื้อราบริสุทธิ์ มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบนอาหารบริเวณกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณภูมิห้องจนเชื้อราเจริญเติบเต็มจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นใช้เข็มเขี่ยเส้นใยเชื้อราแล้วหยดด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ววางบนกระจกสไลด์ ปิดด้วยแผ่น cover slip และศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยกรรมวิธีของ Gallegly and Hong (2008); Suksiri *et al.* (2018)

การบันทึกข้อมูล

1. ลักษณะและสีของโคโลนี
2. ลักษณะเส้นใย ลักษณะสปอร์ และวัดขนาดสปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.3 การทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบ (Pathogenicity test) ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

นำเชื้อรา *Phytophthora* sp. เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ อุณหภูมิห้อง แล้วนำใบทุเรียนที่ไม่เป็นโรค มาทดสอบด้วยวิธี detached leaf โดยดัดแปลงจาก Suksiri *et al.* (2018) มาทำความสะอาดฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวโดยแช่ 10% Clorox ประมาณ 5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อประมาณ 2-3 นาที ซับด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อให้แห้ง จากนั้นนำเข็มที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาเจาะบนใบทุเรียน 6 แผล ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดชิ้นส่วนเชื้อรา *Phytophthora* sp. จากการเลี้ยงบนอาหาร PDA นำไปปลูกเชื้อบนใบทุเรียน และให้ความชื้นโดยนำกระดาษทิชชูที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อชุบน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ชุ่ม จากนั้นพันขั้วใบทุเรียน แล้วนำไปใส่กล่องพลาสติก ให้ความชื้นด้วยการนำน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเทลงในกล่อง ปริมาณ 500 ml โดยวาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ศึกษาเพื่อการใช้ประโยชน์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังเท่านั้น ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตระแกรงลวดไว้ในกล่องเพื่อไม่ให้ใบติดก้นกล่อง ปิดฝา เพื่อทำการบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการณ์เกิดโรค

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกภาพ
2. วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลบนใบทุเรียน

3.4 ประเมินประสิทธิภาพของ cyazofamid และ fluazinam ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียนในสภาพห้องปฏิบัติการ

3.4.1 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมกับสารป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid (a.i. 40%) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10 และ 100 mg/l และ สารป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam (a.i. 50%) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10 และ 100 mg/l โดยใช้ coke borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. ตัดบริเวณของโคโลนีของเชื้อราแต่ละไอโซเลท นำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อรากับชุดควบคุมคือ อาหาร PDA ที่ไม่ได้ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา ทำการทดลองความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการทดลอง และนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรค โดยดัดแปลงวิธีการของ Marinho *et al.*, 2018

บันทึกผลการทดลอง

1. วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา
2. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย เพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

การวิเคราะห์ข้อมูล

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรค (percent inhibition of mycelia growth; PIMG) ใช้สูตรดังนี้

$$\text{PIMG} = \frac{R1-R2}{R1} \times 100$$

โดยกำหนดให้ R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม
R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชุดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การคำนวณประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid และ fluazinam ในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora* sp.

นำผลการทดลองมาแสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น โดยกำหนดให้ (แกน X) เป็นค่า log ของความเข้มข้นของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่ใช้ทดสอบ และให้ (แกน y) เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต จะได้ค่าความเข้มข้นนำมาหาค่า antilog จะได้ความเข้มข้นของสารเคมีที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (Half Maximum Effective concentration; EC_{50}) ดังสมการ

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

โดยกำหนดให้ Y = เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

X = ความเข้มข้นของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

โดยนำค่า EC_{50} ที่คำนวณได้จากสมการดังกล่าว ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

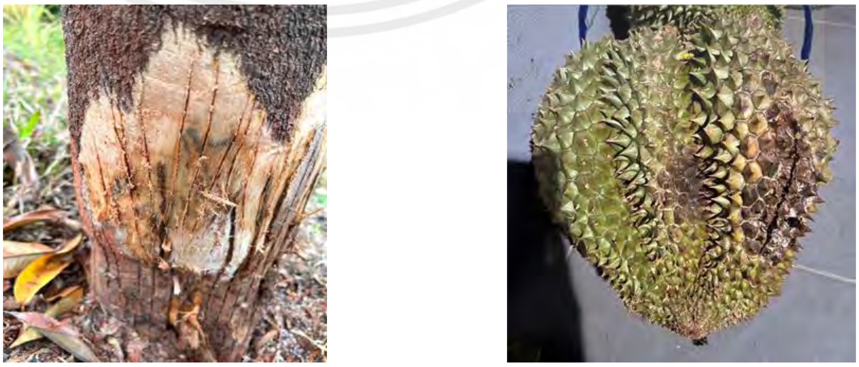
บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 การแยกและรวบรวมเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียนจาก 3 สวน ในพื้นที่ 3 อำเภอในจังหวัดชุมพร ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอท่าแซะ และอำเภอปะทิว แสดงรายละเอียดในตารางที่ Table 4.1 ที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp. ซึ่งมีลักษณะอาการจากลำต้น และผลของทุเรียน ดังนี้ ลักษณะอาการที่พบบนลำต้น ผิวเปลือกจะแตกเป็นร่อง มีเมือกไหลเยือมออกมา และเนื้อเยื่อเปลือกที่ถูกทำลายจะมีสีน้ำตาลแดงไปจนถึงน้ำตาลเข้ม โดยกลางแผลจะมีสีเข้มกว่าขอบแผล (Figure 4.1 A) และพบอาการผลเน่า บริเวณเปลือกจะนิ่มและยุบตัวลง รอยแผลเป็นสีน้ำตาลเทาไปจนถึงสีดำช้ำ แผลจะขยายใหญ่ลุกลามมากขึ้นตามรูปร่างของผล ซึ่งทำให้เกิดเป็นแผลเน่าเจริญลุกลามเข้าไปในเนื้อทุเรียน (Figure 4.1 B)

Table 4.1 List of location details and condition in Chumphon

District	Sub-district	Farmer name	GPS	Isolate code
Mueang	Tham Sing	Satthawut Thaites	10 24 53 N, 99 3 33 E	M_1
Mueang	Tham Sing	Satthawut Thaites	10 24 53 N, 99 3 33 E	M_2
Mueang	Tham Sing	Satthawut Thaites	10 24 53 N, 99 3 33 E	M_3
Pathio	Chum Kho	Thanawut Saranate	10 46 11 N, 99 24 3 E	Pt_1
Pathio	Chum Kho	Thanawut Saranate	10 46 11 N, 99 24 3 E	Pt_2
Tha Sae	Rab Ro	Sonram Muenphakdi	10 48 9 N, 98 57 39 E	Ts_1
Tha Sae	Rab Ro	Sonram Muenphakdi	10 48 12 N, 98 57 39 E	Ts_2
Tha Sae	Rab Ro	Sonram Muenphakdi	10 48 11 N, 98 57 35 E	Ts_3
Tha Sae	Rab Ro	Natthaphong Phosridi	10 47 25 N, 98 59 37 E	Ts_4
Tha Sae	Rab Ro	Natthaphong Phosridi	10 47 24 N, 98 59 37 E	Ts_5



(A) (B)

Figure 4.1 Symptoms of *Phytophthora* disease on naturally infected (A) durian stem, (B) durian fruits.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากการแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี single spore isolate (SSI) แยกเชื้อราได้ จำนวน 10 ไอโซเลท ดังนี้ M_1, M_2,M_3, Pt_1, Pt_2, Ts_1, Ts_2, Ts_3, Ts_4 และ Ts_5 ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้ โดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน สามารถแบ่งลักษณะโคโลนีที่พบได้ 2 แบบ ได้แก่ แบบแฉกคล้ายรูปดาว (stellate) และ แบบแผ่รัศมี (radiate) ประกอบด้วย จำนวน 2 ไอโซเลท คือ M_1 และ M_3 มีลักษณะโคโลนีแบบ radiate มีจำนวน 8 ไอโซเลท คือ M_2, Pt_1, Pt_2, Ts_1, Ts_2, Ts_3, Ts_4 และ Ts_5 มีลักษณะโคโลนีแบบ stellate เมื่อตรวจสอบลักษณะเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400X พบว่า ทั้ง10 ไอโซเลทมีลักษณะเส้นใยใสไม่มีสี ไม่มีผนังกั้น (non-septate) แตกกิ่งก้านแบบ simple sympodium หรือไม่มีความแน่นอน มีการสร้าง sporangium 2 แบบ ได้แก่ ellipsoid และ ovoid ไอโซเลทที่มี sporangium แบบ ellipsoid มีจำนวน 3 ไอโซเลท คือ Pt_1, Ts_2 และ Ts_5 และไอโซเลทที่มี sporangium แบบ ovoid มีจำนวน 7 ไอโซเลท คือ M_1, M_2, M_3, Pt_2, Ts_1,Ts_3, และ Ts_4 พบส่วนปลายของ sporangium แบบมี papillate ชัดเจน จำนวน 5 ไอโซเลท คือ M_2, M_3, Pt_2, Ts_1, และ Ts_4 และมี papillate แบบ semi-papillate จำนวน 5 ไอโซเลท คือ M_1, Pt_1, Ts_2,Ts_3 และ Ts_5 ทุกไอโซทเลทสร้าง chlamydospores รูปร่างค่อนข้างกลม (Table 4.2, Figure 4.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4.2 Morphology characterization of *Phytophthora* sp. Isolates causing durian disease.

Isolate Code	Colony pattern	Growth rate (mm/day)	Sporangium				Chlamydospores	
			Shape	Length (µm)	Width (µm)	Papillate	Length (µm)	Width (µm)
M_1	stellate	9.53±0.20	ovoid	61.25±8.30	31.25±2.50	semi-papillate	39.00±3.92	38.5±3.42
M_2	radiate	9.25±0.13	ovoid	60.25±8.66	32.5±7.14	papillate	34.00±4.69	34.5±5.92
M_3	stellate	4.43±0.15	ovoid	55.00±9.87	33±3.27	papillate	35.5±10.75	35.25±12.76
Pt_1	radiate	8.87±0.08	ellipsoid	51.00±10.23	32.00±2.16	semi-papillate	29.5±4.43	28.75±4.79
Pt_2	radiate	7.69±0.42	ovoid	47.25±9.57	34.25±3.40	papillate	33.5±5.57	33.5±6.35
Ts_1	radiate	6.13±0.08	ovoid	51.75±6.65	30.5±4.80	papillate	34.35±5.06	33.75±5.19
Ts_2	radiate	8.97±0.36	ellipsoid	63.25±11.24	38.75±5.85	semi-papillate	36.25±4.57	36.75±4.35
Ts_3	radiate	6.16±0.04	ovoid	58.00±6.06	41.5±1.73	semi-papillate	45.25±4.86	45.00±4.69
Ts_4	radiate	7.02±0.22	ovoid	65.00±6.38	33.5±5.26	papillate	41.75±8.73	41.5±9.68
Ts_5	radiate	8.31±0.19	ellipsoid	67.00±12.03	38.00±5.72	semi-papillate	33.75±8.22	33.5±7.72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

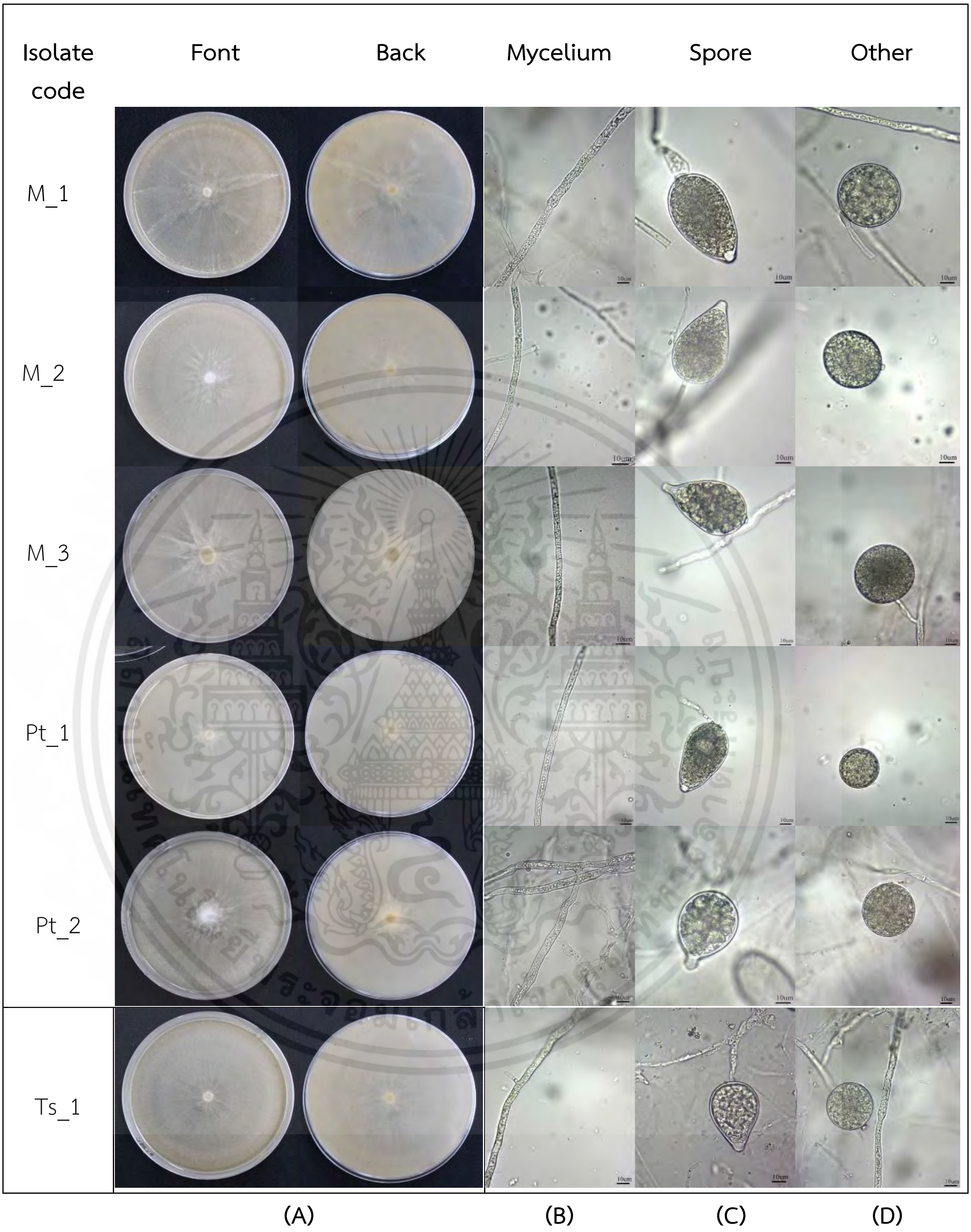


Figure 4.2 Morphological characteristics of *Phytophthora* sp. isolates causing durian disease; colony (A), hypha (B), sporangium (C), and chlamydospores (D)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

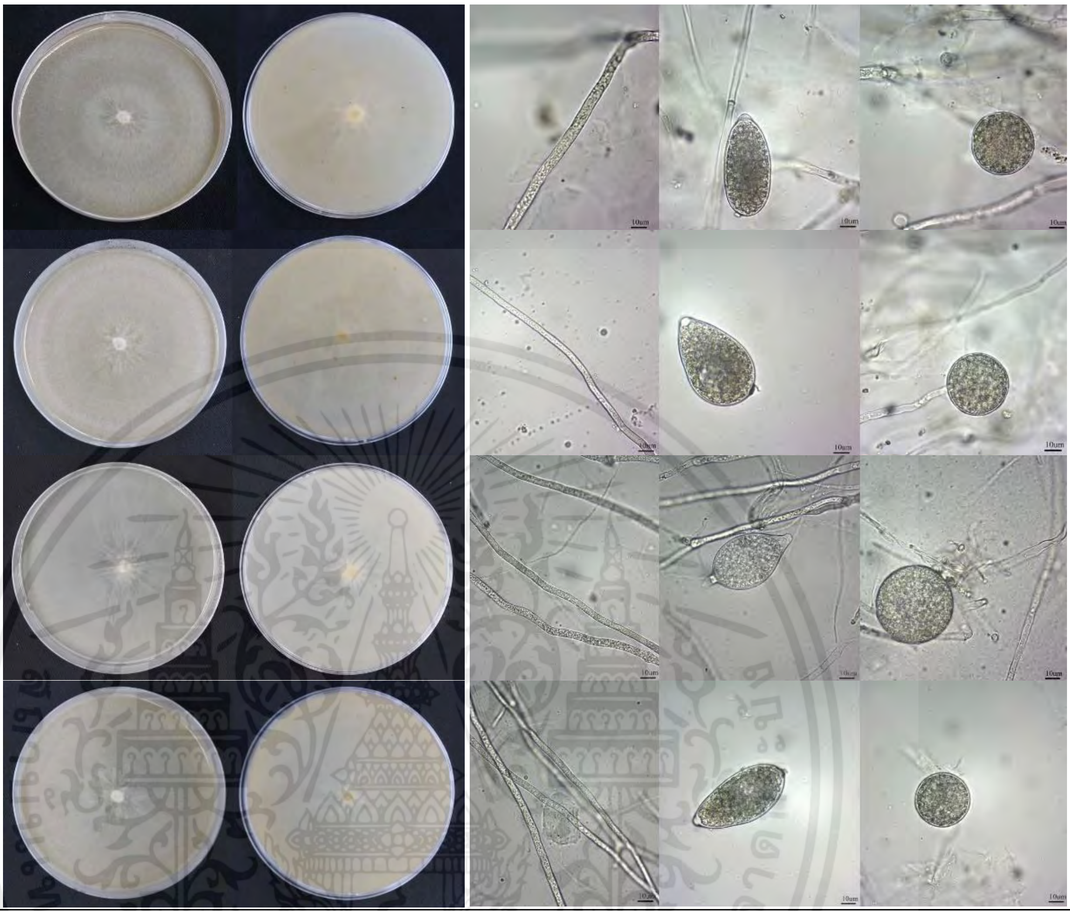


Figure 4.2 Continues

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora* sp. โดยการปลูกเชื้อลงบนใบทุเรียน ทั้ง 10 ไอโซเลท (M_1, M_2, M_3, Pt_1, Pt_2, Ts_1, Ts_2, Ts_3, Ts_4, และ Ts_5) สามารถก่อโรคได้บนใบ ทั้งนี้แต่ละไอโซเลทเข้าทำลายใบทุเรียนมีขนาดบาดแผลแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ในวันที่ 2 พบว่า ไอโซเลท Ts_5 และ Pt_1 มีขนาดบาดแผลเฉลี่ยสูงสุดที่ 19.82 มิลลิเมตร และ 17.83 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในวันที่ 3 พบว่าทุกไอโซเลทมีขนาดบาดแผลเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ ไอโซเลท Ts_5 มีขนาดบาดแผลเฉลี่ย 20.32 มิลลิเมตร และ ไอโซเลท Pt_1 มีขนาดบาดแผลเฉลี่ย 20.77 มิลลิเมตร (Table 4.3, Figure 4.3)

Table 4.3 Lesion diameter on durian leaves after inoculation with *Phytophthora* sp. on wounded leaves for 3 days

Isolate code	Lesion diameter (mm)	
	Day 2	Day 3
M_1	7.70c	12.76b
M_2	11.81b	12.31b
M_3	5.94c	8.10c
Pt_1	17.83a	20.78a
Pt_2	6.88c	11.58b
Ts_1	13.33b	12.61b
Ts_2	7.60c	12.51b
Ts_3	6.65c	8.71c
Ts_4	6.52c	8.19c
Ts_5	19.82a	20.32a
Isolates	*	*
CV (%)	14.17	9.51
LSD	2.5123	2.0707

1/ Average of four replications. Means are not significantly different from one another.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Figure 4.3 Pathogenic test on detached leaf assays after inoculated with 10 isolates for 3 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolate code	1 Day	2 Days	3 days
Ts_1			
Ts_2			
Ts_3			
Ts_4			
Ts_5			

Figure 4.3 Continues

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid และ fluazinam ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. ในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid และ fluazinam ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* sp. บนอาหาร PDA ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10, และ 100 mg/l วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเพื่อนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา พบว่า สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 4 ไอโซเลท M_3, Ts_5, Pt_2, และ M_1 ได้ 72.54, 67.11, 56.62, และ 51.83 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่อมา พบว่า cyazofamid ที่ระดับความเข้มข้น 10 mg/l มีเพียงจำนวน 1 ไอโซเลทคือ Ts_5 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต ได้ 55.95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ทุกไอโซเลท คือ 52.96-70.70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และ fluazinam ที่ระดับความเข้มข้น 10 mg/l มีจำนวน 4 ไอโซเลท คือ Ts_1, Ts_5, Ts_3, และ Ts_2 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต ได้ 53.92, 53.44, 53.01 และ 51.62 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ทั้งนี้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid และ fluazinam ที่ระดับความเข้มข้น 1 mg/l สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ได้ที่ 2.30-36.92 เปอร์เซ็นต์ (Table 4.4, Figure 4.4)

จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต ในแต่ละระดับความเข้มข้นของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา มาแสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น กับ log ของความเข้มข้นของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ในสมการ Regression equation หาค่า antilog เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 50% (Half Maximum Effective Concentration; EC_{50}) พบว่า สารเคมี cyazofamid สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ค่า EC_{50} >100 mg/l จำนวน 8 ไอโซเลท คือ M_1, M_2, Pt_1, Pt_2, Ts_1, Ts_2, Ts_3 และ Ts_4 ยกเว้น M_3 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยที่ค่า EC_{50} เท่ากับ 13.05 mg/l และ Ts_5 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยที่ค่า EC_{50} เท่ากับ 6.60 mg/l ในขณะ ที่สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทุกไอโซเลท ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 12.65-60.22 mg/l (Table 4.5 , Figure 4.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4.4 Inhibitory effects of fungicides at 1, 10, and 100 mg/l on radius of colony and mycelial growth of *Phytophthora* sp.

Isolate code	Fungicides	Percent of inhibition (%)		
		1	10	100
M_1	cyazofamid	16.51	25.42	51.83
	fluazinam	10.10	32.54	54.93
M_2	cyazofamid	16.19	21.74	44.67
	fluazinam	21.35	45.07	65.46
M_3	cyazofamid	36.92	34.36	72.54
	fluazinam	3.52	42.26	52.96
Pt_1	cyazofamid	16.15	20.71	25.54
	fluazinam	22.37	39.60	57.77
Pt_2	cyazofamid	15.91	13.61	56.62
	fluazinam	23.54	48.61	61.52
Ts_1	cyazofamid	18.05	24.90	26.36
	fluazinam	20.86	53.92	58.17
Ts_2	cyazofamid	6.07	9.51	35.14
	fluazinam	23.19	51.62	64.86
Ts_3	cyazofamid	2.30	19.48	14.16
	fluazinam	16.94	53.01	60.25
Ts_4	cyazofamid	5.81	9.71	20.92
	fluazinam	22.85	51.51	63.15
Ts_5	cyazofamid	35.50	55.95	67.11
	fluazinam	17.75	53.44	70.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4.5 Fungicides, regression equation, coefficient of determination (R2), sensitivity and 50% effective concentration of mycelial growth of *Phytophthora* sp. causing durian disease.

Isolate code	Fungicides	Regression equation	R^2	EC_{50}
M_1	cyazofamid	y = 7.6689ln(x) + 13.593	0.9243	>100
	fluazinam	y = 9.7353ln(x) + 10.105	1	60.22
M_2	cyazofamid	y = 6.185ln(x) + 13.293	0.8897	>100
	fluazinam	y = 9.5787ln(x) + 21.905	0.9981	18.79
M_3	cyazofamid	y = 7.7349ln(x) + 30.128	0.6965	13.05
	fluazinam	y = 10.735ln(x) + 8.1965	0.9031	49.11
Pt_1	cyazofamid	y = 2.0392ln(x) + 16.107	0.9997	>100
	fluazinam	y = 7.6865ln(x) + 22.216	0.9998	37.14
Pt_2	cyazofamid	y = 8.8394ln(x) + 8.3592	0.7076	>100
	fluazinam	y = 8.2489ln(x) + 25.562	0.967	19.35
Ts_1	cyazofamid	y = 1.8045ln(x) + 18.946	0.8771	>100
	fluazinam	y = 8.1014ln(x) + 25.663	0.8342	20.17
Ts_2	cyazofamid	y = 6.3123ln(x) + 2.3688	0.8374	>100
	fluazinam	y = 9.0489ln(x) + 25.725	0.9576	37.14
Ts_3	cyazofamid	y = 2.5757ln(x) + 6.0518	0.4546	>100
	fluazinam	y = 9.4032ln(x) + 21.746	0.8713	16.10
Ts_4	cyazofamid	y = 3.2801ln(x) + 4.5937	0.9278	>100
	fluazinam	y = 8.7516ln(x) + 25.683	0.9439	16.10
Ts_5	cyazofamid	y = 6.8627ln(x) + 37.052	0.9719	6.60
	fluazinam	y = 11.499ln(x) + 20.818	0.9612	12.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

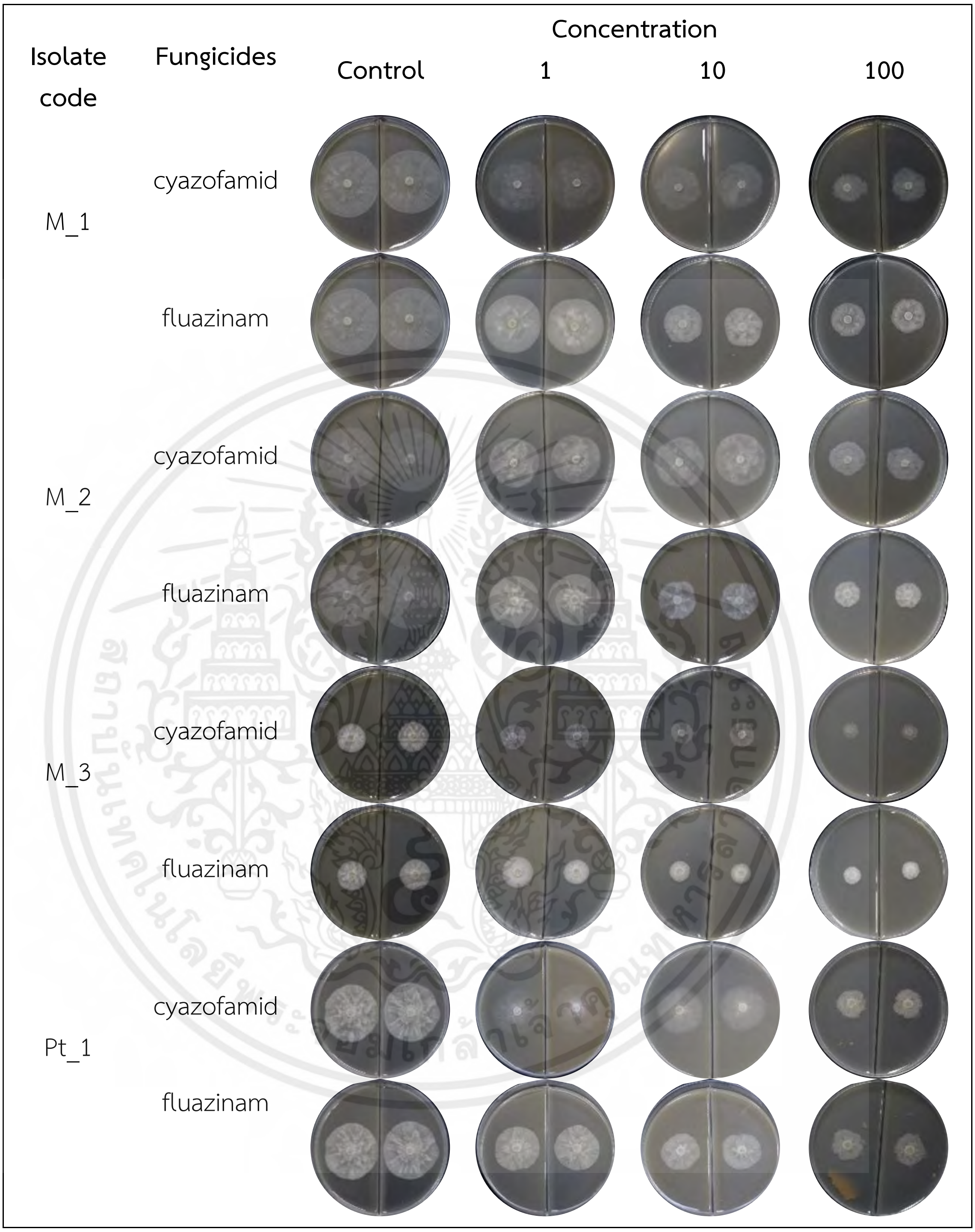


Figure 4.4 The effect of cyazofamid and fluazinam at 1, 10, and 100 mg/l of *Phytophthora* sp. on PDA for 3 days

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

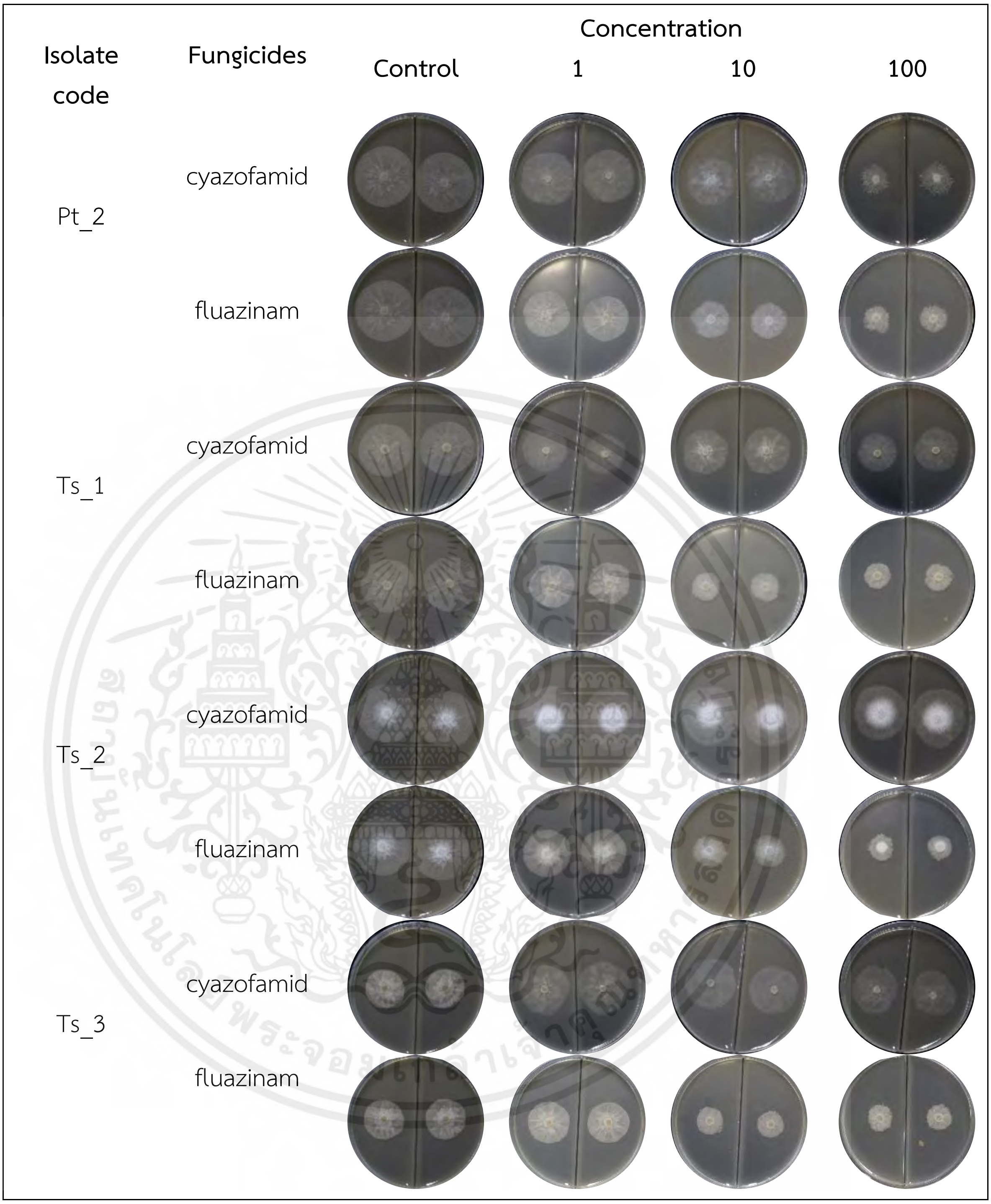


Figure 4.4 continues.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

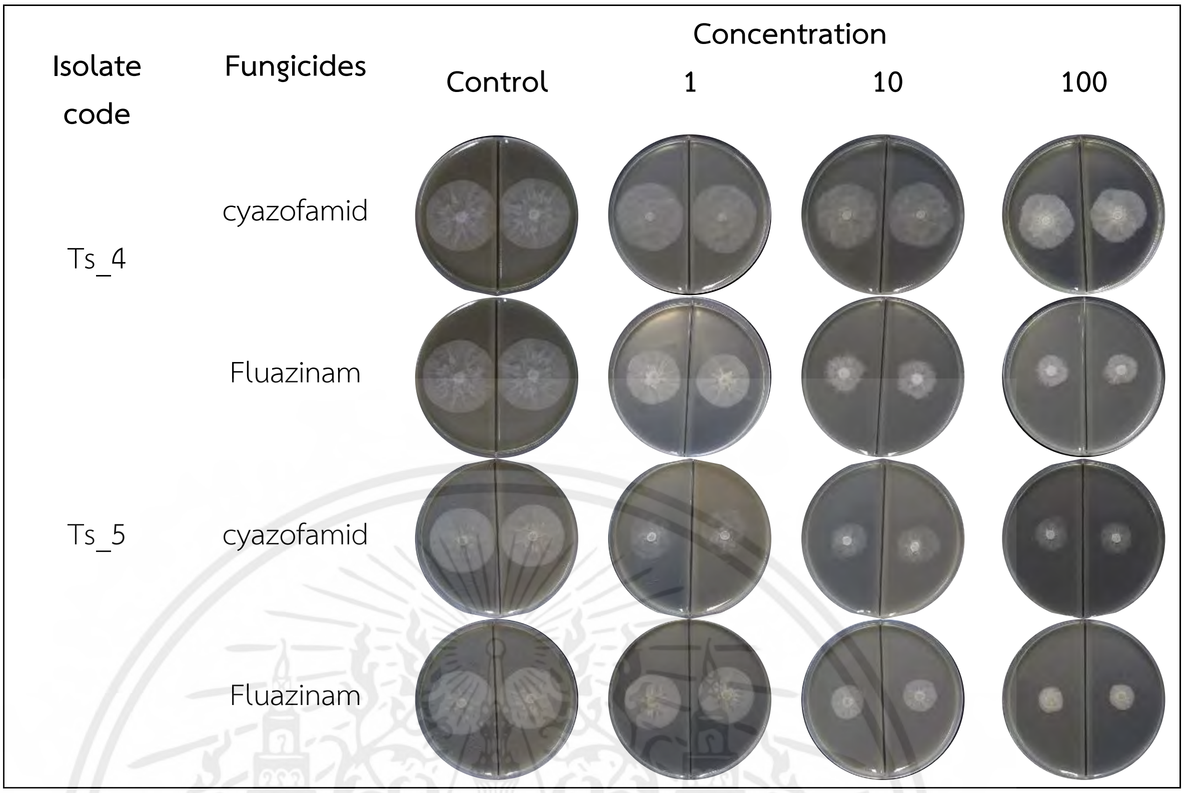


Figure 4.4 continues.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 เก็บรวบรวม จัดจำแนก และศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคลำต้นเน่า และ โรคผลเน่า ทำการแยก โดยวิธีการ Tissue transplanting technique เพื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาสำหรับการจัดจำแนกเชื้อรา นำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NARH-M1 V8 selective medium ตามรายงานของ Jeffers and Martin (1986) และ Ferguson and Jeffers (1999) จากผลการทดลองสามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ได้จำนวน 10 ไอโซเลท คือ M_1, M_2, M_3, Pt_, Pt_2, Ts_1, Ts_2, Ts_3, Ts_4, และ Ts_5 ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400X พบว่า พบลักษณะโคโลนีแบบ stellate คล้ายรูปดาว และ ลักษณะแบบ radiate คล้ายรัศมี ลักษณะเส้นใยเป็นแบบ non-septate เรียวยาว แตกกิ่งก้านแบบ simple sympodium หรืออาจไม่มีความแน่นอน มีการสร้าง sporangium แบบ ovoid, ellipsoid และมี papillate ชัดเจน หรือ semi-papillate และพบการสร้าง chlamydospores รูปร่างค่อนข้างกลม จากลักษณะดังกล่าว จัดจำแนกได้ว่าเป็น *Phytophthora* sp. ตรงตามรายงานของ Drenth and Sendall (2001); Gallegly and Hong (2008)

5.2 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora* sp. โดยการปลูกเชื้อลงบนใบทุเรียน เชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลท พบว่าทุกไอโซเลท สามารถก่อให้เกิดโรคบนใบทุเรียนได้ภายหลังการปลูกเชื้อ ในวันที่ 2 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อมรรัตน์ และ คณะ (2546) และ Suksiri *et al*. (2018) ทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบของเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Pythium* sp. กล่าวว่าผลจากการปลูกเชื้อลงบนใบทุเรียน เริ่มมีอาการติดเชื้อในวันที่ 2 แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลจนถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหน้า และท้องใบด้านหลัง แผลจะขยายลุกลามไปตามเส้นใบ ขนาดและรูปร่างไม่มีความแน่นอน แผลขยายใหญ่ขึ้นไปตามความกว้างและความยาวของใบทุเรียนแล้วขยายลุกลามจนเน่าหมดทั้งใบ

5.3 ประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid และ fluazinam ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid (21) และ fluazinam (29) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10, และ 100 mg/l พบว่า สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid (21) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10, และ 100 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ค่า EC_{50} >100 mg/l จำนวน 8 ไอโซเลท ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Siegenthaler and Hanse (2021) พบว่า cyazofamid มีรหัส FRAC 21 จัดอยู่ในกลุ่ม Quinone inside Inhibitors; QiI–fungicides มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจและการสร้างพลังงานโดยมีผลต่อเอมไซม์ชนิดเดียวกันกับสารในกลุ่ม Qi site แต่คนละตำแหน่งโดยจะจับกับควิโนนของ cytochrome bc_1 ที่เยื้อหุ้มชั้นในไมโทคอนเดรีย กล่าวว่าสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid ที่ระดับความเข้มข้น 0, 100, 500 และ

เอกสารนี้เป็น...
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1000 mg/l ต่อเชื้อรา *Phytophthora capsica* ที่แยกได้จากรัฐเทนเนสซี สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ค่า EC_{50} >1000 mg/l และมีความต้านทานสูง ซึ่งตรงกับรายงานของ Did et al. (2017) ได้ทำการประเมินประสิทธิภาพของารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราบางชนิดต่อเชื้อรา *Phytophthora infestans* สาเหตุของโรคใบไหม้ในมะเขือเทศ จากการทดลองพบว่า ฤทธิ์ยับยั้งของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid ที่ผ่านการทดสอบแล้วใช้ในอัตราการแนะนำ 30 ml ที่ทดลองกับการเจริญเติบโตของไมซีเลียม PhK-1 และ PhK-2 ได้ค่า EC_{50} เท่ากับ 359.30 และ 531.56 mg/l เป็นตัวบงชี้ว่ามีประสิทธิภาพน้อยกว่าความต้านทานไมซีเลียมของเชื้อสาเหตุ เช่นเดียวกับรายงานของ Marin and Peres (2021) ได้ทำการศึกษาการปรับปรุงกล่องเครื่องมือเพื่อจัดการโรค *Phytophthora* ที่ก่อให้เกิดโรคก่อเน่า และผลเน่าของสตอเบอร์รี่ การค้นหาทางเลือกของสารเคมี จากการทดลองพบว่า การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 5 Mg/l สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. P.nicotianae* 28 และ 32 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. cactorum* 12 และ 12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่ สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam (29) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10, และ 100 mg/l จากการทดลองพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทุกไอโซเลท ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 12.65-60.22 mg/l ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Rekanovic *et al.* (2011) กล่าวว่าสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam มีรหัส FRAC 29 จัดอยู่ในกลุ่ม 2,6-dinitro-anilines มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจและสร้างพลังงาน ทำให้เชื้อไม่สามารถสร้างการงอกของสปอร์ และการสร้างโครงสร้างที่ใช้ในการเข้าทำลายพืช พบว่า สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam ต่อ *Phytophthora infestans* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ค่า EC_{50} เท่ากับ 0.14-0.27 mg/l ทุกไอโซเลทมีความอ่อนแอต่อสารเคมีป้องกันกำจัด fluazinam ตามเกณฑ์กำหนด FRAC 2022 ยังจัดให้ fluazinam เป็นสารเคมีป้องกันกำจัดที่มีความเสี่ยงต่ำต่อการดื้อยา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Did et al. (2017) ได้ทำการประเมินประสิทธิภาพของารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราบางชนิดต่อเชื้อรา *Phytophthora infestans* สาเหตุของโรคใบไหม้ในมะเขือเทศ จากการทดลองพบว่า ฤทธิ์ยับยั้งของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam ที่ผ่านการทดสอบแล้วใช้ในอัตราการแนะนำ 50 ml ที่ทดลองกับการเจริญเติบโตของไมซีเลียม PhK-1 และ PhK-2 ได้ค่า EC_{50} เท่ากับ 2.35 และ 11.84 mg/l เป็นตัวบงชี้ว่ามีประสิทธิภาพมากกว่าไมซีเลียมของเชื้อสาเหตุ เช่นเดียวกับรายงานของ Marin and Peres (2021) ได้ทำการศึกษาการปรับปรุงกล่องเครื่องมือเพื่อจัดการโรค *Phytophthora* ที่ก่อให้เกิดโรคก่อเน่า และผลเน่าของสตอเบอร์รี่ การค้นหาทางเลือกของสารเคมี จากการทดลองพบว่า การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 5 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. nicotianae* 44 และ 68 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. cactorum* 12 และ 22 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคทุเรียน ทำการแยกเชื้อราได้จำนวน 10 ไอโซเลท คือ M_1, M_2, M_3, Pt_1, Pt_2, Ts_1, Ts_2, Ts_3, Ts_4, และ Ts_5 ทำการจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบลักษณะโคโลนีแบบ stellate คล้ายรูปดาว และ ลักษณะแบบ radiate คล้ายรัศมี มีเส้นใยเป็นแบบ non-septate สร้าง sporangium แบบ ovoid, ellipsoid และมี papillate หรือ semi-papillate และพบการสร้าง chlamydospores ทุกไอโซเลทจัดจำแนกได้เป็น เชื้อรา *Phytophthora* sp. ทั้งนี้ทุกไอโซเลทสามารถก่อให้เกิดโรคบนใบทุเรียน จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา พบว่าสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา cyazofamid (21) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10 และ 100 mg/l มีค่า EC_{50} >100 mg/l ในขณะที่ สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fluazinam (29) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10 และ 100 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทุกไอโซเลท ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 12.65-60.22 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อ้างอิง

ธิดา เดชฮวบ. 2559. สารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืช. กรุงเทพฯ: เอเชีย ดิจิตอล การพิมพ์.

มณีรัตน์ คูหาพิทักษ์ธรรม. 2561. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora palmivora*. สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนในประเทศไทย. สาขาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี. 41 หน้า.

สำนักงานวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 2562. **เอกสารวิชาการโรคทุเรียน** [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : https://anyflip.com/bookcase/ydmpm?fbclid

=IwAR2EZMePbRf_7VaWGwLXdiYRh2cLKFWzyaWDNZqybE846nGO4gob9Pq6NFM. (7 เมษายน 2566).

สำนักงานเลขานุการกรม กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2563. ร้อนปนฝนให้ระวังโรคผลเน่าในทุเรียน. [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : https://www.doa.go.th/leka/?p=3799

(8 เมษายน 2566).

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. สถิติการเกษตรของประเทศไทย กระทรวงและสหกรณ์. [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : https://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/jounal/2566/

yearbook2565.pdf (7 เมษายน 2566).

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2566.

[ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : https://www.opsmoac.go.th/chiangrai-dwl-files-442991791980 (7 เมษายน 2566).

สุมิตร คุณเจตน์. 2560. การผลิตต้นกล้าทุเรียนพันธุ์หมอนทองเพื่อลดการติดเชื้อ *Phytophthora palmivora* โดยวิธีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในโรงเรือนเพาะชำด้วยระบบควบคุมฟัซซี่. คณะวิทยาศาสตร์และศิลปะศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี. 48 หน้า

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์, พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และทวี เก่าศิริ. 2546. “ความผันแปรใน *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. ทุเรียน : ลักษณะรูปร่างและแบบคู่ผสม” **วารสารวิชาการเกษตร**. 21(1): 75-87.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์, พีระวรรณ พัฒนวิภาส และยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี. 2555. ผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ต่อการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora*. **รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555** สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. 1163-1174.

Birch, P. R., & Whisson, S. C. 2001. “*Phytophthora infestans* enters the genomics era.” **Molecular Plant Pathology,** 2(5): 257-263.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dib, N. D., Abdel Rahman, T. G., Ashour, A. M. A., and Badawy, H. M. A. 2017. “In vitro and In vivo Evaluation of Certain Fungicides Against *Phytophthora Infestans* (Mont.) The Causal Pathogen of Late Blight Disease on Tomato.” **Journal of Plant Protection and Pathology,** 8(5): 201-208.

Drenth, A. and Sendall B. 2001. “Practical guide to detection and identification of *Phytophthora*.” **Tropical Plant Protection,** 1, 32-33.

Ferguson, A. J., and Jeffers, S. N. 1999. “Identifying Species of *Phytophthora*.” **Plant Disease**. 83 :1129-1136.

Fungicide Resistance Action Committee. 2022. FRAC Code List 2021: Fungal Control Agents Sorted by Cross Resistance Pattern and Mode of Action (including FRAC Code numbering). [Online]. Available: https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2022--final.pdf?sfvrsn=b6024e9a_2 (April 6, 2022)

Gallegly, M. E. and Hong, C. 2008. “Phytophthora: identifying Species by Morphology and DNA Fingerprints.” **Archives of Phytopathology and Plant Protection.** 44(2): 202-203.

Ho, w.c. and Ko, W.H. 1997. “A simple method for obtaining single-spore isolate of fungi.” **Botanical Bulletin of Academia Sinica.** 38: 41-44.

Jeffers, S. N. and Martin, S. 1986. “Comparison of Two Media Selective of *Phytophthora* and Pythium species.” **Plant Disease.** 70(11): 1038-1043.

Marin, M. V., and Peres, N. A. 2021. “Improving the toolbox to manage Phytophthora diseases of strawberry: Searching for chemical alternatives.” **Plant Health Progress,** 22(3): 294-299.

Marinho, G. J. P., Klein, D. E., Junior, C. L. 2018. “Evaluation of soapberry (Sapindus saponaria L.) Leaf extract against papaya anthracnose.” **Summa Phytopathologica,** 44(2): 127-131.

Misman, N., Samsulrizal, N. H., Noh, A. L., Wahad, M. A., Ahmad, K., Ahmad Azmi, N. S. 2022. “Host Range and Control Strategies of *Phytophthora palmivora* in Southeast Asia Perennial Crops.” ***Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*****,** 45(4) :991-1019

Rekanovic, E., Potočnik, I., Milijasevic-Marcic, S., Stepanovic, M., Todorovic, B., and Mihajlovic, M. 2011. “Sensitivity of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary isolates to fluazinam, fosetyl-Al and propamocarb-hydrochloride.” **Pesticidi i fitomedicina,** 26(2): 111-116.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Siegenthaler, T. B., and Hansen, Z. R. 2021. "Sensitivity of *Phytophthora capsici* from Tennessee to mefenoxam, fluopicolide, oxathiapiprolin, dimethomorph, mandipropamid, and cyazofamid." **Plant Disease,** 105(10): 3000-3007.

Suksiri, S., Laipasu, 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล นางสาวณัฐธิดา เชียงสวน

วัน/เดือน/ปี เกิด 29 สิงหาคม 2543

ที่อยู่อาศัย บ้านเลขที่ 1/5 หมู่ 6 ตำบลพรหมโลก อำเภอพรหมคีรี จังหวัดนครศรีธรรมราช 80320

ประวัติการศึกษา อนุบาล 1-3 โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช อำเภอเมืองจังหวัดนครศรีธรรมราช

ประถมศึกษาปีที่1-6 โรงเรียนมารีย์พิทักษ์ศึกษา อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช

มัธยมศึกษาปีที่1-6 โรงเรียนศรีธรรมราชศึกษา อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช

ปัจจุบันศึกษาปริญญาตรี หลักสูตรเทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช ชั้นปีที่4 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร เขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้