ประสิทธิภาพของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียน

Efficiency of 3 Fungicides (Prochloraz, Cyproconazole, and Pyraclostrobin) for Controlling *Lasiodiplodia theobromae* Causing Fruit Rot in Durian

ธิติ ทองคำงาม, ไพรัตน์ อำลอย และ สุกฤตา อนุตระกูลชัย*

Titi Thongkamngam, Pairat Amloy and Sukritta Anutrakunchai*

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชและภูมิทัศน์ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

Department of Plant production and Landscape, Faculty of Agro-Industrial Technology,

Rajamangala University of Technology Tawan-ok

E-mail : titi_th@rmutto.ac.th, pairat_am@rmutto.ac.th and sukritta _an@rmutto.ac.th*

*Corresponding author

(Received: 20 March 2025, Revised: 12 January 2026, Accepted: 16 January 2026)

https://doi.org/10.57260/stc.2026.1132

บทคัดย่อ

ปัญหาการแพร่ระบาดของโรคผลเน่าทุเรียนสร้างความเสียหายอย่างรุนแรงให้กับเกษตรกรผู้ปลูกทุเรียนอย่างมาก เพราะทำให้ผลทุเรียนหลุดร่วงหล่น ส่งผลโดยตรงต่อผลผลิตทุเรียน จำเป็นต้องหาวิธีการป้องกันกำจัดโรคผลเน่าของทุเรียน โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด คือ โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน ต่อการควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียน เริ่มต้นจากแยกเชื้อราสาเหตุโรคจากส่วนผลทุเรียนที่แสดงอาการของโรค หลังจากแยกเชื้อราและจัดจำแนกทางชีวโมเลกุลแล้ว พบว่าเป็นเชื้อรา *L. theobromae* จำนวน 3 ไอโซเลท คือ LT-1, LT-5 และ LT-10 ต่อมาได้ทดสอบการเกิดโรคกับผลทุเรียนเล็กตัดแต่ง (อายุ 70 วัน) พบว่าไอโซเลท LT-10 ก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทดสอบกับสารกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด ด้วยวิธี Poisoned food technique ที่ 5 ระดับความเข้มข้น (0, 10, 100, 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสารกำจัดเชื้อราโพรคลอราช สามารถควบคุมเชื้อรา LT-10 ได้ทุกความเข้มข้น โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุได้ประมาณ 75- 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นทดสอบการชุบผลทุรียน (Dipping fruits) กับสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ที่ระดับความเข้มข้น 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร พบว่าสารเคมีโพรคลอราซ มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคและความรุนแรงของ

โรคดีที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสูงที่สุดถึง 80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ สารเคมีไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน ตามลำดับ และเมื่อผ่าผลทุเรียนเพื่อสังเกตการเข้าทำลายของเชื้อรา LT-10 ก็พบว่าผลทุเรียนที่ชุบสารเคมีทั้ง 3 ชนิด ไม่พบการเข้าทำลายถึงเนื้อทุเรียน โดยสรุปผลการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารโพรคลอราซที่ความเข้มข้น 10, 100, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของทุเรียนภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ แต่อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้ในสภาพแปลงปลูกจริงควรมีการศึกษาทดสอบเพิ่มเติม เพื่อประเมินประสิทธิภาพ ความเหมาะสม และความปลอดภัยก่อนนำไปใช้ในแปลงทุเรียนจริงต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: โพรคลอราซ ไซโปรโคนาโซล ไพราโคลสโตรบิน โรคผลเน่า เชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae*

Abstract

Durian fruit rot disease has caused severe economic losses to farmers, leading to premature fruit drop and decrease fruit yields. Effective measures are essential for preventing and controlling this disease. This study aims to evaluate the efficacy of three fungicides—prochloraz, cyproconazole, and pyraclostrobin—against *Lasiodiplodia theobromae*, the causal agent of durian fruit rot. The study began with the isolation of the pathogen from symptomatic durian fruits. Molecular identification confirmed the presence of *L. theobromae*, with three isolates identified: LT-1, LT-5, and LT-10. Pathogenicity tests conducted on 70-day-old pruned young durian fruits revealed that the LT-10 isolate caused the most severe infection, reaching 100% disease incidence. To assess fungicidal efficacy, the poisoned food technique was employed at five concentration levels (0, 10, 100, 500, and 1000 mg/L). The results demonstrated that prochloraz effectively controlled LT-10 at all tested concentrations. At 10 mg/L and above, fungal growth inhibition ranged from approximately 75% to 100%. A dipping test was subsequently conducted on durian fruits using three fungicides—prochloraz, cyproconazole, and pyraclostrobin—each applied at a rate of 100 g per 100 L of water. Among them, prochloraz exhibited the highest efficacy, achieving an 80% fungal growth inhibition rate, followed by cyproconazole and pyraclostrobin. Dissection of treated durian fruits revealed no LT-10 infection in the fruit pulp across all treatments. In conclusion, the results of this study demonstrated that prochloraz at concentrations of 10, 100, 500, and 1,000 mg/L effectively inhibited the fungal pathogens causing durian fruit rot under laboratory conditions. However, further studies under field conditions are required to evaluate its efficacy, suitability, and safety before practical application in commercial durian orchards.

Keywords: Prochloraz, Cyproconazole, Pyraclostrobin, Fruit rot, *Lasiodiplodia theobromae*

บทนำ

ปัจจุบันทุเรียนได้รับความนิยมในการปลูกกันทั่วทุกจังหวัดในประเทศไทยเพื่อจำหน่ายทั้งภายในและส่งออกไปต่างประเทศ ได้แก่ จีน เวียดนาม และ ฮ่องกง โดยในปี พ.ศ. 2566 มีพื้นที่ต้นทุเรียนที่ให้ผลผลิต 1,057,574 ไร่ ได้ผลผลิตประมาณ 1,476,174 ตัน และผลผลิตต่อไร่ 1,396 กิโลกรัม เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2565 มีพื้นที่ 978,799 ไร่ ผลผลิต 1,335,728 ตัน และผลผลิตต่อไร่ 1,365 กิโลกรัม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร , 2566) จากความต้องการผลผลิตทุเรียนที่เพิ่มมากขึ้นทุกๆ ปี ส่งผลทำให้ต้องมีการควบคุมคุณภาพของผลทุเรียนตั้งแต่เริ่มการเก็บเกี่ยวจนกระทั่งส่งออกไปกับตู้คอนเทนเนอร์ควบคุมอุณหภูมิ เพื่อเป็นการช่วยคงสภาพความสุกแก่ของผลทุเรียนและให้ปลอดภัยจากการปนเปื้อนของเชื้อราสาเหตุโรคที่เข้ามาก่อให้เกิดความเสียหายกับผลทุเรียนในระหว่างขนส่ง ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเสียหายของผลผลิตทั้งตู้คอนเทนเนอร์

จากการรายงานการแพร่ระบาดของโรคผลเน่าในทุเรียน ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Lasiodiodiplodia* sp. เชื้อดังกล่าวก่อให้เกิดแผลบริเวณหนามและผิวผล สามารถพบการระบาดได้ตั้งแต่ในแปลงปลูก ช่วงเก็บเกี่ยวจนถึงระหว่างการขนส่ง นอกจากนี้ เชื้อยังสามารถเข้าทำลายเนื้อภายในผล ส่งผลให้เกิดอาการเน่าเละและแพร่กระจายไปยังผลอื่น ๆ ทำให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงต่อคุณภาพและมูลค่าทางเศรษฐกิจของผลผลิตทุเรียน (Chantarasiri and Boontanom, 2021) นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าเชื้อรา *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia* sp., *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis* sp. สามารถเข้าทำลายผลทุเรียนได้เช่นกัน (พิสุทธิ์ เอกอำนวย, 2564; Khanzada et al., 2004; Munirah et al., 2017) เพื่อป้องกันความเสียหาย เกษตรกรจำเป็นต้องใช้สารเคมีหลายประเภทในการฉีดพ่นหรือชุบเคลือบผลทุเรียนก่อนส่งขาย อย่างไรก็ตาม เกษตรกรเองก็ยังเผชิญปัญหาในการเลือกใช้สารเคมีที่ลดความเสียหายของผลผลิตให้ได้มากที่สุด โดยต้องคำนึงถึงปริมาณสารพิษตกค้างให้อยู่ในระดับที่เป็นไปตามมาตรฐานของสำนักงาน AQSIQ แห่งสาธารณรัฐประชาชนจีน (Zhang et al., 2010; Zheng et al., 2012; Zhao et al., 2019) เพื่อใช้เป็นเกณฑ์มาตราฐานต่อการส่งผลผลิตทุรียนออกไปขายยังประเทศจีน

ปัจจุบัน มีการใช้สารป้องกันเชื้อราหลายชนิดสำหรับฉีดพ่นหรือชุบผลทุเรียน เช่น อะซอกซีสโตรบิน, โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล, ไพราโคลสโตรบิน และคาร์เบนดาซิม ซึ่งอยู่ในกลุ่มของสารเคมีตามเกณฑ์มาตราฐานของกรมวิชาการเกษตร มีอยู่หลากหลายกลุ่ม คือ 1, 3, 11, 32 และ 40 สารเหล่านี้สามารถยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคได้หลายชนิด เช่น *Phytophthora* sp., *Lasiodiodiplodia* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp. และ *Phomopsis* sp. (Piasai et al., 2021; Nur-Shakirah et al., 2022) ที่เป็นเชื้อราสาเหตุโรคในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น เงาะ ลองกอง มังคุด มะม่วง รวมไปถึงทุเรียน เป็นต้น ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจสนใจที่จะคัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งโรคผลเน่าในทุเรียน เพื่อเป็นแนวทางให้เกษตรกรนำไปใช้ในการป้องกันและกำจัดโรคดังกล่าวต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียน

ระเบียบวิธีวิจัย

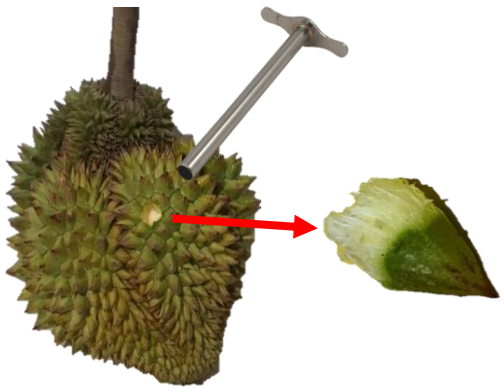
การเก็บตัวอย่างและการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวในผลทุเรียน

เก็บตัวอย่างผลทุเรียนพันธุ์หมอนทองที่แสดงอาการผลเน่า (ภาพที่ 1) จากตำบลเขาวัวพลอยแหวน อำเภอท่าใหม่จังหวัดจันทบุรี และ ต.รำพัน อ. ท่าใหม่ จ.จันทบุรี โดยสังเกตจากลักษณะเปลือกของผลทุเรียนว่ามีส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุโรคปะปนอยู่บริเวณหนามของผลทุเรียน เช่น เส้นใย หรือสปอร์ นำมาทำการแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี Tissue transplanting technique โดยนำชิ้นส่วนเปลือกของผลทุเรียนมาตัดให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร จากนั้นใช้คีมคีบชิ้นส่วนพืชล้างด้วย Ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วินาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อนาน 30 วินาที ล้างต่อด้วย sodium hypochlorite 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 1-2 นาที สุดท้ายล้างออกด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ นาน 3 นาที เมื่อครบระยะเวลาใช้คีมคีบตัวอย่างมาซับด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้งรอการย้ายมาเลี้ยงลงบนอาหาร Water agar (WA) สังเกตลักษณะเส้นใยของเชื้อที่เจริญเมื่อพบการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อให้ย้ายลงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) และเก็บรักษาเชื้อให้บริสุทธิ์ไว้ในอาหาร PDA slant เพื่อใช้ในการจัดจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคต่อไป จากนั้นสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป Prep man ultra (Applied Biosystems) โดยส่งตัวอย่างดีเอ็นเอไปวิเคราะห์ที่บริษัท Macrogen กรุงโซล ประเทศเกาหลีใต้ ใช้ universal primer ITS4 และ ITS5 คือ primer ITS4 (5-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3) ITS5 (5-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3) (White et al., 1990) โดยทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ไปเปรียบเทียบหาความเหมือน (identity) ด้วยโปรแกรม BLAST ในฐานข้อมูล GenBank นำค่าที่มาวิเคราะห์ด้วยวิธี maximum likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม MEGA 11.0 กำหนดค่า bootstrap analysis ให้มีค่าเท่ากับ 1000 พร้อมรายงานผลเป็น Phylogenetic tree เก็บรักษาเชื้อต่อไป

ภาพที่ 1 ลักษณะอาการผลเน่าที่มีสาเหตุจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp.
(ก) เริ่มสังเกตพบเส้นใยสีขาวเจริญขึ้นปกคลุมบริเวณเปลือกของผล
(ข) หลังจากนั้นเส้นใยสีขาวจะปลี่ยนเป็นสีเทาปนดำ และสามารถแพร่กระจายไปยังผลข้างเคียงต่อไป

การทดสอบการก่อให้เกิดโรคในผลทุเรียน (Pathogenicity test)

นำเชื้อราที่ได้จากการแยกเชื้อมาทำการทดสอบการก่อให้เกิดโรคในผลทุเรียน (Pathogenicity test) โดยเริ่มจากการเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Lasiodiodiplodia* sp. จำนวน 3 ไอโซเลท คือ LT01, LT05 และ LT10 เป็นต้น หลังจากนั้นนำผลทุเรียนมาฆ่าเชื้อที่ผิวเปลือกโดยจุ่มผลในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วผึ่งลมให้แห้งเพื่อฆ่าเชื้อบริเวณผิวผล เริ่มจากปลูกเชื้อโดยใช้แท่นเหล็กขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะเปลือกให้เป็นรูแผลแล้ววางชิ้นวุ้นของเชื้อสาเหตุโรค (agar plug) จำนวน 1 ชิ้น ต่อ 1 แผล (1 ผล ทำจำนวน 3 แผล) (ภาพที่ 2) บ่มผลทุเรียนไว้ในกล่องที่มีฝาปิดเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อภายนอก เป็นเวลา 15 วัน หลังจากนั้นสังเกตการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค พร้อมทั้งคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรค บันทึกผลการทดลองโดย วัดขนาดแผลและคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรค ดัดแปลงวิธีการของ Nianwichai et al. (2022) ดังต่อไปนี้ เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (% Disease incidence : DI) = [(0) ไม่พบอาการของโรคที่ผลทุเรียน 0 %; (1) ผลทุเรียนเริ่มมีเส้นใยสีขาวเจริญปกคลุมแผล 25%; (2) ผลทุเรียนเริ่มเปลี่ยนจากเส้นใยสีขาวเป็นสีน้ำตาลปนดำปกคลุมแผล 26-50%; (3) ผลทุเรียนเริ่มมีอาการเน่าเละ มีเส้นใยสีดำปกคลุมแผล 51-75%; (4) ผลทุเรียนมีอาการเน่าเละ ฉ่ำน้ำ มีกลิ่นเหม็น และผลแตก 76-100%] เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (% Disease severity : DS) = ∑ (จำนวนแผลที่แสดงอาการ × ระดับการเกิดโรค)/ (จำนวนแผลทั้งหมด × ระดับอาการโรคสูงสุด) ×100 จากนั้นนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยและการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 2 ลักษณะการปลูกเชื้อสาเหตุโรค (Inoculation)

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียนด้วยวิธี Poisoned food technique

เลี้ยงเชื้อ *L. theobromae* (LT-10) เป็นเวลา 5 วัน เพื่อเตรียมนำมาทดสอบกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา *L. theobromae* ด้วยวิธี poisoned food technique โดยผสมสารเคมีกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด คือ โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) โดยสารแต่ละชนิดมีความเข้มข้นเท่ากับ 5 ระดับความเข้มข้นคือ 0, 10, 100, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นตัดชิ้นวุ้นเชื้อบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ย้ายมาวางเลี้ยงลงตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely randomized design (CRD) ประกอบด้วย 3 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ความเข้มข้น ๆ ละ 5 ซ้ำ เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรากับชุดควบคุมที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ไม่ผสมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา บ่มเชื้อไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส บันทึกการเจริญของเส้นใยเชื้อราโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีและคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ดัดแปลงตามวิธีการของ (Dennis and Webster, 1971) ดังต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (\% GI)} = \frac{(R1 - R2)}{R1} \times 100$$

โดย

R1 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรค ในจานอาหารเปรียบเทียบ (Control)

R2 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรค ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อผสมร่วมกับสารเคมี (Dual culture test)

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียนด้วยวิธีชุบผล (Dipping Fruits)

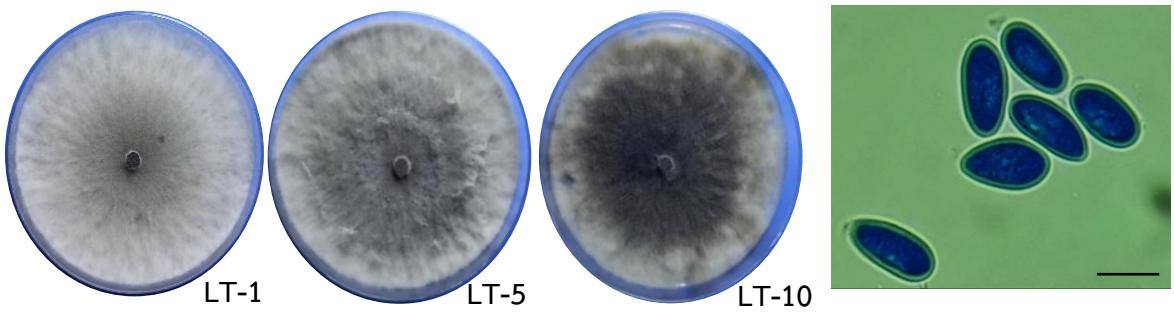
นำเชื้อราสาเหตุโรค *L. theobromae* (LT-10) เตรียมผลทุเรียนพันธุ์หมอนทองที่เก็บจากสวนเกษตรกรจังหวัดจันทบุรี โดยคัดเลือกผลที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 2.5-3.0 กิโลกรัม และมีความสุกแก่ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ผลทุเรียนปราศจากรอยตำหนิหรือการเข้าทำลายของโรคและแมลง นำผลทุเรียนมาฆ่าเชื้อที่ผิวเปลือกโดยจุ่มผลในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วผึ่งลมให้แห้งเพื่อฆ่าเชื้อบริเวณผิวผลทุเรียน จากนั้นชุบผลทุเรียนด้วยสารเคมีป้องกันเชื้อรา 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ที่ระดับความเข้มข้น 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร นาน 3 นาที หลังจากนั้นนำผลทุเรียนไปปลูกเชื้อสาเหตุโรคลงบนผิวของผลทุเรียน การปลูกเชื้อใช้แท่นเหล็กขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะเปลือกให้เป็นรูแผลแล้ววางชิ้นวุ้นของเชื้อสาเหตุโรค (agar plug) จำนวน 1 ชิ้น ต่อ 1 แผล (1 ผล ทำจำนวน

2 แผล) การทำแผลจะเลือกทำบริเวณกึ่งกลางของผลทุเรียน ซึ่งการทำแผลนั้นจะทำคนละฝั่งของผลเพื่อไม่ให้แผลทั้ง 2 แผลอยู่ใกล้กัน (ลดการปนเปื้อน) หลังจากนั้นวางผลทุเรียนไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-30 องศาเซลเซียส ในที่อากาศถ่ายเท บันทึกผลการเจริญของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกมาจากแผลที่วางชิ้นวุ้นเชื้อสาเหตุโรคและคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ (รวมใช้ทุเรียน จำนวน 20 ผล)

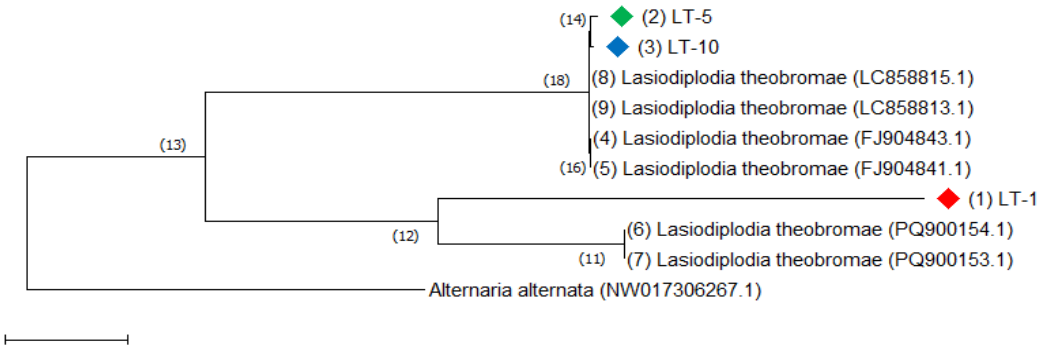
ผลการวิจัย

การแยกเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียน

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของผลทุเรียน จากตำบลเขาวัวพลอยแหวน อำเภอท่าใหม่จังหวัดจันทบุรี และ ต.รำพัน อ. ท่าใหม่ จ.จันทบุรี สามารถแยกเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. ได้ จำนวน 3 ไอโซเลท คือ LT-1, LT-5 และ LT-10 (ภาพที่ 3) โดยลักษณะเส้นใยเริ่มแรกจะมีสีขาวเจริญอยู่หน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นเมื่อระยะเวลาผ่านไปจะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเทาปนดำ เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อรวมเวลา 7 วัน หลังจากนั้นเมื่อส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ พบส่วนขยายพันธุ์ลักษณะคล้ายคล้ายไข่ไก่ (Immature conidia) ในระยะนี้มีสีใสไม่มีผนังกั้นเซลล์ (ภาพที่ 3) เมื่อตรวจสอบระดับชีวโมเลกุลโดยใช้ primer ในส่วนของ rDNA อยู่ในช่วง 500–600 bp (ITS4 และ ITS5) คือ primer ITS4 (5-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3) - ITS5 (5-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3) ทำการวิเคราะห์ ITS เปรียบเทียบกับเชื้อ *Lasiodiplodia* spp. สายพันธุ์อื่นๆ สามารถจัดจำแนกได้ว่าเป็นเชื้อรา *L. theobromae* ทั้ง 3 ไอโซเลท คือ LT-1, LT-5 และ LT-10 ถึง 98-100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* (LT-1, LT-5 และ LT-10) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 7 วัน และส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อ ลักษณะคล้ายไข่ไก่ (Immature conidia) ในระยะนี้มีสีใสไม่มีผนังกั้นเซลล์



ภาพที่ 4 การจัดจำแนกเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* (LT-1, LT-5 และ LT-10) โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม Phylogenetic tree ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS ด้วยวิธี maximum likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม MEGA 6.0 กำหนดค่า bootstrap analysis ให้มีค่าเท่ากับ 1000

การทดสอบการก่อให้เกิดโรคในผลทุเรียน (Pathogenicity test)

จากการทดสอบการก่อให้เกิดโรคในผลทุเรียน (Pathogenicity test) โดยนำเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าของผลทุเรียน ที่ผ่านการแยกเชื้อและจัดจำแนกในระดับชีวโมเลกุล จำนวน 3 ไอโซเลท คือ LT-1, LT-5 และ LT-10 ตามลำดับ มาทดสอบกับผลทุเรียนเล็กตัดแต่ง (อายุ 70 วัน) พบว่าเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถก่อให้เกิดโรคกับผลทุเรียนได้ทั้งหมด โดยในกรรมวิธีที่ 3 ที่ปลูกเชื้อรา LT-10 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมากที่สุด คือ 80 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ช่วงแรกของการทดลอง (3 วันหลังการปลูกเชื้อ) และเพิ่มขึ้นถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 5 จนกระทั่งวันสุดท้ายของการทดลอง (9 วันหลังการปลูกเชื้อ) รวมไปถึงแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคก็เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค โดยในช่วงแรกของการปลูกเชื้อ พบเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 89 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนสิ้นสุดการทดลองก็พบว่าเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเพิ่มสูงขึ้นถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) ในขณะเดียวกันเมื่อสังเกตบริเวณแผลที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคพบเส้นใยสีขาวขึ้นเจริญปกคลุมทับแผล (ภาพที่ 5) รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อ LT-5 ที่พบเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 48 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีที่ 1 ปลูกเชื้อ LT-1 พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ประมาณ 20-40 เปอร์เซ็นต์ และความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 12-24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคผลเน่าในทุเรียน หลังปลูกเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* (LT-1, LT-5 และ LT-10) ในระยะผลทุเรียนเล็กตัดแต่ง (Pathogenicity test)

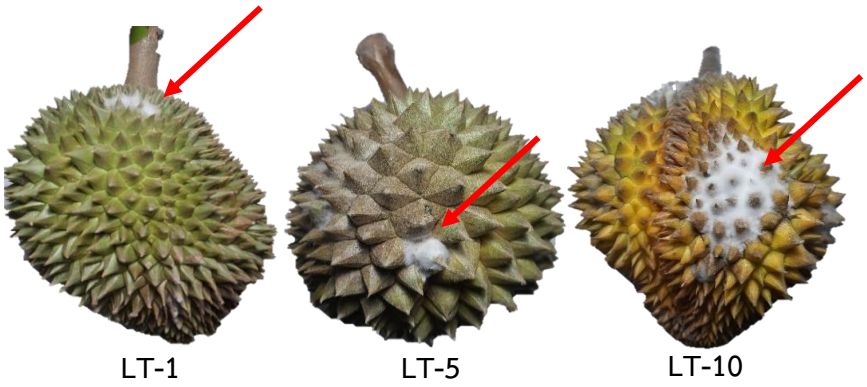
กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (DI) [1/]: เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (DS) (%)[2/]			
ผลทุเรียนเล็กตัดแต่ง (อายุ 70 วัน)	3 DAI[4/]	5 DAI	7 DAI	9 DAI
กรรมวิธีที่ 1 *L. theobromae* LT-1	20^{c}:12^{c} [3/]	40^{c}:12^{c}	40^{c}:18^{c}	40^{c}:24^{c}
กรรมวิธีที่ 2 *L. theobromae* LT-5	40^{b}:24^{b}	60^{b}:24^{b}	60^{b}:32^{b}	60^{b}:48^{b}
กรรมวิธีที่ 3 *L. theobromae* LT-10	80^{a}:89^{a}	100^{a}:95^{a}	100^{a}:100^{a}	100^{a}:100^{a}
C.V. (%)	8.8	7.1	6.3	5.2
F-value	*	*	*	*

[1/]เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (% Disease incidence: DI) = [(0) ไม่พบอาการของโรคที่ผลทุเรียน 0 %; (1) ผลทุเรียนเริ่มมีเส้นใยสีขาวเจริญปกคลุมแผล 25%; (2) ผลทุเรียนเริ่มเปลี่ยนจากเส้นใยสีขาวเป็นสีน้ำตาลปนดำปกคลุมแผล 26-50%; (3) ผลทุเรียนเริ่มมีอาการเน่าเละ มีเส้นใยสีดำปกคลุมแผล 51-75%; (4) ผลทุเรียนมีอาการเน่าเละ ฉ่ำน้ำ มีกลิ่นเหม็น และผลแตก 76-100%]

[2/]เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (% Disease severity : DS) = $\sum \frac{\text{(จำนวนแผลที่แสดงอาการ} \times \text{ระดับการเกิดโรค)}}{\text{จำนวนแผลทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการโรคสูงสุด}} \times 100$

[3/]ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ P= 0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

[4/]DAI: Day after inoculation



ภาพที่ 5 การทดสอบการก่อให้เกิดโรคในผลทุเรียน (Pathogenicity test) ด้วยเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* (LT-1, LT-5 และ LT-10) ที่ระยะเวลา 9 วันหลังการปลูกเชื้อ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียนด้วยวิธี Poisoned food technique

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียนด้วยวิธี Poisoned food technique พบว่ามีเพียงสารเคมีโพรคลอราซเพียงชนิดเดียวที่สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) ได้ทุกระดับความเข้มข้น (10, 100, 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดย

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารที่แตกต่างกัน ซึ่งความเข้มข้น 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อสูงที่สุดถึง 97 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) และเมื่อสังเกตการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) ในอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว ก็ไม่พบการเจริญของเส้นใยออกมาจากชิ้นวุ้นเชื้อ (ภาพที่ 6) รองลงมาคือความเข้มข้น 100 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

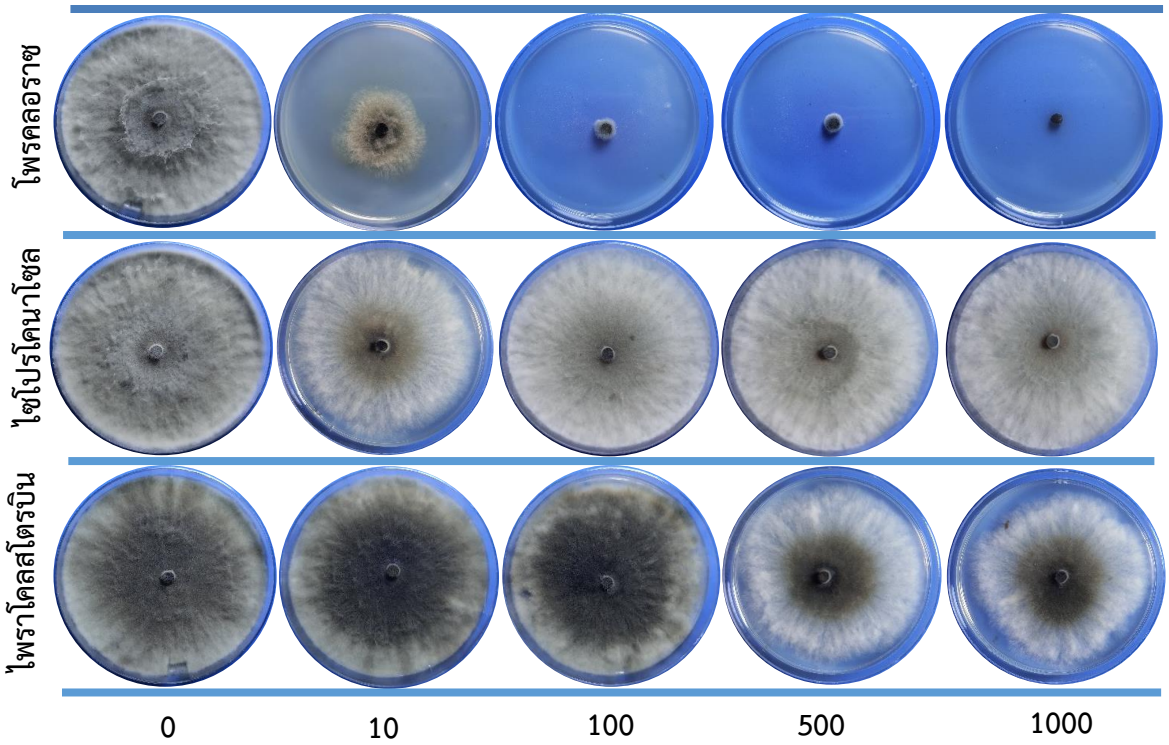
ส่วนสารเคมีไพราโคลสโตรบิน มีเพียงความเข้มข้น 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) แต่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อที่เกิดขึ้นนั้นน้อยมาก มีค่าเท่ากับ 10 และ 14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) และเมื่อสังเกตการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) ในอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญได้เต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อไม่แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม (ภาพที่ 6) และสารเคมีไซโปรโคนาโซล ในทุกความเข้มข้นที่ทดลองไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) ได้เลย

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* (LT-10) สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียน ด้วยสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ที่ 5 ระดับความเข้มข้น (0, 10, 100, 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยวิธี Poisoned food technique

ชื่อสารเคมี	**ระดับความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)**	**เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ (% GI)** [1/] **เชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* (LT-10)**
โพรคลอราซ	0	0c[2/]
	10	75b
	100	89ab
	500	97a
	1000	100a
ไซโปรโคนาโซล	0	0c
	10	0c
	100	0c
	500	0c
	1000	0c
ไพราโคลสโตรบิน	0	0c
	10	0c
	100	0c
	500	10bc
	1000	14bc

[1/] เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%) = ((R1 – R2) / R1) x 100 (R1- การเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคในกรรมวิธีควบคุม; R2-การเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคในกรรมวิธีร่วมกับสารเคมี)

[2/] ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ P= 0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT



ภาพที่ 6 ประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ที่ 5 ระดับความเข้มข้น (0, 10, 100, 500 และ 1000 มิลลิกรัม) ต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* (LT-10) ที่อายุ 7 วัน

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียนด้วยวิธีชุบผล (Dipping Fruits)

จากการการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียนด้วยวิธีชุบผล (Dipping Fruits) ที่ระดับความเข้มข้น 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร พบว่ากรรมวิธี**สารเคมีโพรคลอราซ** พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคน้อยที่สุด คือ 20 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ช่วงแรกของการทดลอง (3 วันหลังการปลูกเชื้อ) จนสิ้นสุดการทดลอง (9 วันหลังการปลูกเชื้อ) และเมื่อประเมินถึงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อก็พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3; ภาพที่ 7) รองลงมาคือกรรมวิธีสารเคมีไซโปรโคนาโซลในช่วงแรกของการทดสอบพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกับสารเคมีโพรคลอราซ เท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคก็เพิ่มสูงขึ้นตามซึ่งมีเปอรเซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (9 วันหลังการปลูกเชื้อ) นอกจากนั้นเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคก็แสดงผลไปในทิศทางเดียวกันกับเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค กล่าวคือเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคก็เพิ่มขึ้นตาม โดยในวันสุดท้ายของการทดลองมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคำนวณถึง

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อก็พบว่าสามารถยับยั้งได้ 40 เปอร์เซ็นต์ และในสารเคมีไพราโคลสโตรบิน เป็นเพียงสารเคมีชนิดเดียวที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงที่สุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ตั้งแต่วันที่ 7 หลังปลูกเชื้อ และความรุนแรงของการเกิดโรคก็ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์สูงสุดเช่นเดียวกัน มีค่าเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อก็พบว่ามีเปอร์การยับยั้งน้อยที่สุด เท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3; ภาพที่ 7)

หลังจากทำการผ่าผลทุเรียนเพื่อประเมินแผลที่เชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) เข้าทำลายผลทุเรียน พบว่าจากการชุบผลด้วยสารเคมีทั้ง 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) เชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) ยังไม่สามารถเข้าทำลายไปถึงเนื้อของทุเรียน (ภาพที่ 8) แต่การเข้าทำลายนั้นจะเข้าบริเวณส่วนของเนื้อเปลือกทะลุจากด้านบนเข้าสู่ด้านในของผลแต่ยังไม่ถึงเนื้อทุเรียน อย่างไรก็ตามสารเคมีโพรคลอราซก็ยังคงมีประสิทธิภาพดีที่สุด กล่าวคือลักษณะแผลที่เกิดมีการแพร่กระจายตัวที่น้อยแตกต่างกับสารเคมีทั้ง 2 ชนิด คือ ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน ที่มีการเข้าทำลายของเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) และกำลังสร้างเส้นใยขึ้นปกคลุมแผลบริเวณเปลือกด้านบน (หนามทุเรียน) (ภาพที่ 8)

ตารางที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* (LT-10) สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียนด้วยวิธีชุบผล (Dipping Fruits)

กรรมวิธี	การเกิดโรค (DI) [1/]: ความรุนแรงของโรค (DS) (%)[2/]				การยับยั้งเชื้อ (%) [3/]
	3 DAI[5/]	5 DAI	7 DAI	9 DAI	9 DAI
ควบคุม	0^{c}:0^{c}[4/]	0^{c}:0^{c}	0^{d}:0^{d}	0^{d}:0^{d}	0^{d}
โพรคลอราซ	20^{b}:20^{b}	20^{bc}:20^{bc}	20^{c}:20^{c}	20^{c}:20^{c}	80^{a}
ไซโปรโคนาโซล	40^{a}:20^{b}	60^{b}:30^{b}	80^{b}:45^{b}	80^{b}:60^{b}	40^{b}
ไพราโคลสโตรบิน	40^{a}:40^{a}	80^{a}:60^{a}	100^{a}:80^{a}	100^{a}:80^{a}	20^{c}
C.V. (%)	10.5	9.8	7.3	6.2	5.8
F-value	*	*	*	*	*

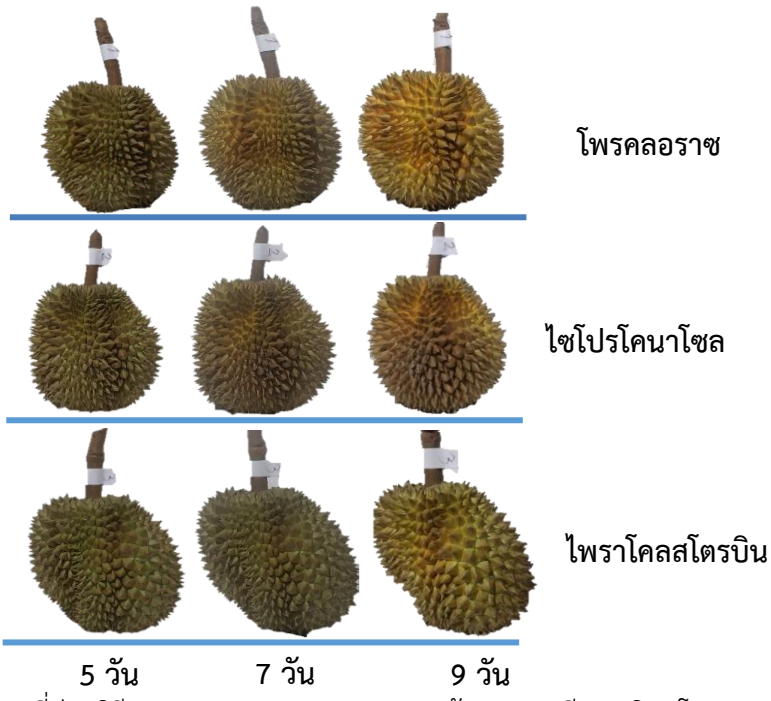
[1/]เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (% Disease incidence: DI) = [(0) ไม่พบอาการของโรคที่ผลทุเรียน 0 %; (1) ผลทุเรียนเริ่มมีเส้นใยสีขาวเจริญปกคลุมแผล 25%; (2) ผลทุเรียนเริ่มเปลี่ยนจากเส้นใยสีขาวเป็นสีน้ำตาลปนดำปกคลุมแผล 26-50%; (3) ผลทุเรียนเริ่มมีอาการเน่าเละ มีเส้นใยสีดำปกคลุมแผล 51-75%; (4) ผลทุเรียนมีอาการเน่าเละ ฉ่ำน้ำ มีกลิ่นเหม็น และผลแตก 76-100%]

[2/]เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (% Disease severity: DS) = $\sum \left(\frac{\text{จำนวนแผลที่แสดงอาการ} \times \text{ระดับการเกิดโรค}}{\text{จำนวนแผลทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการโรคสูงสุด}}\right) \times 100$

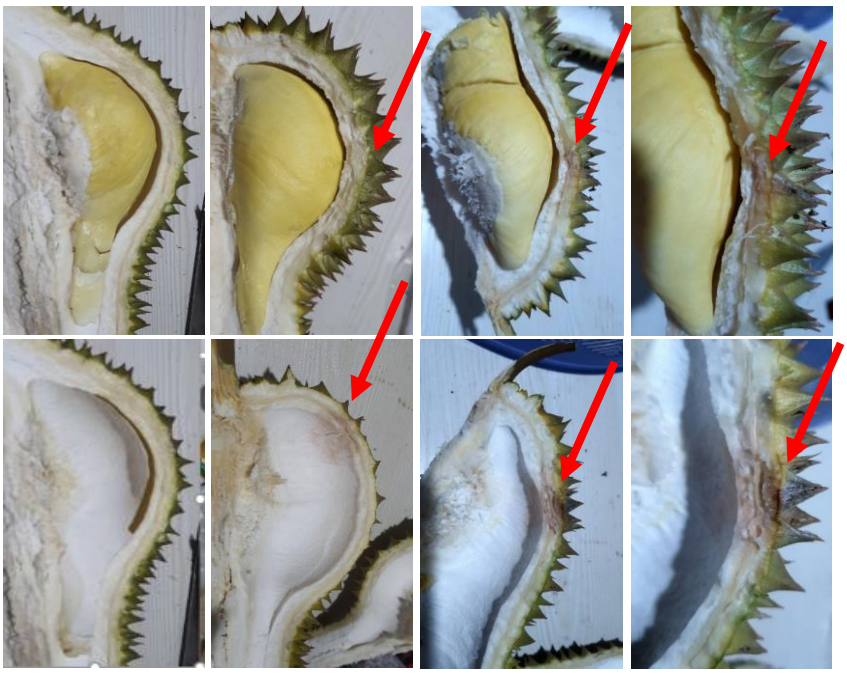
[3/]เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ (%)-= (ความรุนแรงของโรคสูงสุด – ความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นในวันสุดท้ายของการทดลอง)

[4/]ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ P= 0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

[5/]DAI: Day after inoculation



ภาพที่ 7 ผลทุเรียนที่ผ่านวิธีการชุบผล (Dipping Fruits) ด้วยสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* (LT-10) ที่ระยะเวลา 5, 7 และ 9 วันหลังการปลูกเชื้อ



ภาพที่ 8 การเข้าทำลายของเชื้อ *Lasiodiplodia theobromae* (LT-10) ที่ส่วนของเปลือก และเนื้อทุเรียน หลังผ่านวิธีการชุบผล (Dipping Fruits) ด้วยสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ที่ระยะเวลา 9 วันหลังการปลูกเชื้อ

การอภิปรายผล

จากการทดสอบผลของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียน เริ่มจากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของทุเรียน สามารถแยกเชื้อรา *Lasiodiplodia* spp. ได้ จำนวน 3 ไอโซเลท คือ LT-1, LT-5 และ LT-10 เป็นต้น หลังนั้นนำไปวิเคราะห์ในระดับชีวโมเลกุลสามารถจัดจำแนกได้ว่าเป็นเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* จำนวน 3 ไอโซเลท คือ LT-1, LT-5 และ LT-10 โดยมีความคล้ายคลึงกันถึง 98-100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ อาภัสรา หีดรอดและคณะ (2566); Munirah *et al*. (2017); Pipattanpuckdee et al. (2019) ที่จัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของทุเรียน ด้วยวิธี ITS พบว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *L. theobromae* เช่นเดียวกับงานทดลองของ รังสิมันตุ ธีระวงศภิญโญ และคณะ (2562); Alves et al. (2008) ที่ตรวจสอบว่าโรคผลเน่าในทุเรียนมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *L. theobromae* หลังจากนั้นนำเชื้อรา *L. theobromae* จำนวน 3 ไอโซเลท คือ LT-1, LT-5 และ LT-10 มาทดสอบการก่อให้เกิดโรคในผลทุเรียน (Pathogenicity test) กับผลทุเรียนเล็กตัดแต่ง (อายุ 70 วัน) พบว่าเชื้อรา *L. theobromae* ทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถก่อให้เกิดโรคกับผลทุเรียนได้ทั้งหมด โดยในกรรมวิธีที่ 3 ที่ปลูกเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมากที่สุด คือ 80 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ช่วงแรกของการทดลอง (3 วันหลังการปลูกเชื้อ) และเพิ่มขึ้นถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 5จนกระทั่งวันสุดท้ายของการทดลอง (9 วันหลังการปลูกเชื้อ) รองลงมาคือ ไอโซเลท LT-5 และ LT-1 ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Piasai et al. (2021) จากการทดสอบการก่อให้เกิดโรคผลเน่าในทุเรียนด้วยเชื้อรา 3 ชนิด คือ *Fusarium solani*, *Phomopsis* sp. และ *L. theobromae* พบว่าเชื้อราทั้ง 3 ชนิดก่อให้เกิดในผลทุเรียนตั้งแต่วันที่ 5 หลังการปลูกเชื้อ และเมื่อครบเวลา 9 วันผลทุเรียนพันธุ์หมอนทองเกิดโรครุนแรงได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากเชื้อรา *L. theobromae* จะเป็นสาเหตุของโรคผลเน่าแล้วยังสามารถก่อให้เกิดโรคแผลจุดดำในมะม่วง (Rehman et al., 2015) โรคลำต้นเน่าในมะพร้าว (Rosado et al., 2016) โรคใบไหม้และผลเน่าในลองกอง (Serrato-Diaz et al., 2014) นอกจากไม้ผลแล้วก็ยังมีรายงานว่าเชื้อรา *L. theobromae* สามารถเข้าทำลายในกลุ่มไม้ยืนต้นได้ เช่น ต้นพอโลเนีย (Rodriguez-Solís et al., 2025)

หลังจากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียนด้วยวิธี Poisoned food technique พบว่ามีเพียงสารเคมีโพรคลอราซเพียงชนิดเดียวที่สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) ได้ทุกระดับความเข้มข้น (10, 100, 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารที่แตกต่างกัน ซึ่งความเข้มข้น 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อสูงที่สุดถึง 97 และ 100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการรายงานของ พิกุล นุชนวลรัตน์ และ อัจฉรา บุญโรจน์ (2558) ที่ทดสอบสารกำจัดเชื้อรา โพรคลอราช และแมนโคเซป ด้วยวิธี poisoned food technique สามารถยับยั้งได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ รวมไปถึงงานวิจัยของ Thomidis et al. (2008) ที่ทดสอบสารเคมีทีบูโคนาโซล คาร์เบนดาซิม ไพราโคลสโตบิน และไทโอฟา

เนต-เมทิล ในการควบคุมเชื้อ *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* spp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizopus stolonifera*, *L. theobromae* และ *Gilbertella persicaria* พบว่าความเข้มข้น 200–300 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *L. theobromae*, *Fusarium* spp. และ *C. gloeosporioides* ได้ประมาณ 70-78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือสารเคมีไพราโคลสโตรบินที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) เท่ากับ 10 และ 14 เปอร์เซ็นต์ และสารเคมีไซโปรโคนาโซลไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) ได้ จากการทดสอบสารเคมีทั้ง 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ที่ให้ผลในการควบคุมเชื้อแตกต่างกันเนื่องจากกลไกการออกฤทธิ์ของสารแตกต่างกัน (Mode of action) กล่าวคือในกลุ่มสารโพรคลอราซเป็นสารกลุ่ม DMI (Demethylation Inhibitors; FRAC group 3) ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ ergosterol ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์เชื้อรา ทำให้โครงสร้างเซลล์ไม่สมบูรณ์และเชื้อราหยุดการเจริญเติบโต จึงทำให้เชื้อ *L. theobromae* มีความไวต่อกลุ่ม DMI สูง จึงมักให้ประสิทธิภาพเด่นชัด ส่วนสารไซโปรโคนาโซลถึงจะอยู่ในกลุ่ม DMI เช่นเดียวกัน แต่มีคุณสมบัติการดูดซึมและการกระจายตัวในเนื้อเยื่อต่างจากโพรคลอราซ ส่งผลให้ระดับการออกฤทธิ์ต่อเชื้อราแตกต่างกัน และในสารไพราโคลสโตรบิน เป็นสารกลุ่ม QoI (Quinone Outside Inhibitor; FRAC group 11) ออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการหายใจของไมโทคอนเดรีย ทำให้เชื้อราขาดพลังงาน ATP ดังนั้นในเชื้อรา *L. theobromae* อาจมีความไวต่อกลุ่ม QoI ต่ำกว่า DMI จึงทำให้ไม่สามารถมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราดังกล่าวได้ (He et al., 2021)

ส่วนการทดสอบผลการชุปผลทุเรียนด้วยสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียน ที่ระดับความเข้มข้น 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร พบว่ากรรมวิธีสารเคมีโพรคลอราซ เกิดโรคและความรุนแรงของโรคน้อยที่สุด คือ 20 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ช่วงแรก จนสิ้นสุดการทดลอง (9 วันหลังการปลูกเชื้อ) และเมื่อประเมินถึงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อก็พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับงานทดลองของ Zhao *et al.* (2019) ที่ทดสอบสารเคมีโพรคลอราซ ความเข้มข้น 1000 และ 1500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในการควบคุมโรคผลเน่าของต้นหยางเหมย์ พบว่าสามารถควบคุมโรคผลเน่าได้ถึง 43 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 20 วันหลังฉีดพ่นสารโพรคลอราซ รองลงมาคือกรรมวิธีสารเคมีไซโปรโคนาโซล ในช่วงแรกของการทดสอบพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกับสารเคมีโพรคลอราซ เท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคก็เพิ่มสูงขึ้นตามซึ่งมีเปอรเซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (9 วันหลังการปลูกเชื้อ) และเมื่อคำนวณถึงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อก็พบว่าสามารถยับยั้งได้ 40 เปอร์เซ็นต์ และในสารเคมีไพราโคลสโตรบิน เป็นเพียงสารเคมีชนิดเดียวที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงที่สุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ตั้งแต่วันที่ 7 หลังปลูกเชื้อ และความรุนแรงของการเกิดโรคก็ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์สูงสุดเช่นเดียวกัน มีค่าเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อก็พบว่ามีเปอร์การยับยั้งน้อยที่สุด เท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์

หลังจากทำการผ่าผลทุเรียนเพื่อประเมินแผลที่เชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) เข้าทำลายผลทุเรียน พบว่าจากการชุบผลด้วยสารเคมีทั้ง 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) เชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) ยังไม่สามารถเข้าทำลายไปถึงเนื้อของทุเรียน แต่การเข้าทำลายนั้นจะเข้าบริเวณส่วนของเนื้อเปลือกทะลุจากด้านบนเข้าสู่ด้านในของผลแต่ยังไม่ถึงเนื้อทุเรียน อย่างไรก็ตามสารเคมีโพรคลอราซก็ยังคงมีประสิทธิภาพดีที่สุด สอดคล้องกับงานทดลองของ Zheng *et al.* (2012) ที่ทดสอบสารเคมีโพรคลอราซ 45% ที่ระดับความเข้มข้น 900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในการชุบผลกล้วยและเก็บรักษากล้วย พบว่าผลกล้วยที่ชุบผลด้วยสารเคมีโพรคลอราซสามารถเก็บรักษาโดยยืดอายุได้นานขึ้นประมาณ 21 วัน โดยไม่ส่งผลต่อเนื้อกล้วยที่อยู่ด้านในของผลกล้วย

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ต่อการควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าในทุเรียน เริ่มจากทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคจากส่วนของผลทุเรียนที่แสดงอาการของโรค หลังจากแยกเชื้อราและจัดจำแนกทางชีวโมเลกุลแล้ว พบว่าเป็นเชื้อรา *L. theobromae* จำนวน 3 ไอโซเลท คือ LT-1, LT-5 และ LT-10 จึงได้นำมาพิสูจน์การเกิดโรคกับผลทุเรียนเล็กตัดแต่ง (อายุ 70 วัน) พบว่าไอโซเลท LT-10 ก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาจึงได้นำมาทดสอบกับสารกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด ด้วยวิธี Poisoned food technique ที่ 5 ระดับความเข้มข้น (0, 10, 100, 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าสารกำจัดเชื้อราโพรคลอราซสามารถควบคุมเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) ได้ทุกความเข้มข้น โดยความเข้มข้นเริ่มที่ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นต้นไป สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุได้ประมาณ 75- 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นทดสอบการชุบผลทุรียน (Dipping fruits) กับสารเคมี 3 ชนิด (โพรคลอราซ, ไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน) ที่ระดับความเข้มข้น 100 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร พบว่าสารเคมีโพรคลอราซ ก็ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคดีที่สุด และมีเปอรเซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสูงที่สุดถึง 80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ สารเคมีไซโปรโคนาโซล และไพราโคลสโตรบิน และเมื่อผ่าผลทุเรียนเพื่อสังเกตการเข้าทำลายของเชื้อรา *L. theobromae* (LT-10) ก็พบว่าผลทุเรียนที่ชุบสารเคมีทั้ง 3 ชนิด ไม่พบการเข้าทำลายถึงเนื้อทุเรียน โดยสารเคมีโพรคลอราซพบการเข้าทำลายของเชื้อกับเนื้อเปลือกทุเรียนน้อยที่สุด โดยสรุปสามารถยืนยันได้ถึงประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าทุเรียน โดยการใช้สารเคมีโพคลอราซ ความเข้มข้น 10, 100, 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ในการชุบผลทุเรียนหรืออาจจะประยุกต์ใช้ในการฉีดป้องกันลูกทุเรียนในระหว่างติดผลได้ตลอดจนเก็บผลผลิต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการโรคพืชวิทยา ของสาขาเทคโนโลยีการผลิตพืชและภูมิทัศน์ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี และบริษัทเจี่ยไต๋ ที่สนับสนุนทุนการศึกษาและสถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

พิกุล นุชนวลรัตน์ และ อัจฉรา บุญโรจน์. (2558). ผลของสารเคมี Prochloraz, Benomyl, Carbendazim, Azoxystrobin, Mancozeb และ Copper oxychloride ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกร. *วารสารวิจัยรำไพพรรณี, 9*(2), 15-20. https://so05.tci-thaijo.org/index.php/RRBR/article/view/247029

พิสุทธิ์ เอกอำนวย. (2564). *ทุเรียน ราชาผลไม้ Durian, King of fruits*. บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ.

รังสิมันตุ์ ธีระวงศ์ภิญโญ, สมศิริ แสงโชติ และ ปัฐวิภา สงกุมาร. (2562). การระบุชนิดของเชื้อรา *Lasiodiplodia* species สาเหตุโรคผลเน่าทุเรียนในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 50*(3), 147-150. https://www.phtnet.org/download/phtic-seminar/1926.pdf

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2566). *สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2567*. http://www.oae.go.th

อาภัสรา หีดรอด, รัติยา พงศ์พิสุทธา และชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. (2566). การจำแนกชนิดและความแปรปรวนทางพันธุกรรมบริเวณ Internal transcribed spacer (ITS) ของเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* ที่แยกได้จากทุเรียน (*Durio* sp.). *แก่นเกษตร, 51*(1), 107-123. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj/article/view/254873

Alves A., Crous, P. W., Correia, A., & Phillips, A. J. L. (2008). Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. *Fungal Divers, 28*, 1–13. http://www.fungaldiversity.org/fdp/sfdp/28-1.pdf

Chantarasiri A., & Boontanom, P. (2021). *Fusarium solani* and *Lasiodiplodia pseudotheobromae,* fungal pathogens causing stem rot disease on durian trees (*Durio zibethinus*) in Eastern Thailand. *New Disease Reports, 44*(3), 12026. https://doi.org/10.1002/ndr2.12026

Dennis C., & Webster, J. (1971). Antagonist properties of species group of Trichoderma; Production of volatile antibiotics. *Transactions British Mycological Society*, *57*(1), 25-39. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80077-3

He, R., Yang, Y., Hu, Z., Xue, R., & Hu, Y. (2021). Resistance mechanisms and fitness of pyraclostrobin-resistant isolates of *Lasiodiplodia theobromae* from mango orchards. *PLoS ONE, 16*(6), e0253659. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253659

Khanzada, M. A., Lodhi, A. M., & Shahzad, S. (2004). Pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Fusarium solani* on mango. *Pakistan Journal of Botany, 36*, 181–189. https://www.researchgate.net/publication/266069789_Pathogenicity_of_Lasiodiplodia_theobromae_and_Fusarium_solani_on_mango

Munirah, M. S., Azmi, A. R., Yong, S. Y. C., & Nur, A. I. M. Z. (2017). Characterization of *Lasiodiplodia theobromae* and *L. pseudotheobromae* causing fruit rot on pre-harvest mango in Malaysia. *Plant Pathology & Quarantine, 7*(2), 202–213. https://doi.org/10.5943/ppq/7/2/14

Nianwichai P., Tongsri, V., Taraput, N., Srisopha, W., Sichai, K., Bussbong, N., Songkumarn, P., & Koohapitagtam, M. (2022). Macozeb resistance of *Phytophthora palmivora*, a causal agent of stem rot and leaf blight of durian in eastern Thailand. *King Mongkut's Agriculture Journal, 40*(3), 225-235. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agritechjournal/article/view/254891

Nur-Shakirah A. O., Khadijah, M. S., Kee, Y. J., Huda-Shakirah, A. R., Hafifi, A. B. M., Nurul-Aliyaa, Y. A., Chew, B. L., Zakaria, L., Mohamed, N. M. I., Sreeramanan, S., Yin-Hui, L., & Mohd, M. H. (2022). Characterization of *Lasiodiplodia* species causing leaf blight, stem rot and fruit rot of fig (*Ficus carica*) in Malaysia. *Plant Pathology, 71*(7), 1594-1605. https://doi.org/10.1111/ppa.13580

Piasai, R., Chalmers, P., Piasai, O., & Khewkhom, N. (2021). Postharvest fungicide dips to control fruit rot of 'Monthong' durian (*Durio zibethinus*). *European Journal of Plant Pathology, 160*, 325-336. https://doi.org/10.1007/s10658-021-02246-3

Pipattanpuckdee, A., Danai, B., Chantala, T. k, Pimjai, S., & On-Uma, R. (2019). *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causes postharvest fruit rot of longan in Thailand. *Australasian Plant Disease Notes, 14*(1), 15-21. https://doi.org/10.1007/s13314-019-0350-9

Rehman, U. A., Din, U., Naqvi, S., Latif, M., Khan, S., Malik, M. T., & Freed, S. (2015). Emerging resistance against different fungicide in *Lasiodiplodia theobromae* as the cause of mango die back in Pakistan. *Archives of Biological Science Belgrade, 67*(1), 241–249. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:53588327

Rodriguez-Solís M., Guevara-Bonilla, M., Méndez-Álvarez, D., & Esquivel-Segura, E. (2025). First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing *Paulownia elongata* dieback in Costa Rica. *New Disease Reports, 51*(1), 70015. https://doi.org/10.1002/ndr2.70015

Rosado, A. W. C., Machado, A. R., Freire, F. C. O., & Pereira, O. L. (2016). Phylogeny, identification, and pathogenicity of *Lasiodiplodia* associated with postharvest stem-end rot of coconut in Brazil. *Plant Disease, 100*(3), 561–568. https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0242-RE

Serrato-Diaz, L. M., Rivera-Vargas, L. I., Goenaga, R., & French-Monar, R. D. (2014). First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing inflorescence blight and fruit rot of Longan (*Dimocarpus longan* L.) in Puerto Rico. *Plant Disease, 98*(2), 270-279. https://doi.org/10.1094/PDIS-05-13-0473-PDN

Thomidis, T., Michailides, T., & Exadaktylou, E. (2008). Contribution of pathogens to peach fruit rot in northern Greece and their sensitivity to iprodione, carbendazim, thiophanate-methyl and tebuconazole fungicides. *Journal of Phytopathology, 157*, 194–200. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2008.01469.x

White, T. J., . Bruns, T. D., Lee, B., & Taylor, J. W. (1999). *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*: In: M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White Eds., PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, New York, 315-322. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:85783615}

Zhang S. R., Sun, D., & Yuan, H. Q. (2010). Residue determination and dynamic research of prochloraz and its metabolite in orange. *Journal of Instrumental Analysis, 49*(6), 430–442. https://scispace.com/papers/residue-determination-and-dynamic-research-of-prochloraz-and-40lx1160dj

Zhao H., Yang, G., Liu, Y., Ye, H., Qi, X., & Wang, Q. (2019). Residual behavior and risk assessment of prochloraz in bayberries and bayberry wine for the Chinese population. *Environmental Monitoring and Assessment, 191*(11), 644. https://link.springer.com/article/10.1007/s10661-019-7804-6?utm_source=researchgate.net&utm_medium=article

Zheng X. H., Xie, D. F., Lv, D. Z., Xinping F., & Yongbo, P. (2012). Residual dynamics of 45% prochloraz in storage banana. *Chinese Journal of Tropical Crops, 33*(12), 2273–2278. https://www.rdzwxb.com/EN/Y2012/V33/I12/2273