

ประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราที่ใช้ทั่วไปในสวนทุเรียน และสารเคมีกำจัดเชื้อราอื่นๆ ต่อการเจริญ
ของเชื้อรา *Phomopsis* spp. สาเหตุโรคผลเน่าและโรคใบจุดทุเรียน

Efficacy of Fungicides Commonly Used in Durian Orchard and Other Fungicides on Growth
of *Phomopsis* spp., Causal Pathogen of Durian Fruit Rot and Leaf Spot Disease

พรศิริ บุญพุ่ม^{1,2} สมศิริ แสงโชติ^{1,2} และ เนตรนภิส เขียวขำ^{1,2}

Pornsiri Bunphum^{1,2}, Somsiri Sangshot^{1,2} and Netnaphis Khewkhom^{1,2}

Abstract

Durian fruit rot is a major constraint of Thailand exporting market. The fungus, *Phomopsis* spp. is an important pathogen causing fruit rot and leaf spot of durian. The efficacy of fungicides on growth inhibition were investigated by using microtiter plate method. The 109 fungal isolates were obtained from leaf spot and fruit rot collected from 12 durian production provinces. Three fungicides commonly used in durian orchards including mancozeb, carbendazim and pyraclostrobin, and other three fungicides including propineb, difenoconazole and hexaconazole at half of recommendation rate, recommendation rate and recommendation rate + half of recommendation rate concentration were tested for growth inhibition of *Phomopsis* spp. Five fungicides could inhibit growth of this fungus but carbendazim at half of recommendation rate, recommendation rate and recommendation rate + half of recommendation rate concentration could not completely inhibit all isolates, carbendazim resistant isolates were shown at 18.34 %, 14.68 % and 8.26 % respectively of total isolates. This fungicide is usually used in durian orchard.

Keywords: Chemical resistance, Durian fruit rot disease, Durian leaf spot

บทคัดย่อ

โรคผลเน่าทุเรียนส่งผลกระทบต่อตลาดการส่งออกทุเรียนผลสดของประเทศไทย โดยมีสาเหตุจากเชื้อรา *Phomopsis* spp. เป็นเชื้อที่สำคัญก่อให้เกิดทั้งโรคผลเน่าและโรคใบจุด จึงได้มีการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis* spp. ด้วยวิธี microtiter plate method โดยสุ่มเก็บตัวอย่างโรคจากใบและผลทุเรียนจาก 12 จังหวัดที่เป็นแหล่งปลูกทุเรียน จำนวน 109 ไอโซเลท เมื่อทดสอบกับสารเคมีที่ใช้ฉีดพ่นทางใบในสวนทุเรียนโดยทั่วไป 3 ชนิด ประกอบด้วย mancozeb, carbendazim และ pyraclostrobin และสารเคมีกลุ่มอื่นๆ ที่นำมาทดสอบ 3 ชนิด ประกอบด้วย propineb, difenoconazole และ hexaconazole ที่ความเข้มข้น ลดลงครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำ อัตราแนะนำ และเพิ่มขึ้นครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำ พบว่าสารเคมี 5 ชนิด ที่ใช้ในการทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis* spp. ได้ทุกไอโซเลท ในขณะที่ สาร carbendazim ที่ความเข้มข้น ลดลงครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำ อัตราแนะนำ และเพิ่มขึ้นครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำ สามารถควบคุมเชื้อรา *Phomopsis* spp. ได้บางส่วนเท่านั้น โดยมีจำนวนที่ติดต่อสารเคมี คิดเป็น 18.34 %, 14.68 % และ 8.26 % ตามลำดับ ซึ่งสาร carbendazim เป็นสารเคมีที่พบการใช้มากในการฉีดพ่นในสวนทุเรียน

คำสำคัญ: การต้านทานสารเคมี โรคผลเน่าทุเรียน โรคใบจุดทุเรียน

คำนำ

ทุเรียนเป็นไม้ผลเศรษฐกิจของประเทศไทย ที่มีการส่งออกสู่หลายประเทศทั่วโลกทั้งแบบแปรรูปและทุเรียนผลสด ซึ่งประสบปัญหาโรคผลเน่าเมื่อสินค้าถึงตลาดปลายทาง เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราหลายชนิด ได้แก่ *Lasiodiplodia* sp. *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis* sp. โดย Visarathanonth (1999) รายงานว่า เชื้อรา *Phomopsis* spp. สามารถก่อให้เกิดโรคผลเน่า ในไม้ผลเขตร้อนได้ เช่น เงาะ ทุเรียน ฝรั่ง มะขาม มะม่วง และมังคุด เชื้อราชนิดนี้สามารถก่อให้เกิดโรคใบจุดทุเรียนได้อีกด้วย (Tongsri *et al.*, 2016) เกษตรกรส่วนมากใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดนี้อย่างต่อเนื่อง ทั้งใน

¹ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

¹ Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

² ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กทม. 10400

² Postharvest Technology Innovation Center, Office of the Higher Education Commission, Bangkok 10400, Thailand

แปลงปลูกทุเรียนและการจุ่มผลหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งหากใช้สารเคมีชนิดเดิมบ่อยครั้งและเป็นเวลานานทำให้เชื้อราเกิดการต้านทานสารเคมีชนิดนั้นๆได้ จึงได้มีการนำสารเคมีที่ใช้ทั่วไปในสวนทุเรียน 2 กลุ่ม คือ สารประเภทสัมผัสผัสดตาย ได้แก่ mancozeb และสารเคมีประเภทดูดซึม ได้แก่ carbendazim และ pyraclostrobin เปรียบเทียบกับสารเคมีกลุ่มอื่นที่นำมาทดสอบ ประกอบด้วย สารเคมีประเภทสัมผัสผัสดตาย ได้แก่ propineb และสารเคมีประเภทดูดซึม ได้แก่ difenoconazole และ hexaconazole ซึ่งอาจนำมาใช้ทดแทนสารเคมีชนิดเดิมในกรณีที่เชื้อราสาเหตุโรคเกิดการต้านทานสารเคมี โดยทดสอบด้วยวิธี microtiter plate method ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในการเฝ้าระวังการเกิดการต้านทานสารเคมีของเชื้อราในห้องปฏิบัติการ (Fraaije et al., 2005)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เก็บตัวอย่างโรคผลเน่าและโรคใบจุดทุเรียนและแยกเชื้อให้บริสุทธิ์

สุ่มเก็บตัวอย่างโรคใบจุด *Phomopsis* และโรคผลเน่าทุเรียน จากพื้นที่ผลิตทุเรียน 12 จังหวัดในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดสุโขทัย จังหวัดอุดรธานี จังหวัดศรีสะเกษ จังหวัดระยอง จังหวัดจันทบุรี จังหวัดตราด จังหวัดชุมพร จังหวัดระนอง จังหวัดสงขลา จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดนครศรีธรรมราชและจังหวัดยะลา ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างโรคใบจุดไม่น้อยกว่า 10 % ของจำนวนต้นต่อพื้นที่ปลูกและแยกเชื้อราจากผลทุเรียนที่แสดงอาการโรค จากนั้นแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ด้วยเทคนิควิธี tissue transplanting method และทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี single spore isolation ทุกไอโซเลท

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ทั่วไปในสวนทุเรียนและสารเคมีกำจัดเชื้อราอื่น ๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในห้องปฏิบัติการ

แยกเชื้อรา *Phomopsis* spp. ให้บริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการจำนวน 109 ไอโซเลท จากนั้นนำเชื้อราทุกไอโซเลททดสอบร่วมกับสารเคมีกำจัดเชื้อรา โดยใช้สารเคมีที่ใช้ทั่วไปในสวนทุเรียนจำนวน 3 ชนิดคือ carbendazim mancozeb และ pyraclostrobin และสารเคมีในกลุ่มอื่น ๆ จำนวน 3 ชนิดคือ propineb trifloxystrobin และ hexaconazole ด้วยวิธี microtiter plate method โดยเตรียมสารแขวนลอยโคโคเดียของเชื้อรา *Phomopsis* spp. ทุกไอโซเลท ที่ความเข้มข้น 10^6 โคโคเดียต่อ มิลลิลิตรในอาหาร CM (Complete Medium) ใช้ micro pipette ดูดสารแขวนลอยใส่ลงในช่องของ microtiter plate ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารเคมีที่ละลายด้วยอาหาร CM ปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยเตรียมสารเคมีแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นสุดท้ายใน microtiter plate ที่ความเข้มข้นเท่ากับ ลดลงจากอัตราแนะนำอยู่ครึ่งหนึ่ง อัตราแนะนำ และเพิ่มขึ้นจากอัตราแนะนำอยู่ครึ่งหนึ่ง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทำความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ จากนั้นคลุมเพลทด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดการเจริญของเชื้อราโดยส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Zeiss Discovery V8 Trinocular Stereo Microscope เพื่อดูประสิทธิภาพของสารเคมีและวิเคราะห์ความเสี่ยงของการต้านทานสารเคมีของเชื้อรา

ผล

1. เก็บตัวอย่างโรคผลเน่าและโรคใบจุดทุเรียนและแยกเชื้อให้บริสุทธิ์

จากการแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์จากโรคผลเน่าทุเรียน (Figure 1A) และอาการโรคใบจุดทุเรียน (Figure 1B) พบเชื้อรา *Phomopsis* spp. จำนวน 47 และ 62 ไอโซเลทตามลำดับ จากพื้นที่ปลูกทุเรียน 12 จังหวัด ในประเทศไทยพบว่าในแต่ละพื้นที่มีความหลากหลายของเชื้อราเมื่อแยกจากความแตกต่างของเส้นใยและสีของโคโคเดีย ซึ่งสามารถแยกออกได้ 5 กลุ่ม (Figure 2A-E)

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ทั่วไปในสวนทุเรียนและสารเคมีกำจัดเชื้อราอื่น ๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis* spp. ด้วยวิธี microtiter plate method พบว่า สารเคมีที่ใช้ทั่วไปในสวนทุเรียนจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ mancozeb และ pyraclostrobin และสารเคมีกลุ่มอื่น ๆ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ propineb trifloxystrobin และ hexaconazole ทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis* spp. ได้ ทุกไอโซเลท ในขณะที่สาร carbendazim ที่ความเข้มข้น ลดลงครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำ อัตราแนะนำ และเพิ่มขึ้นครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำ สามารถควบคุมเชื้อรา *Phomopsis* spp. ได้ 81.65%, 85.32% และ 91.74% (figure 3A) โดยมีจำนวนที่ติดต่อกับสารเคมี คิดเป็น 18.34 %, 14.68 % และ 8.26 % ตามลำดับ โดยเชื้อราไอโซเลทที่เกิดการต้านทานที่ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำนั้นมาจากจังหวัดระยอง จังหวัดตราด จังหวัดนครศรีธรรมราช และจังหวัดยะลา มีจำนวน 90.91%, 7.14%, 28.58% และ 60% ตามลำดับ (Table 1)

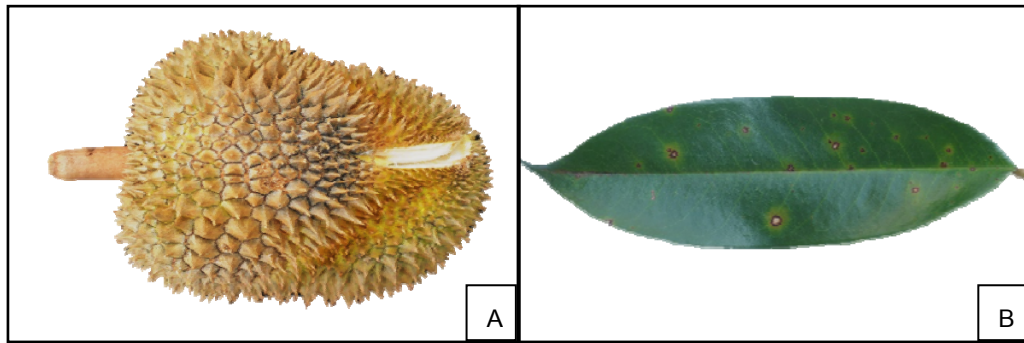


Figure 1 Symptom of (A) durian fruit rot disease and (B) Phomopsis leaf spot disease

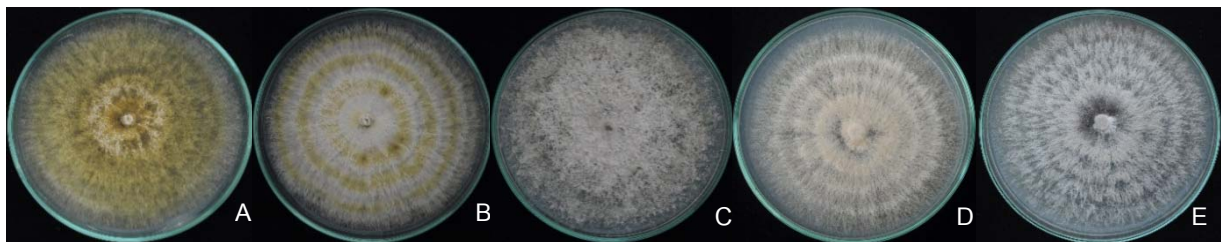


Figure 2 Colonies of *Phomopsis* spp. show (A) yellowish green, (B) concentric ring of white – yellow, (C) grey, (D) concentric ring of grey – white and (E) concentric ring of white dense and thin mycellia.

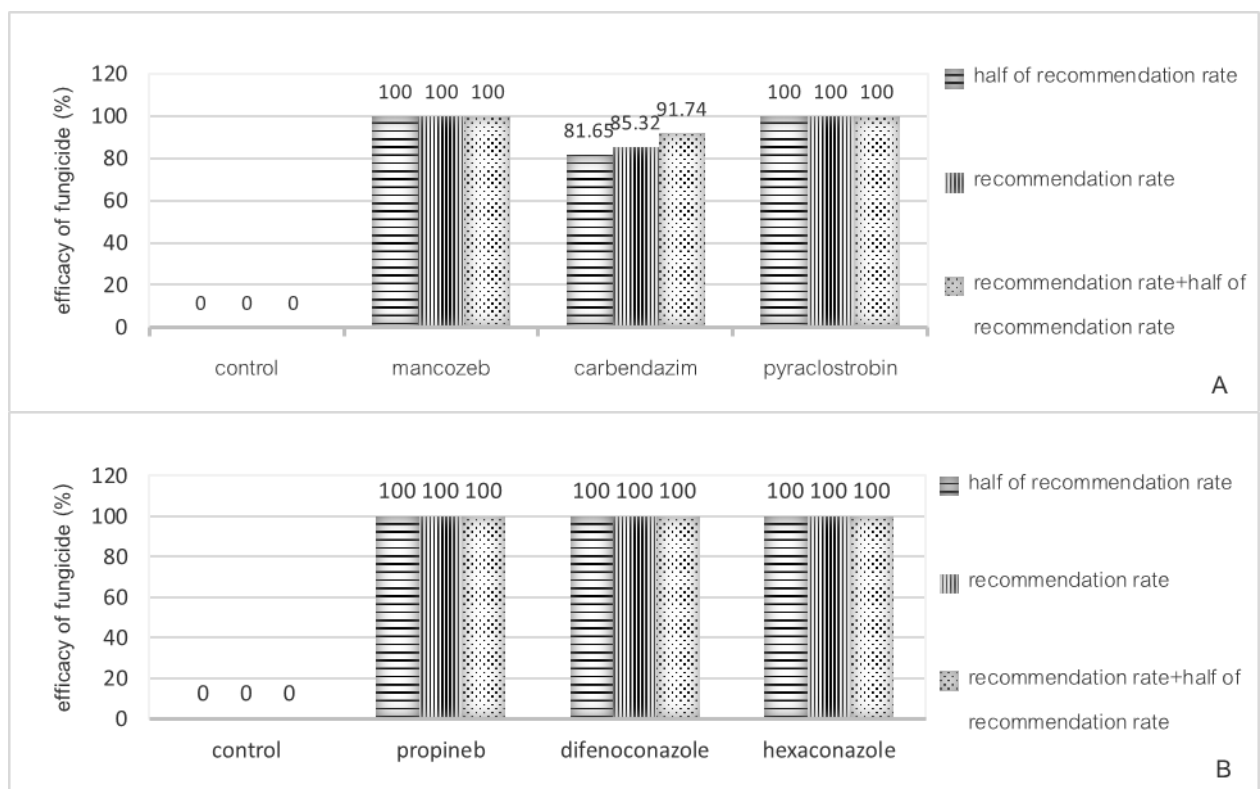


Figure 3 Efficacy of fungicides on growth inhibition of *Phomopsis* spp. isolates using microtiter plate method. (A) three fungicides commonly used in durian orchards and (B) other three fungicides

Table 1 Growth inhibition percentage of *Phomopsis* spp. resistant isolate with carbendazim treatment

Location	Number of isolates	Resistant isolate		Location	Number of isolates	Resistant isolate	
		No.	%			No.	%
Rayong	11	10	90.91	Ranong	4	0	0.00
Chanthaburi	18	0	0.00	Chumphon	12	0	0.00
Trat	14	1	7.14	Nakhon Si Thammarat	7	2	28.58
Sukhothai	4	0	0.00	Surat Thani	19	0	0.00
Uttaradit	6	0	0.00	Songkhla	4	0	0.00
Sisaket	6	0	0.00	Yala	5	3	60.00

วิจารณ์ผล

การเก็บตัวอย่างเชื้อสาเหตุโรคใบจุดและโรคผลเน่าทุเรียนจำนวน 109 ไอโซเลท เมื่อจำแนกตามความแตกต่างของลักษณะเส้นใยและสปีโคโลนีที่ได้ทั้งหมด 5 กลุ่ม แสดงถึงความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phomopsis* spp. ในพื้นที่ปลูกทุเรียน แต่ข้อมูลยังไม่เพียงพอต่อการระบุชนิดของเชื้อรา *Phomopsis* spp. ซึ่ง Vilga and Volkova (2015) ได้รายงานเชื้อรา *Phomopsis vaccinii* สาเหตุโรค dieback ในแครนเบอร์รี่ มีความหลากหลายของโคโลนีซึ่งมีความใกล้เคียงกันกับ *Phomopsis* sp. ชนิดอื่น ๆ มาก จึงต้องศึกษาการสร้าง pycnidia และขนาด conidia ร่วมกับเทคนิคทางโมเลกุลเพื่อเป็นการระบุชนิดที่ชัดเจนขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อนำเชื้อราทุกไอโซเลททดสอบกับสารเคมีที่ใช้ควบคุมโรค พบว่า 90.91 % ของเชื้อราจากจังหวัดระยอง เกิดการต้านทานต่อสารเคมี carbendazim ที่อัตราแนะนำ ซึ่งจากการสอบถามเกษตรกรพบว่าในพื้นที่มีการใช้สารเคมีชนิดนี้ในการฉีดพ่นเพื่อควบคุมโรคทางใบอยู่บ่อยครั้งต่อฤดูปลูก มีความสอดคล้องกับรายงานของ Zhang *et al.* (2016) พบว่าเชื้อรา *Phomopsis vexans* สาเหตุโรค brown rot ในมะเขือยาวเกิดการต้านทานสารเคมี carbendazim ที่รุนแรงขึ้นจากปี 2013-2015 จึงแนะนำให้ใช้สารเคมี pyraclostrobin ในการควบคุมโรคเพราะสามารถควบคุมโรคได้ดีในห้องปฏิบัติการ จากการทดลองทำให้เห็นว่าเชื้อรา *Phomopsis* spp. ในสวนทุเรียนเริ่มเกิดการต้านทานต่อสารเคมี ในกระบวนการผลิตควรมีการตระหนักถึงวิธีการใช้สารเคมีและเฝ้าระวังไม่ให้เกิดการต้านทานที่รุนแรงขึ้นโดยเริ่มจากการปรับเปลี่ยนกลุ่มสารเคมีที่ใช้ควบคุมโรค

สรุป

จากการศึกษาเชื้อรา *Phomopsis* spp. สาเหตุโรคใบจุดและโรคผลเน่าทุเรียน พบว่ามีความหลากหลายของประชากรของเชื้อราโดยจัดจำแนกด้วยสีของโคโลนี เมื่อนำเชื้อราทุกไอโซเลทมาทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุมเชื้อรา พบว่า 90.91 % ของเชื้อรา *Phomopsis* spp. จากพื้นที่ปลูกทุเรียนในจังหวัดระยอง มีการดื้อต่อสารเคมี carbendazim ที่ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ

คำขอขอบคุณ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือและสถานที่ในการวิจัย และงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กทม.

เอกสารอ้างอิง

- Fraaije, B. A., F.J. Burnett, W.S. Clark, J. Motteram and J.A. Lucas. 2005. Resistance development to QoI inhibitors in populations of *Mycosphaerella graminicola* in the UK. Modern fungicides and anti-fungal compounds IV. BCPC, Alton UK. 63 - 71 p.
- Tongsri, V., P. Songkumam and S. Sangchote. 2016. Leaf spot characteristics of *Phomopsis durionis* on durian (*Durio zibethinus* murray) and latent infection of the pathogen. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis 64(22): 185-193
- Vilka, L. and J. Volkova. 2015. Morphological diversity of *Phomopsis vaccinii* isolates from Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) in Latvia. Proceeding of the Latvia University of agricultural, 33(328); 8 - 18
- Visarathanonth, N. 1999. Disease of Temperate Fruits. J. Film Process Co. Ltd., Bangkok, Thailand. 157-164 p.
- Zhang, Y., D.J. Dai, H.D. Wang and C.Q. Zhang. 2016. Management of benzimidazole fungicide resistance in eggplant brown rot (*Phomopsis vexans*) with pyraclostrobin. Phytoparasitica 44(3): 313-324.