

## ผลของการใช้สารเคมีร่วมกับเชื้อราและแบคทีเรียปฏิชีวนะต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรคกิ่งแห้งของทุเรียน

Effects of fungicides combined with antagonistic fungi and bacteria on the mycelial growth of *Fusarium* spp., the causal agents of dieback disease in durian

จุฑาทิพย์ จิตรนุ้ม, ปัทวิภา สงกุมาร, สุพจน์ กาเซ็ม และ วีระณีย์ ทองศรี\*

Juthathip Jitnum, Pattavipha Songkumarn, Supot Kasem and Veeranee Tongsrir\*

### บทคัดย่อ

โรคกิ่งแห้งของทุเรียนมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Fusarium* spp. ทำให้ต้นทุเรียนทรุดโทรม ผลผลิตลดลงและยืนต้นตายในหลายแหล่งปลูกของประเทศไทย การควบคุมโรคส่วนใหญ่มักใช้สารเคมีเป็นหลักและใช้อย่างต่อเนื่อง ทำให้เชื้อราเกิดความต้านทานต่อสารเคมีขึ้น การนำจุลินทรีย์ปฏิชีวนะมาใช้ร่วมกับสารเคมีจึงน่าจะช่วยแก้ปัญหาในการควบคุมเชื้อราที่ดื้อต่อสารเคมีได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความไวของเชื้อรา *Fusarium* ต่อสารเคมีบางชนิด และทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิชีวนะ *Trichoderma asperellum* KU1 และแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีสารเคมีบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวิธี dual culture ผลการวิจัยพบว่าเชื้อรา *Fusarium* 2 ไอโซเลตเกิดความต้านทานปานกลาง (moderately resistant, MR) และ 5 ไอโซเลตเกิดความต้านทาน (resistant, R) ต่อสาร chlorothalonil โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 45.42-50.95 และ 146.85-661.32ppm ตามลำดับ, 6 ไอโซเลตเกิดความต้านทานปานกลาง (MR) ต่อสาร mancozeb (มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 12.12-212.85ppm) และ 3 ไอโซเลตเกิดความต้านทานปานกลาง (MR) ต่อสาร difenoconazole (มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 32.15-35.82ppm) ส่วนในสาร prochloraz ไม่พบเชื้อราเกิดความต้านทาน โดยมีค่า  $EC_{50}$  อยู่ในช่วง <0.1-6.68ppm ผลการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิชีวนะต่อการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* spp. พบว่า เชื้อราปฏิชีวนะ *T. asperellum* KU1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 51.85-86.11 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. amyloliquefaciens* KPS46 ที่ยับยั้งได้ 2.72-62.50 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม เมื่ออยู่ในสภาพที่มีสาร difenoconazole ที่ความเข้มข้น 0.1ppm แบคทีเรียปฏิชีวนะ KPS46 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* ไอโซเลตที่ต้านทานต่อสารเคมีได้มากขึ้น 1.40 เท่า ดังนั้นควรศึกษาการใช้สารเคมีร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิชีวนะเพิ่มเติมเพื่อพัฒนาแนวทางควบคุมโรคกิ่งแห้งของทุเรียนในระดับโรงเรียนต่อไป

**คำสำคัญ:** ความไวของเชื้อราต่อสารเคมี, สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา, ไตรโคเดอร์มา, บาซิลลัส

### Abstract

Dieback disease of durians is caused by *Fusarium* spp., which causes tree decline, reduced yield, and death in several growing areas of Thailand. Disease control is primarily based on fungicides, which have been continuously used, leading to the development of resistance to these fungicides in the pathogens. The integration of microbial antagonists with fungicides may offer a promising approach to the management of resistant *Fusarium* isolates and improving disease control efficacy. This research aimed to determine the sensitivity of *Fusarium* spp. to some fungicides and to assess the antagonistic efficacy of *Trichoderma asperellum* KU1 and *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 against *Fusarium* spp. on culture media, both in the presence and absence of fungicides using the dual culture method. The results revealed that 2 *Fusarium* isolates exhibited moderate resistance (MR), and 5 isolates showed resistance (R) to chlorothalonil, with  $EC_{50}$  values ranging from 45.42-50.95 and from 146.85 to 661.32ppm, respectively. Six isolates demonstrated moderate resistance (MR) to mancozeb ( $EC_{50}$ =12.12-212.85ppm), while 3 isolates exhibited moderate resistance (MR) to difenoconazole ( $EC_{50}$ =32.15-35.82ppm). In contrast, no resistance was observed among the isolates

คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Faculty of Agriculture, Kesetsart University, Lat Yao, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

\* Corresponding author. E-mail: fagrvt@ku.ac.th

Received: August 20, 2025; Revised: September 18, 2025; Accepted: November 27, 2025

to prochloraz ( $EC_{50}$  ranging from  $<0.1$  to  $6.68$  ppm). All 7 *Fusarium* isolates were subjected to control by antagonistic microorganisms. *T. asperellum* KU1 demonstrated higher suppression ranging from  $51.85$ - $86.11\%$ , compared to *B. amyloliquefaciens* KPS46, which showed inhibition rates of  $2.72$ - $62.50\%$ . However, in the presence of difenoconazole at a concentration of  $0.1$  ppm, the antagonistic bacterium KPS46 exhibited a  $1.40$ -fold increase in its inhibitory efficacy against the fungicide-resistant *Fusarium* isolate. Therefore, further studies on the combined use of difenoconazole and the antagonistic bacterium KPS46 should be conducted for greenhouse management of durian dieback disease.

**Keywords:** fungicide sensitivity, fungicides, *Trichoderma*, *Bacillus*

## บทนำ

ทุเรียน (*Durio zibethinus* Murr.) เป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีการส่งออกมากที่สุดของประเทศไทย โดยในปี 2567 มีพื้นที่ให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นจากปี 2566 ถึง  $7.43$  เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณการส่งออก  $859,183$  ตัน คิดเป็นมูลค่า  $44,223$  ล้านบาท (Ministry of Commerce, 2024) อย่างไรก็ตามโรคกิ่งแห้งที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* spp. ถือเป็นปัญหาสำคัญในการผลิตทุเรียนของประเทศไทย โดยพบการระบาดมากในช่วงเดือนเมษายน-กรกฎาคมของทุกปี ซึ่งทำให้กิ่งทุเรียนแห้งเป็นสีน้ำตาล ใบเหลืองและหลุดร่วง และยืนต้นตายตามมา โดยอาจพบโรคสูงถึง  $80$  เปอร์เซ็นต์ ของต้นทุเรียนทั้งหมด (Pongpisutta et al., 2023) ปัจจุบันการควบคุมโรคกิ่งแห้งมักใช้สารเคมีเป็นหลัก จากการศึกษาของ Boonruangrod et al., (2021) รายงานว่าสารเคมี carbendazim, pyraclostrobin และ hymexazole สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* ได้มากกว่า  $60$  เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีติดต่อกันเป็นเวลานานอาจนำไปสู่การพัฒนาความต้านทานของเชื้อรา ดังเช่นจากการศึกษาของ Naqvi et al., (2025) รายงานว่าเชื้อรา *Fusarium* spp. เกิดความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม triazoles, phenylpyrole และ benzimidazoles ซึ่งสารเคมีหลายชนิดในสามกลุ่มนี้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในสวนทุเรียนของประเทศไทยเช่นเดียวกัน จึงมีความเป็นไปได้ที่เชื้อราสาเหตุโรคจะพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีแล้ว การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เช่น แบคทีเรีย *Bacillus* spp. และรา *Trichoderma* spp. เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถลดการใช้สารเคมี และมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ร่วมกับสารเคมีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคให้ดีขึ้น (Zhang et al., 2021; Lahli et al., 2022; Yao et al., 2023; Wesche & Schnabel, 2025) ทั้งนี้แบคทีเรียและเชื้อราปฏิปักษ์มีหลายกลไกในการช่วยควบคุมโรคพืช ได้แก่ การแข่งขันเพื่อแย่งชิงสารอาหารและพื้นที่ การผลิตสารปฏิชีวนะ การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช (Miljakovic et al., 2020; Tyskiewicz et al., 2022) ดังจากการศึกษาของ Dewi et al., (2025) รายงานว่าแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* B1 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของกระเทียมได้  $53.40$  เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Verma et al., (2025) รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* SVPRT-56 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* ได้  $86.70$  เปอร์เซ็นต์ ยิ่งไปกว่านั้นมีรายงานว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บางชนิดมีความทนต่อสารเคมี ดังจากรายงานของ Devi & Prakasam (2020) พบว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* และ *B. subtilis* มีความทนต่อสารเคมี azoxystrobin ที่ความเข้มข้น  $250$  ppm ในขณะเดียวกัน Gonzalez et al., (2020) รายงานว่าเชื้อรา *T. reesei* C2A สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* F1 ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวในไม้ผลได้  $36$  เปอร์เซ็นต์ และสามารถใช้ร่วมกับสารเคมี mancozeb ที่ความเข้มข้นต่ำที่ระดับ  $0.1$  ppm จึงมีความเป็นไปได้ที่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่อาจมีความทนต่อสารเคมีจะสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* ของทุเรียนได้เช่นเดียวกัน โดยเฉพาะไอโซเลตที่เกิดความต้านทานต่อสารเคมีแล้ว

ดังนั้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความไวของเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรคกิ่งแห้งของทุเรียนต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราบางชนิดและศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *T. asperellum* KU1

และแบคทีเรียปฏิบัฯ *B. amyloliquefaciens* KPS46 ต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคในสภาพห้องปฏิบัติการ อันจะเป็นประโยชน์ต่อการนำสารเคมีมาใช้ร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิบัฯ เพื่อควบคุมโรคกิ่งแห้งของทุเรียนให้มีประสิทธิภาพต่อไป

### วิธีการศึกษา

#### 1. แยกเชื้อราสาเหตุโรคและทดสอบความสามารถในการก่อโรค

ตัวอย่างทุเรียนพันธุ์หมอนทองที่แสดงอาการกิ่งแห้งและใบอ่อนไหม้ในแหล่งปลูกภาคตะวันออกและภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี สระแก้ว ชุมพร สุราษฎร์ธานี และประจวบคีรีขันธ์ ถูกนำส่งมาที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ แยกเชื้อตัวอย่างพืชที่เป็นโรคด้วยวิธี tissue transplanting โดยตัดเนื้อเยื่อบริเวณกิ่งแห้งและใบอ่อนไหม้ให้มีรอยต่อกับบริเวณเนื้อเยื่อปกติ ขนาด 0.50×0.50 เซนติเมตร และนำมาฆ่าเชื้อบริเวณผิวรอบนอกในสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์ Chlorox<sup>®</sup> เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้ง และนำชิ้นส่วนพืชวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ half potato dextrose agar (half PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (25±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน เมื่อเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นพืช ใช้เข็มเย็บตัดปลายเส้นใยของเชื้อราและนำมาเลี้ยงบนจานอาหาร half PDA เป็นเวลา 10 วัน เพื่อนำมาทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนกิ่งทุเรียนพันธุ์หมอนทองด้วยวิธี detached branch โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.50 เซนติเมตร ตัดขอบโคโลนีของเชื้อรามาวางลงบนกิ่งทุเรียนที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ Chlorox<sup>®</sup> เป็นเวลา 5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 ครั้ง ซึ่งมีการทำแผลด้วยเข็มเย็บเชื้อ 5 จุดต่อ 1 กิ่ง แต่ละจุดให้ห่างกัน 4 เซนติเมตร บ่มกิ่งที่ได้รับการปลูกเชื้อแล้วในกล่องพลาสติกขึ้นที่อุณหภูมิห้อง (25±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) จำนวน 3 ซ้ำ สังเกตลักษณะอาการของโรคและบันทึกความยาวแผล

#### 2. ทดสอบความไวของเชื้อรา *Fusarium* spp. ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา

สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบ มี 4 ชนิด ได้แก่ chlorothalonil (75% a.i.), mancozeb (80% a.i.), difenoconazole (25% a.i.) และ prochloraz (45% a.i.) โดย 2 ชนิดแรกเป็นสารที่มีการใช้ในแปลงปลูกทุเรียนมาอย่างต่อเนื่อง ส่วน difenoconazole เริ่มนำมาใช้มากขึ้นในภายหลัง สำหรับ prochloraz ยังไม่พบการนำมาใช้ในแปลงทุเรียน ทำการผสมสารเคมีแต่ละชนิดในอาหาร half PDA ให้ได้ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0, 0.1, 1, 10, 100 และ 1000ppm ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.50 เซนติเมตร ตัดเส้นใยของเชื้อราบริเวณขอบโคโลนีไปวางบนอาหารผสมสารเคมีที่เตรียมไว้ สำหรับกรรมวิธีควบคุมใช้อาหารผสมน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแทนสารเคมี วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้อง (25±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน บันทึกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา และคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ตามวิธีการของ Tong Sri et al., (2023) ดังสูตร (1)

$$\text{การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (\%)} = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

โดยที่  $M1$  = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในชุดควบคุม (1)

$M2$  = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารผสมสารเคมี

นำค่าที่ได้จากสูตร (1) มาประเมินค่าความเข้มข้นของสารเคมีที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ( $EC_{50}$ ) โดยใช้การวิเคราะห์ Probit ในโปรแกรม SPSS version 25.0 และจัดระดับความไวต่อสารเคมีของเชื้อรา โดยสารเคมี

prochloraz ดัดแปลงจาก Avozani et al., (2014) สารเคมี difenoconazole ดัดแปลงจาก Petkar et al., (2017) ส่วนสารเคมี chlorothalonil และ mancozeb ดัดแปลงจาก Kongtragoul et al., (2022)

### 3. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราและแบคทีเรียปฏิบั้กษาในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp.

#### 3.1 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิบั้กษา *T. asperellum* KU1

เลี้ยงเชื้อราปฏิบั้กษา *T. asperellum* KU1 ในอาหาร half PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน (เชื้อราสร้างสปอร์น้อย เป็นการป้องกันการฟุ้งของสปอร์บนจานเพาะเชื้อ) และเลี้ยงเชื้อรา *Fusarium* spp. ในอาหารชนิดเดียวกัน บ่มเป็นเวลา 7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.50 เซนติเมตร ตัดบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราทั้งสองชนิด วางเชื้อบนอาหาร half PDA ในฝั้ตรงข้ามกัน โดยให้เชื้อราทั้งสองห่างจากขอบจานอาหาร 2 เซนติเมตร ทำการทดลอง 5 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ส่วนในชุดควบคุมให้วางเฉพาะเชื้อราสาเหตุโรค วัดรัศมีการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. และคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ดังสูตร (2)

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

โดยที่  $R1 =$  รัศมีการเจริญของเชื้อราในชุดควบคุม (2)

$R2 =$  รัศมีการเจริญของเชื้อราในชุดทดสอบ

#### 3.2 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิบั้กษา *B. amyloliquefaciens* KPS46

เลี้ยงแบคทีเรียปฏิบั้กษา *B. amyloliquefaciens* KPS46 ในอาหาร Nutrient agar (NA) โดยวิธี cross streak บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 วัน ใช้ loopแตะโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรียและขีดบนอาหาร half PDA ให้ห่างจากขอบจาน 2 เซนติเมตร และวางชิ้นส่วนของเชื้อรา *Fusarium* ให้ห่างจากขอบจานในระยะทางเท่ากัน ทำการทดลองและบันทึกผลเช่นเดียวกับข้อ 3.1 และคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยใช้สูตร (2)

### 4. ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิบั้กษาต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* spp. ในสภาพที่มีสารเคมี

เลือกชนิดของสารเคมีที่เชื้อรา *Fusarium* แสดงความอ่อนแอ (sensitive) และต้านทาน (resistant) ต่อสารเคมีเป็นตัวแทนในการศึกษา โดยผสมสารเคมีให้มีความเข้มข้นตามข้อ 2 และวางจุลินทรีย์ปฏิบั้กษาทั้ง *T. asperellum* KU1 และ *B. amyloliquefaciens* KPS46 โดยแยกจากกัน และวางเชื้อราสาเหตุโรคในฝั้ตรงข้ามบนอาหารดังกล่าว บันทึกผลเช่นเดียวกับข้อ 3

### 5. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยความยาวแผลบนกิ่งทุเรียนและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ วิเคราะห์จากโปรแกรม Microsoft Excel version 2404 ส่วนค่า  $EC_{50}$  ของสารเคมีแต่ละชนิด วิเคราะห์จากค่า Probit ในโปรแกรม SPSS version 25.0

## ผลการศึกษาและอภิปรายผล

### 1. แยกเชื้อราสาเหตุโรคและทดสอบความสามารถในการก่อโรค

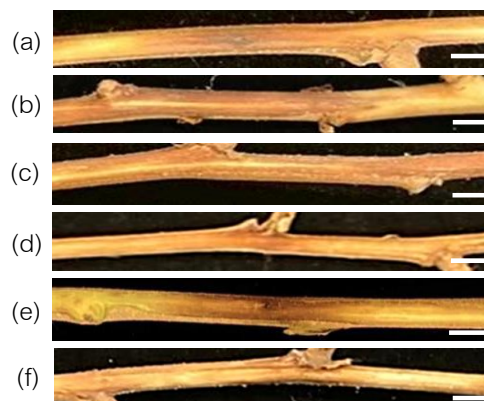
เชื้อรา *Fusarium* ที่แยกได้จากอาการกิ่งแห้งและใบไหม้ พบว่ามีทั้งหมด 61 ไอโซเลท แต่มี 55 ไอโซเลทที่สามารถก่อโรคกับทุเรียนได้แตกต่างกัน (แผลมีลักษณะใหม่เป็นสีน้ำตาล) ซึ่งมี 6 ไอโซเลทที่ก่อโรครุนแรงถึงรุนแรงมาก ได้แก่ ไอโซเลท Chp\_MA4, Chp\_MB4, Chp\_MB6, Sr\_PSB16, Chp\_ML2 และ Chp\_MT1 โดยมีความยาวแผลตั้งแต่

4.36-4.96 เซนติเมตร (Table 1) และ (Figure 1) สอดคล้องกับการศึกษาของ Pongpisutta et al., (2020) รายงานว่าเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่แยกได้จากกิ่งแห้งของทุเรียน ก่อให้เกิดอาการลำต้นไหม้ในต้นกล้าทุเรียนเช่นเดียวกัน

**Table 1** Pathogenicity test of *Fusarium* spp. on detached durian branches after 7 days of inoculation.

| <i>Fusarium</i> isolates | lesion length<br>(cm) <sup>1</sup> | <i>Fusarium</i> isolates | lesion length<br>(cm) <sup>1</sup> | <i>Fusarium</i> isolates | lesion length<br>(cm) <sup>1</sup> |
|--------------------------|------------------------------------|--------------------------|------------------------------------|--------------------------|------------------------------------|
| Ch_KMB1                  | 0.56±1.32                          | Ch_TMB6                  | 3.31±1.27                          | Sr_PSB18                 | 0.97±1.30                          |
| Chp_MA1                  | 2.63±1.30                          | Ch_TMB7                  | 2.52±1.27                          | Sr_PSL1                  | 0.54±1.32                          |
| Chp_MA2                  | 2.83±1.31                          | Pc_BSL1                  | 3.81±1.29                          | Sr_PSL2                  | 0.70±1.31                          |
| Chp_MA3                  | 3.14±1.32                          | Pc_BSB1                  | 3.45±1.28                          | Sr_PSL3                  | 0.68±1.30                          |
| Chp_MA4                  | 4.78±1.34                          | Sr_PSB1                  | 2.36±1.28                          | Sr_PSL4                  | 2.66±1.29                          |
| Chp_MB1                  | 2.10±1.32                          | Sr_PSB2                  | 1.30±1.30                          | Sr_PSL6                  | 3.75±1.34                          |
| Chp_MB2                  | 2.31±1.33                          | Sr_PSB3                  | 3.72±1.31                          | Sr_PSL7                  | 0.42±1.31                          |
| Chp_MB3                  | 3.93±1.34                          | Sr_PSB4                  | 2.32±1.30                          | Sr_PSL9                  | 0.37±1.25                          |
| Chp_MB4                  | 4.91±1.34                          | Sr_PSB5                  | 0.66±1.32                          | Sr_PSL10                 | 1.29±1.13                          |
| Chp_MB5                  | 2.85±1.31                          | Sr_PSB6                  | 3.54±1.32                          | Sr_KML1                  | 2.21±1.12                          |
| Chp_MB6                  | 4.96±1.32                          | Sr_PSB8                  | 3.51±1.31                          | Sr_KML2                  | 1.75±1.19                          |
| Chp_ML1                  | 3.74±1.29                          | Sr_PSB9                  | 1.75±1.32                          | Sr_KML3                  | 3.48±1.23                          |
| Chp_ML2                  | 4.56±1.29                          | Sr_PSB10                 | 2.95±1.34                          | Sr_KML4                  | 0.45±1.33                          |
| Chp_MT1                  | 4.36±1.29                          | Sr_PSB11                 | 1.33±1.35                          | Sr_KML5                  | 2.35±1.32                          |
| Ch_TMB1                  | 2.54±1.24                          | Sr_PSB12                 | 0.82±1.38                          | Sr_KML6                  | 3.38±1.32                          |
| Ch_TMB2                  | 2.41±1.26                          | Sr_PSB13                 | 2.66±1.32                          | Sr_KML8                  | 3.45±1.32                          |
| Ch_TMB3                  | 3.54±1.27                          | Sr_PSB14                 | 3.79±1.41                          | Sr_KML9                  | 3.62±1.32                          |
| Ch_TMB4                  | 3.66±1.27                          | Sr_PSB15                 | 1.15±1.39                          |                          |                                    |
| Ch_TMB5                  | 3.75±1.27                          | Sr_PSB16                 | 4.61±1.41                          |                          |                                    |

<sup>1</sup> mean±standard deviation.



**Figure 1** Severity of disease symptoms on detached durian branches at 7 days after inoculation with different *Fusarium* isolates: (a) Chp\_MA4, (b) Chp\_MB4, (c) Chp\_MB6, (d) Sr\_PSB16, (e) Chp\_ML2, and (f) Chp\_MT1, scale bar=1 cm.

## 2. ทดสอบความไวของเชื้อรา *Fusarium* spp. ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา

เชื้อรา 7 ไอโซเลทที่ใช้เป็นตัวแทนในการศึกษา มีทั้งก่อโรครุนแรงมาก ได้แก่ ไอโซเลท Ch\_TMB6, Ch\_TMB3, Sr\_PSB8, Chp\_MA4 และ Sr\_PSB6 (มีความยาวแผลตั้งแต่ 3.34-4.78 เซนติเมตร) ก่อโรครุนแรงปานกลาง ได้แก่ ไอโซเลท Ch\_TMB2 (มีความยาวแผล 2.41 เซนติเมตร) และก่อโรคน้อย ได้แก่ ไอโซเลท Ch\_KMB1 (มีความยาวแผล 0.56 เซนติเมตร) พบว่า มี 2 ไอโซเลท (Chp\_MA4, Sr\_PSB6) เกิดความต้านทานปานกลาง (MR,  $EC_{50}$ =45.42-50.95ppm) และ 5 ไอโซเลท (Ch\_TMB6, Ch\_TMB3, Ch\_TMB2, Ch\_KMB1, Sr\_PSB8) เกิดความต้านทาน (R,  $EC_{50}$ =146.85-661.32ppm) ต่อสารเคมี chlorothalonil (Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับ González-Oviedo et al., (2022) รายงานว่า *F. oxysporum* f. sp. *vanilla* สาเหตุโรคเหี่ยวของวนิลาทั้ง 9 ไอโซเลทเกิดความต้านทานต่อ chlorothalonil และ thiophanate methyl ในทำนองเดียวกัน Poromarto et al., (2023) รายงานว่า *F. oxysporum* f. sp. *cepa* สาเหตุโรคเหี่ยวของหอมหัวใหญ่เกิดความต้านทานต่อ chlorothalonil และ propineb อย่างไรก็ตาม EL-Saman et al., (2023) รายงานว่าสารเคมี chlorothalonil สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. solani* โดยมีค่า  $EC_{50}$  อยู่ในช่วง 28.40-59.40ppm ซึ่งรูปแบบ (formulation) หรือชื่อการค้าของสารเคมีที่ต่างกัน ทำให้สาร chlorothalonil มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคต่างกันด้วย ส่วนสารเคมี mancozeb พบว่ามีเชื้อรา 6 ไอโซเลท (Chp\_MA4, Sr\_PSB6, Ch\_TMB6, Ch\_TMB3, Ch\_TMB2, Ch\_KMB1) แสดงความต้านทานปานกลาง (MR,  $EC_{50}$ =12.12-212.85ppm) และ 1 ไอโซเลท (Sr\_PSB8) แสดงความอ่อนแอ (S,  $EC_{50}$ =7.28ppm) ต่อสารเคมี (Table 2) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วยังไม่พบรายงานเชื้อรา *Fusarium* เกิดความต้านทานต่อ mancozeb ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นรายงานแรกของประเทศไทยที่พบเชื้อราสกุลนี้ได้พัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีดังกล่าวแล้ว ซึ่งต่างจาก Naziya & Sharada (2018) รายงานว่า mancozeb สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *melongenae* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือยาวได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม Nianwichai et al., (2022) รายงานว่ามีเชื้อ *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคใบไหม้ของทุเรียนในแหล่งปลูกภาคตะวันออกของประเทศไทย มีบางไอโซเลทเกิดความต้านทานต่อ mancozeb เช่นกัน โดยทั้งสาร chlorothalonil และ mancozeb เป็นสารที่มีกลไกการออกฤทธิ์หลายจุด (multisite activity fungicides) ต่อเซลล์ของเชื้อรา มีผลทำให้เชื้อราเกิดความเสียหายต่อการดูดน้ำและการดูดอาหาร (FRAC, 2025)

สำหรับสารเคมี difenoconazole พบว่า มีเชื้อรา *Fusarium* spp. 3 ไอโซเลท (Ch\_TMB6, Ch\_KMB1, Sr\_PSB8) แสดงความต้านทานปานกลาง (MR,  $EC_{50}$ =32.15-35.82ppm) และ 4 ไอโซเลท (Ch\_TMB3, Ch\_TMB2, Chp\_MA4 และ Sr\_PSB6) แสดงความอ่อนแอ (S,  $EC_{50}$ =<0.10-18.62ppm) ต่อสารเคมี (Table 2) สอดคล้องกับการศึกษาของ Xu et al., (2025) รายงานว่าเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของข้าวสาลีเกิดความต้านทานต่อ difenoconazole โดยการต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อรา *Fusarium* spp. มีความเกี่ยวข้องกับหลายกลไก ได้แก่ การขับสารพิษออกนอกเซลล์ การกลายพันธุ์ของยีนเป้าหมาย และการเกิดกระบวนการลดพิษ (Naqvi et al., 2025) ในขณะที่ Abdo et al., (2023) รายงานว่าเชื้อรา *F. oxysporum* บางไอโซเลท (44 จาก 115 ไอโซเลท) ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของสตรอเบอร์รี่มีความอ่อนแอต่อ difenoconazole ยิ่งไปกว่านั้น จากผลการทดลองครั้งนี้ยังพบว่าเชื้อราทั้ง 7 ไอโซเลทแสดงความอ่อนแอ (S,  $EC_{50}$ =<0.10-6.68ppm) ต่อสารเคมี prochloraz (Table 2) ซึ่งเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มเดียวกับ difenoconazole คือ Demethylation inhibitor fungicides (DMIs) มีกลไกออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ sterol ในเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา (FRAC, 2025) ซึ่ง Li et al., (2025) รายงานว่าเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรครากเน่าของถั่วลิสงมีความอ่อนแอในระดับสูง (highly sensitive) ต่อสารเคมี prochloraz และ difenoconazole ในทำนองเดียวกัน Mao et al., (2025) รายงานว่าเชื้อรา *F. solani* ทั้ง 98 ไอโซเลทแสดงความอ่อนแอต่อสารเคมี prochloraz โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.029-0.40µg/mL ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Fusarium* มีการตอบสนองต่อสารเคมีแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน

**Table 2** EC<sub>50</sub> values and sensitivity levels of *Fusarium* spp. to four fungicides on half-strength PDA medium after 7 days of incubation.

| <i>Fusarium</i> | chlorothalonil         |                 | mancozeb               |                 | difenoconazole         |                 | prochloraz             |                 |
|-----------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
| isolates        | EC <sub>50</sub> (ppm) | SL <sup>1</sup> | EC <sub>50</sub> (ppm) | SL <sup>1</sup> | EC <sub>50</sub> (ppm) | SL <sup>1</sup> | EC <sub>50</sub> (ppm) | SL <sup>1</sup> |
| Ch_TMB6         | 270.37                 | R               | 80.31                  | MR              | 35.82                  | MR              | 6.68                   | S               |
| Ch_TMB3         | 178.00                 | R               | 34.68                  | MR              | 9.37                   | S               | 0.33                   | S               |
| Ch_TMB2         | 146.85                 | R               | 212.85                 | MR              | 18.62                  | S               | 1.27                   | S               |
| Ch_KMB1         | 661.32                 | R               | 212.85                 | MR              | 34.72                  | MR              | 1.11                   | S               |
| Chp_MA4         | 45.42                  | MR              | 12.12                  | MR              | 9.46                   | S               | 4.17                   | S               |
| Sr_PSB6         | 50.95                  | MR              | 46.53                  | MR              | <0.01                  | S               | 3.88                   | S               |
| Sr_PSB8         | 146.85                 | R               | 7.28                   | S               | 32.15                  | MR              | <0.01                  | S               |

<sup>1</sup> sensitivity level: S=sensitive, MR=moderately resistant, R=resistant.

### 3. ประสิทธิภาพของเชื้อราและแบคทีเรียปฏิชีวนะต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp.

เชื้อราปฏิชีวนะ *T. asperellum* KU1 และแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. amyloliquefaciens* KPS46 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ทั้ง 7 ไอโซเลตได้แตกต่างกัน โดยเชื้อราปฏิชีวนะสามารถยับยั้งได้ 51.85-86.11 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าแบคทีเรียปฏิชีวนะที่ยับยั้งได้ 2.72-62.50 เปอร์เซ็นต์ จุลินทรีย์ปฏิชีวนะทั้ง 2 ชนิดก่อให้เกิดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) บนอาหารเลี้ยงเชื้อในบางไอโซเลตของ *Fusarium* (Table 3) ซึ่งมีความสอดคล้องกับ Win et al., (2021) และ Elshahawy & Marrez (2024) รายงานว่าเชื้อรา *T. asperellum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ โดยอาศัยกลไกการแข่งขันครอบครองพื้นที่ การสร้างสารปฏิชีวนะและการเป็นปรสิตต่อเชื้อรา ในขณะที่ Khedher et al., (2021) รายงานว่าแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรคเหี่ยวและหัวเน่ามันฝรั่งได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง Xu et al., (2020) ระบุว่าแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* spp. สามารถผลิตสารพิษออกมาทำลายผนังเซลล์ของเชื้อรา จึงทำให้เส้นใยและสปอร์ของ *Fusarium* เกิดความผิดปกติ

### 4. ประสิทธิภาพของเชื้อราและแบคทีเรียปฏิชีวนะต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* spp. ในสภาพที่มีสารเคมี

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. asperellum* KU1 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ไอโซเลตด้านทานปานกลาง (MR, Ch\_TMB6) และอ่อนแอ (S, Sr\_PSB6) พบว่าเชื้อราปฏิชีวนะ *T. asperellum* KU1 แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งดีกว่าแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. amyloliquefaciens* KPS46 เกือบ 2 เท่า ในขณะที่ในสภาพที่มีสารเคมีเข้มข้นไม่เกิน 1ppm เชื้อราปฏิชีวนะสามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* ได้น้อยลง (ยับยั้งได้สูงสุด 59.91 เปอร์เซ็นต์) (Table 4) และ (Figure 2) ซึ่งอาจมีผลมาจากสารเคมีทำให้เชื้อราปฏิชีวนะเจริญได้น้อยลง จึงทำให้ควบคุมเชื้อรา *Fusarium* ได้น้อยลงเช่นเดียวกัน สอดคล้องกับ Panda et al., (2023) รายงานว่า difenoconazole ตั้งแต่ความเข้มข้น 100ppm ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. amyloliquefaciens* KPS46 ในสภาพที่มีสารเคมี สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* ไอโซเลตด้านทานปานกลาง (MR, Ch\_TMB6) ได้สูงสุด 55.79 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 0.1ppm ซึ่งมากกว่าในสภาพที่ไม่มีสารเคมี (0ppm) 1.3 เท่า (Table 4) และ (Figure 2) อาจมีสาเหตุมาจากสารเคมีที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ ช่วยกระตุ้นให้แบคทีเรียมีการเจริญหรือสร้างสารยับยั้งได้มากกว่าปกติ ดังจาก Xu et al., (2022) รายงานว่าการผสมแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* SDTB009 กับสาร difenoconazole สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้มากกว่าการใช้แบคทีเรียปฏิชีวนะเพียงอย่างเดียว โดยส่งเสริมให้แบคทีเรียสร้างสาร surfactin ที่มีคุณสมบัติทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรค

อันแสดงให้เห็นถึงการเกิดกลไกเสริมฤทธิ์กันระหว่างจุลินทรีย์และสารเคมีในการควบคุมโรคพืช อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นของสารเคมีเพิ่มสูงขึ้น มีผลทำให้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิดยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้น้อยลงหรือไม่ได้เลย ดังนั้น การคัดเลือกสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ให้ทนต่อสารเคมีในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อนำมาปรับใช้ร่วมกับสารเคมีในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* ในอนาคต โดยความทนต่อสารเคมีของเชื้อราและแบคทีเรียปฏิปักษ์อาจเกี่ยวข้องกับกลไกต่าง ๆ เช่น มีการขับสารพิษออกจากเซลล์ เกิดการย่อยสลายสารพิษ หรือเกิดการกลายพันธุ์บริเวณยีนที่เกี่ยวข้อง (Ruocco et al., 2009; Podbielska et al., 2020; Wang et al., 2024) เป็นต้น

**Table 3** Efficacy of microbial antagonists, *T. asperellum* KU1 and *B. amyloliquefaciens* KPS46, against *Fusarium* isolates after 7 and 14 days, respectively, on half-strength PDA medium.

| microbial antagonists             | <i>Fusarium</i> isolates | mycelial growth inhibition (%) <sup>1</sup> | inhibition zone width (cm) <sup>2</sup> |
|-----------------------------------|--------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------|
| <i>T. asperellum</i> KU1          | Ch_TMB6                  | 53.33 <sup>g</sup>                          | 2.46±0.04                               |
|                                   | Ch_TMB3                  | 70.76 <sup>b</sup>                          | 0.02±2.40                               |
|                                   | Ch_TMB2                  | 58.06 <sup>e</sup>                          | -                                       |
|                                   | Ch_KMB1                  | 86.11 <sup>a</sup>                          | -                                       |
|                                   | Chp_MA4                  | 62.86 <sup>d</sup>                          | 0.23±0.04                               |
|                                   | Sr_PSB6                  | 67.67 <sup>c</sup>                          | 0.26±0.09                               |
|                                   | Sr_PSB8                  | 51.85 <sup>h</sup>                          | 0.23±0.04                               |
| <i>B. amyloliquefaciens</i> KPS46 | Ch_TMB6                  | 54.53 <sup>f</sup>                          | 1.80±0.08                               |
|                                   | Ch_TMB3                  | 2.72 <sup>k</sup>                           | -                                       |
|                                   | Ch_TMB2                  | 51.94 <sup>gh</sup>                         | 1.57±0.12                               |
|                                   | Ch_KMB1                  | 62.50 <sup>d</sup>                          | 3.50±0.08                               |
|                                   | Chp_MA4                  | 50.05 <sup>i</sup>                          | 1.27±0.05                               |
|                                   | Sr_PSB6                  | 54.41 <sup>f</sup>                          | 1.50±0.00                               |
|                                   | Sr_PSB8                  | 5.63 <sup>j</sup>                           | -                                       |

<sup>1</sup> numbers followed by different letters indicate a statistically significant differences at the 95 % confidence level, analyzed using Duncan's New Multiple Range est.

<sup>2</sup> mean±standard deviation.

- =no inhibition zone.

จากการทดลองครั้งนี้ มีข้อสังเกตที่น่าสนใจ คือ ในสภาวะที่มีสารเคมี difenoconazole ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-10ppm แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* KPS46 ยังสามารถควบคุมเชื้อรา *Fusarium* ไอโซเลทที่ต้านทานต่อสารเคมีได้ (Ch\_TMB6) ถึงแม้จะควบคุมได้น้อยลงเรื่อย ๆ ตามความเข้มข้นที่สูงขึ้นก็ตาม ปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้จะเอื้อประโยชน์ต่อการนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* KPS46 มาใช้ร่วมกับสารเคมีในแปลงทุเรียน ซึ่งในปัจจุบันมีแนวโน้มที่ประชากรของเชื้อรา *Fusarium* อาจพัฒนาความต้านทานต่อ difenoconazole มากขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากเกษตรกรมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในสวนทุเรียนมากขึ้นเป็นลำดับ ซึ่งสารเคมีดังกล่าวได้ถูกแนะนำให้ใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสของทุเรียนที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ในประเทศไทยด้วยเช่นกัน ด้วยเหตุผลที่ว่าประชากรของเชื้อรา *Colletotrichum* ยังไม่พัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีดังกล่าวนั่นเอง (Apithanasakulngeon et al., 2025)

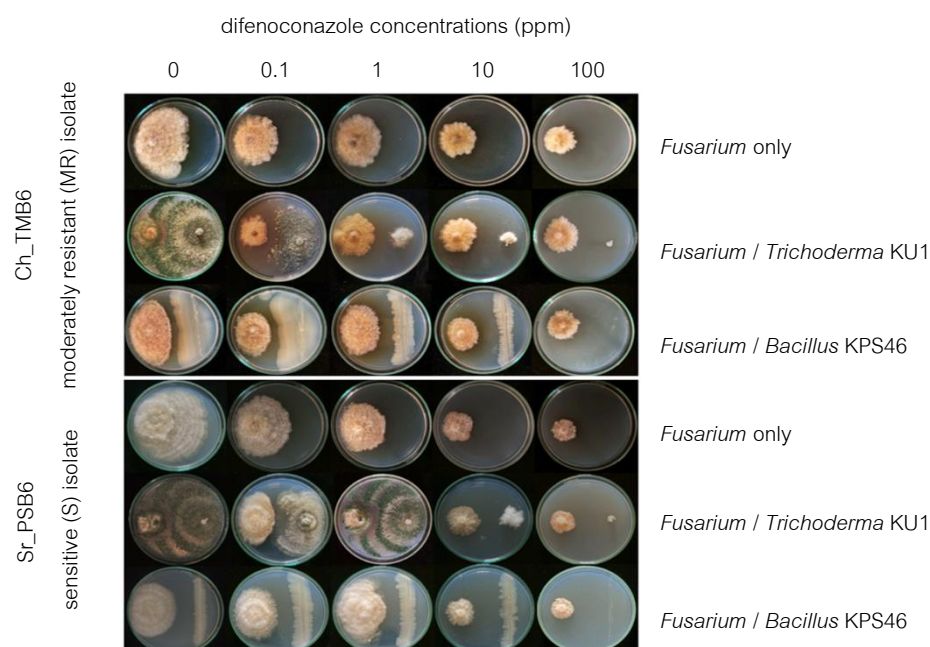
**Table 4** Effect of microbial antagonists, *T. asperellum* KU1 and *B. amyloliquefaciens* KPS46 against *Fusarium* growth in the presence of various concentrations of difenoconazole, evaluated after 7 days of incubation.

| <i>Fusarium</i> isolates                  | concentrations (ppm) | <i>Fusarium</i> radial growth on PDA medium amended with difenoconazole (cm) <sup>1</sup> |                      |                             | <i>Fusarium</i> growth inhibition (%) <sup>2</sup> |                             |
|-------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------|
|                                           |                      | control                                                                                   | <i>T. asperellum</i> | <i>B. amyloliquefaciens</i> | <i>T. asperellum</i>                               | <i>B. amyloliquefaciens</i> |
|                                           |                      |                                                                                           | KU1                  | KPS46                       | KU1                                                | KPS46                       |
| Ch_TMB6<br>(moderately resistant isolate) | 0                    | 3.60±0.04                                                                                 | 0.87±0.12            | 2.10±0.20                   | 75.83 <sup>a</sup>                                 | 41.67 <sup>f</sup>          |
|                                           | 0.1                  | 2.33±0.25                                                                                 | 1.27±0.15            | 1.03±0.57                   | 45.49 <sup>e</sup>                                 | 55.79 <sup>c</sup>          |
|                                           | 1                    | 2.10±0.26                                                                                 | 1.63±0.15            | 1.47±0.55                   | 22.38 <sup>i</sup>                                 | 30.00 <sup>h</sup>          |
|                                           | 10                   | 1.47±0.35                                                                                 | 1.50±0.26            | 1.30±0.20                   | -2.04 <sup>k</sup>                                 | 11.56 <sup>j</sup>          |
|                                           | 100                  | 1.13±0.15                                                                                 | 1.13±0.15            | 1.13±0.06                   | 0.00 <sup>k</sup>                                  | 0.00 <sup>k</sup>           |
| Sr_PSB6<br>(sensitive isolate)            | 0                    | 4.37±0.12                                                                                 | 1.03±0.15            | 2.67±0.06                   | 76.43 <sup>a</sup>                                 | 38.90 <sup>g</sup>          |
|                                           | 0.1                  | 2.80±0.10                                                                                 | 1.47±0.15            | 1.90±0.35                   | 47.50 <sup>d</sup>                                 | 32.14 <sup>h</sup>          |
|                                           | 1                    | 2.17±0.12                                                                                 | 0.87±0.06            | 2.37±0.12                   | 59.91 <sup>b</sup>                                 | -9.21 <sup>m</sup>          |
|                                           | 10                   | 1.13±0.06                                                                                 | 1.33±0.15            | 1.20±0.10                   | -17.69 <sup>n</sup>                                | -6.19 <sup>j</sup>          |
|                                           | 100                  | 0.83±0.12                                                                                 | 0.83±0.15            | 0.87±0.06                   | 0.00 <sup>k</sup>                                  | -4.81 <sup>i</sup>          |

<sup>1</sup> mean±standard deviation.

<sup>2</sup> numbers followed by different letters indicate a statistically significant difference at a 95% confidence level, analyzed using Duncan's New Multiple Range Test.

negative values indicate the fungal growth in the control plates was lower than in the dual culture plates.



**Figure 2** Effect of microbial antagonists, *T. asperellum* KU1 and *B. amyloliquefaciens* KPS46, against *Fusarium* growth in the presence of various concentrations of difenoconazole on PDA medium, where Ch\_TMB6 is a moderately resistant (MR) isolate and Sr\_PSB6 is a sensitive (S) isolate to the fungicide, evaluated after 7 days of incubation.

### สรุป

เชื้อรา *Fusarium* spp. ที่แยกได้จากอาการกิ่งแห้งและใบอ่อนไหม้ของทุเรียนพันธุ์หมอนทอง จำนวน 61 ไอโซเลต มี 55 ไอโซเลตที่ก่อให้เกิดโรค โดย 23 ไอโซเลตก่อโรครุนแรงที่สุด เมื่อทดสอบความไวต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราของตัวแทนไอโซเลตเชื้อรา *Fusarium* จำนวน 7 ไอโซเลต พบว่าทั้ง 7 ไอโซเลตเกิดความต้านทาน ( $EC_{50}$ =45.42-661.32ppm) ต่อสารเคมี chlorothalonil, 6 ไอโซเลตเกิดความต้านทานปานกลาง ( $EC_{50}$ =12.12-212.85ppm) ต่อสารเคมี mancozeb, 3 ไอโซเลตเกิดความต้านทานปานกลาง ( $EC_{50}$ =32.15-35.82ppm) ต่อสารเคมี difenoconazole ส่วนสารเคมี prochloraz ไม่พบเชื้อราเกิดการต้านทาน ( $EC_{50}$ =<0.10-6.68ppm) เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการยับยั้งเชื้อราทั้ง 7 ไอโซเลต พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ *T. asperellum* KU1 สามารถยับยั้งได้ 51.85-86.11 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* KPS46 สามารถยับยั้งได้น้อยกว่า คือ 2.72-62.50 เปอร์เซ็นต์ โดยในสภาพที่มีสารเคมี difenoconazole เชื้อราปฏิปักษ์ *T. asperellum* KU1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้น้อยลง ในขณะที่แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* KPS46 สามารถยับยั้งเชื้อราไอโซเลตที่ต้านทานต่อสารเคมีได้มากขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารเคมีให้สูงขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพของทั้งราและแบคทีเรียปฏิปักษ์ลดลงในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค จึงควรทำการศึกษาประสิทธิภาพพหุระหว่างสารเคมีและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมประชากรเชื้อรา *Fusarium* ไอโซเลตอื่น ๆ ที่ต้านทานต่อ difenoconazole หรือสารเคมีชนิดอื่นเพิ่มเติมเพื่อเป็นแนวทางในการนำมาควบคุมโรคกิ่งแห้งของทุเรียนในระดับโรงเรือนต่อไป

### เอกสารอ้างอิง

- Abdo, M. A., Negm, S. E., & Hamada, M. S. (2023). Sensitivity of *Fusarium oxysporum* isolates collected from strawberry roots to DMI fungicides difenoconazole, tebuconazole and prochloraz. *Journal of Plant Protection and Pathology*, 14(9), 275-280.  
<https://www.semanticscholar.org/reader/2a1019d98595b3b87e754bd79a6b1485234b9c94>
- Apithanasakulngeon, P., Suwannarat, S., & Tongsri, V. (2025). Fungicide resistance in *Colletotrichum* species causing durian anthracnose in eastern Thailand. *Agriculture and Natural Resources*, 59(1), 1-10.  
<https://li01.tci-thaijo.org/index.php/anres/article/view/266994>
- Avozani, A., Reis, E. M., & Tonin, R. B. (2014). *In vitro* sensitivity reduction of *Fusarium graminearum* to DMI and QoI fungicides. *Summa Phytopathologica*, 40(4), 358-364. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/1970>
- Boonruangrod, P., Pongpisutta, R., & Rattanakeetakul, C. (2021). Physiological factors affecting growth of *Fusarium solani* causing dieback of durian and fungicide controlling. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 49(6), 1375-1387. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj/article/view/249549> (in Thai)
- Devi, P. A., & Prakasam, V. (2020). Compatibility nature of azoxystrobin 25 SC with *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* on chilli plants. *World Journal of Agricultural Sciences*, 1(8), 258264. <https://www.internationalscholarsjournals.com/articles/compatibility-nature-of-azoxystrobin-25-sc-with-pseudomonas-fluorescens-and-bacillus-subtilis-on-chilli-plants.pdf>

- Dewi, F. S., Dewi, R. R., Abadi, A. L., Setiawan, A., Aini, L. Q., & Syibli, M. A. (2025). Biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* on Indonesian local garlic plants (Lumbu Hijau) using a consortium of *Bacillus amyloliquefaciens* B1 and arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycobiology*, 53(1), 18-26. <https://doi.org/10.1080/12298093.2024.2433826>
- Elshahawy, I. E., & Marrez, D. A. (2024). Antagonistic activity of *Trichoderma asperellum* against *Fusarium* species, chemical profile and their efficacy for management of *Fusarium*-root rot disease in dry bean. *Pest Management Science*, 80(3), 1153-1167. <https://doi.org/10.1002/ps.7846>
- EL-Saman, R., Emara, A. R., Selim, N. M., & Ibrahim, H. M. (2023). Study of chemical stability for chlorothalonil and their fungicidal effect against *Fusarium solani* and *Botrytis cinerea*. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 21(1), 35-48. [https://cjes.guilan.ac.ir/article\\_6194.html](https://cjes.guilan.ac.ir/article_6194.html)
- FRAC. (2025, August). *Fungicide resistance action committee code list*<sup>®</sup>. <https://www.frac.info/media/ljsi3qrv/frac-code-list-2025.pdf>
- Gonzalez, M. F., Magdama, F., Galarza, L., Sosa, D., & Romero, C. (2020). Evaluation of the sensitivity and synergistic effect of *Trichoderma reesei* and mancozeb to inhibit under *in vitro* conditions the growth of *Fusarium oxysporum*. *Communicative & Integrative Biology*, 13(1), 160-169. <https://doi.org/10.1080/19420889.2020.1829267>
- González-Oviedo, N. A., Iglesias-Andreu, L. G., Flores-de la Rosa, F. R., Rivera-Fernández, A., & Luna-Rodriguez, M. (2022). Genetic analysis of the fungicide resistance in *Fusarium oxysporum* associated to *Vanilla planifolia*. *Revista Mexicana De Fitopatología*, 40(3), 330-348. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2203-3>
- Khedher, S. B., Mejdoub-Trabelsi, B., & Tounsi, S. (2021). Biological potential of *Bacillus subtilis* V26 for the control of *Fusarium* wilt and tuber dry rot on potato caused by *Fusarium* species and the promotion of plant growth. *Biological Control*, 152, 104444. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104444>
- Kongtragoul, P., Somnuek, S., Udompongsuk, M., Prasom, P., & Jaenaksorn, T. (2022). Cross-resistance to benzimidazole group and mancozeb fungicides in *Colletotrichum* spp. causing anthracnose disease. *Science & Technology Asia*, 27(4), 400-408. <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/SciTechAsia/article/view/247940>
- Li, M., Chen, L., Wang, Q., He, L., Duan, Y., Mao, X., & Zhou, L. (2025). Species Identification and fungicide sensitivity of *Fusarium* spp. causing peanut root rot in Henan, China. *Journal of Fungi*, 11(6), 433. <https://doi.org/10.3390/jof11060433>
- Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., El Hamss, H., Belabess, Z., & Barka, E. A. (2022). Biological control of plant pathogens: A global perspective. *Microorganisms*, 10(3), 596. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596>

- Mao, X., Cao, T., Chen, L., Li, M., Zhao, X., Liu, H., Duan, Y., Wang, L., & Zhou, L. (2025). Resistance risk and mechanism of prochloraz in *Fusarium solani*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 213, 106548. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2025.106548>
- Miljakovic, D., Marinkovic, J., & Balešević-Tubić, S. (2020). The significance of *Bacillus* spp. in disease suppression and growth promotion of field and vegetable crops. *Microorganisms*, 8(7), 1037. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071037>
- Ministry of Commerce. (2024, June 28). *Durian: Weekly Report (Week 4, June 24-28, 2024)* <https://regional.moc.go.th/th/file/get/file/202407013a6133c1bd218dfc40828623c88c6fea161400.pdf> (in Thai)
- Naqvi, S. A. H., Farhan, M., Ahmad, M., Kiran, R., Shahbaz, M., Abbas, A., & Sathiyaseelan, J. S. (2025). Fungicide resistance in *Fusarium* species: Exploring environmental impacts and sustainable management strategies. *Archives of Microbiology*, 207(2), 31. <https://doi.org/10.1007/s00203-024-04219-6>
- Naziya, B., & Sharada, M. S. (2018). Inhibitory effects of mancozeb on growth and stimulation of resistance against *Fusarium* wilt of brinjal. *The Bioscan*, 13(S1), 285-290. <https://thebioscan.com/index.php/pub/article/view/1582>
- Nianwichai, P., Tongsi, V., Taraput, N., Srisopha, W., Sichai, K., Bussabong, N., Songkumarn, P., & Koohapitagtam, M. (2022). Mancozeb resistance of *Phytophthora palmivora*, a causal agent of stem rot and leaf blight of durian in eastern Thailand. *King Mongkut's Agricultural Journal*, 40(3), 225-235. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agritechjournal/article/view/254891> (in Thai)
- Panda, A. G., Boblina, B., Mishra, M. K., Senapati, A. K., Datta, D., & Jena, B. (2023). Evaluation of fungicide compatibility with a co-culture of *Trichoderma* spp. under *in vitro* conditions. *Biological Forum – An International Journal*, 15(1), 685-688. <https://www.researchtrend.net/bfij/pdf/110%20Evaluation-of-Fungicide-compatibility-with-a-Co-culture-of-Trichoderma-spp.-under-in-vitro-Conditions-110.pdf>
- Petkar, A., Langston, D. B., Buck, J. W., Stevenson, K. L., & Ji, P. (2017). Sensitivity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* to prothioconazole and thiophanate-methyl and gene mutation conferring resistance to thiophanate-methyl. *Plant Disease*, 101(2), 366-371. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-16-1236-RE>
- Podbielska, M., Kus-Liskiewicz, M., Jagusztyn, B., Piechowicz, B., Sadto, S., Stowik-Borowiec, M., Twaruzek, M., & Szpyrka, E. (2020). Influence of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* on penthiopyrad degradation under laboratory and field studies. *Molecules*, 25(6), 1421. <https://doi.org/10.3390/molecules25061421>
- Poromarto, S. H., & Permatasari, F. I. (2023). Fungicide resistance of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cepae* isolated from shallot in Brebes. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1180, 012033. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1180/1/012033>

- Pongpisutta, R., Rattanakreetakul, C., Bincader, S., Chatchaisiri, K., & Boonruangrod, P. (2020). Detection of fungal pathogen causing durian dieback disease. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 48(4), 703-714. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj/article/view/251279> (in Thai)
- Pongpisutta, R., Keawmanee, P., Sanguansub, S., Dokchan, P., Bincader, S., Phuntumart, V., & Rattanakreetakul, C. (2023). Comprehensive investigation of die-back disease caused by *Fusarium* in durian. *Plants*, 12(17), 3045. <https://doi.org/10.3390/plants12173045>
- Ruocco, M., Lanzuise, S., Vinale, F., Marra, R., Turrà, D., Woo, S. L., & Lorito, M. (2009). Identification of a new biocontrol gene in *Trichoderma atroviride*: The role of an ABC transporter membrane pump in the interaction with different plant-pathogenic fungi. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22(3), 291-301. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-3-0291>
- Tongsri, V., Nianwichai, P., Sichai, K., Songkumarn, P., Suttiviriya, P., & Kongtragoul, P. (2023). Sensitivity tests of dimethomorph, ethaboxam and etridiazole on *Phytophthora palmivora* causing stem rot and leaf blight of durian in eastern Thailand. *Agriculture and Natural Resources*, 57(4), 559-568. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/anres/article/view/260445/177952>
- Tyskiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszuk-Sciset, J. (2022). *Trichoderma*: The current status of Its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2329. <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>
- Verma, P., Chaudhary, S., Sagar, S., Singh, A., Singh, M., & Tomar, A. (2025). Morpho-molecular characterization of native *Trichoderma* spp. isolates and their biocontrol efficacy against *Fusarium oxysporum*. *Vegetos*, 2025, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s42535-025-01168-3>
- Wang, W., Peng, G., Sun, Y., & Chen, X. (2024). Increasing the tolerance of *Trichoderma harzianum* T-22 to DMI fungicides enables the combined utilization of biological and chemical control strategies against plant diseases. *Biological Control*, 192, 105479. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105479>
- Wesche, J., & Schnabel, G. (2025). Impact of DMI fungicides on *Bacillus subtilis* cell growth and consequences for disease control. *Plant Disease*, 109(8), 1668-1674. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-24-2367-RE>
- Win, T. T., Bo, B., Malec, P., Khan, S., & Fu, P. (2021). Newly isolated strain of *Trichoderma asperellum* from disease suppressive soil is a potential bio-control agent to suppress *Fusarium* soil borne fungal phytopathogens. *Journal of Plant Pathology*, 103(2), 549-561. <https://doi.org/10.1007/s42161-021-00780-x>
- Xu, C., Guo, M., Han, X., Ren, C., Liu, C., Fu, W., & Chen, Y. (2025). Fungal pathogen diversity and fungicide resistance assessment in *Fusarium* crown rot of wheat in the Huanghuai region of China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 73(4), 2299-2311. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c09274>

- Xu, W., Zhang, L., Goodwin, P. H., Xia, M., Zhang, J., Wang, Q., Liang, j., Sun, R., Wu, C., & Yang, L. (2020). Isolation, identification, and complete genome assembly of an endophytic *Bacillus velezensis* YB-130, potential biocontrol agent against *Fusarium graminearum*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 598285. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.598285>
- Xu, X., Wang, Y., Lei, T., Sohail, M. A., Wang, J., & Wang, H. (2022). Synergistic effects of *Bacillus amyloliquefaciens* SDTB009 and difenoconazole on *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Disease*, 106(8), 2165-2171. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-21-2650-RE>
- Yao, X., Guo, H., Zhang, K., Zhao, M., Ruan, J., & Chen, J. (2023). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1160551. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>
- Zhang, C., Wang, W., Xue, M., Liu, Z., Zhang, Q., Hou, J., Xing, M., Wang, R., & Liu, T. (2021). The combination of a biocontrol agent *Trichoderma asperellum* SC012 and hymexazol reduces the effective fungicide dose to control *Fusarium* wilt in cowpea. *Journal of Fungi*, 7(9), 685. <https://doi.org/10.3390/jof7090685>