

การจำแนกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและพันธุศาสตร์โมเลกุล

Identification of fungal pathogens causing root and stem rot of durian in the lower Northern Thailand using morphological and molecular characteristics

วันวิสาข์ พิระภาค^{1*}, ตรีภคมลล์ สิทธิวีราวุธ², กมลสร ลิมสมมุติ³ และ ครรชิต พิระภาค⁴

Wanwisa Pirapak^{1*}, Treepakkamon Sittthaweerawut², Kamonsorn Limsommut³ and Kunchit Pirapak⁴

Received: 24 February 2024 ; Revised: 22 April 2024 ; Accepted: 14 May 2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า จากตัวอย่างดินบริเวณรอบๆ ต้นทุเรียนที่แสดงอาการของโรครากเน่าโคนเน่า ผลทุเรียนและส่วนเปลือกลำต้นที่แสดงอาการของโรคจากพื้นที่ปลูกทุเรียน ในเขตภาคเหนือตอนล่าง จังหวัดอุตรดิตถ์ และสุโขทัย เพื่อจำแนกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าที่ระบาดในพื้นที่ปลูก โดยวิธีทางสัณฐานวิทยาและ อนุชีวโมเลกุล การแยกเชื้อราจากดินโดยวิธี Baiting Technique และแยกเชื้อราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค ด้วยวิธี Tissue Transplanting สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 21 ไอโซเลต แบ่งเป็นจากดินจำนวน 16 ไอโซเลต จากเปลือกลำต้นและผลที่เป็นโรคจำนวน 5 ไอโซเลต เมื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนใบทุเรียนที่ปราศจากโรคและแมลงเข้าทำลาย พบว่ามีเชื้อราจำนวน 9 ไอโซเลตที่สามารถทำให้เกิดโรคบนใบทุเรียนจากการปลูกเชื้อได้ จากการจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคโดยวิธีทางสัณฐานวิทยาและอนุชีวโมเลกุล โดยการวิเคราะห์ลำดับเบสดีเอ็นเอในส่วน ITS-nrDNA Region สามารถจำแนกเชื้อราและสิ่งมีชีวิตคล้ายราได้ 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Phytophthora palmivora*, เชื้อ *Pythium splendens*, เชื้อรา *Fusarium solani*, และเชื้อรา *Mortierella chlamydospora*

คำสำคัญ: โรครากเน่าโคนเน่า, ทุเรียน, *Phytophthora palmivora*, *Fusarium solani*, *Mortierella chlamydospora*, *Pythium splendens*

Abstract

This study aimed to isolate and identify the pathogens responsible for root and stem rot disease in durian trees within the rhizosphere zone. Samples were collected from trees exhibiting symptoms of root and stem rot, as well as from affected fruits and stem barks in growing area of the lower northern region, specifically Uttaradit and Sukhothai provinces. Morphological and molecular methods were employed to identify the causative agent of durian root and stem rot. A total of 21 fungal isolates were obtained using baiting and tissue transplanting techniques, comprising 16 isolates from soil and 5 isolates from infected stem barks and fruits. Upon inoculation onto healthy durian leaves, 9 fungal isolates demonstrated pathogenicity. Through morphological characterization and analysis of the ITS-nrDNA Region, four species of the fungi and organisms resembling fungi were identified as *Phytophthora palmivora*, *Pythium splendens*, *Fusarium solani* and *Mortierella chlamydospora*

Keywords: Root and stem rot disease, Durian, *Phytophthora palmivora*, *Fusarium solani*, *Mortierella chlamydospora*, *Pythium splendens*

¹ อาจารย์, หลักสูตรชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ 53000

² ผู้ช่วยวิจัย, หลักสูตรชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ 53000

³ อาจารย์, คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ 53000

⁴ อาจารย์, หลักสูตรเทคโนโลยีสำรวจและภูมิสารสนเทศ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ 53000

¹ Lecturer, Program of Biology, Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University, Mueang District, Uttaradit Province, 53000

² Research assistant, Program of Biology, Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University, Mueang District, Uttaradit Province, 53000

³ Lecturer, Faculty of Agriculture, Uttaradit Rajabhat University, Mueang District, Uttaradit Province, 53000

⁴ Program in Survey Technology and Geo-Informatics, Faculty of Industrial Technology, Uttaradit Rajabhat University, Uttaradit Province, 53000

* Corresponding author. E-mail: wanwisa.pir@uru.ac.th

บทนำ

ทุเรียนเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจภาคการเกษตรของประเทศไทย โดยในช่วงปี พ.ศ. 2560-2564 พบว่า ปริมาณและมูลค่าการส่งออกทุเรียนและผลิตภัณฑ์ของไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2560 ที่มีปริมาณ 505,425.89 ตัน คิดเป็นมูลค่า 24,942.95 ล้านบาท เพิ่มขึ้นเป็น 925,855.22 ตัน คิดเป็นมูลค่า 119,159.96 ล้านบาท (ส่วนนโยบายและแผนพัฒนาระบบโลจิสติกส์ด้านเกษตร, 2565) ในประเทศไทยมีการปลูกทุเรียนทุกภาค ในเชิงการค้าจะอยู่ภาคตะวันออก ได้แก่ จันทบุรี ระยอง ตราด ภาคใต้ ได้แก่ ชุมพร นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และยะลา ภาคเหนือ ได้แก่ อุดรดิตถ์ ภาคตะวันออก ได้แก่ ศรีสะเกษ โดยมีพันธุ์ที่นิยมปลูก คือ หมอนทอง กระดุมทอง ชะนี พวงมณี และก้านยาว (สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช, 2562) ในจังหวัดอุดรดิตถ์และสุโขทัยนั้น สายพันธุ์ทุเรียนที่นิยมปลูกหลักๆ คือพันธุ์หมอนทอง พันธุ์หลงลับแล และพันธุ์หลินลับแล ปัญหาที่สำคัญในการผลิตทุเรียน คือ โรคและแมลง โดยโรคที่พบการระบาดในทุเรียนได้แก่ โรครากเน่าโคนเน่า โรค ราสีชมพู โรคใบติด โรคใบไหม้หรือใบจุด โรคผลเน่า โรคราดำ โรคราแป้ง โรคใบจุดสนิม โรคแอนแทรคโนส โรคดอกและผลร่วง และโรคฟิวซาริอัม (สำนักงานเกษตรจังหวัดชุมพร, 2564)

โรครากเน่าและโคนเน่าจัดเป็นโรคที่สำคัญของทุเรียน เกิดจากเชื้อราเจริญเข้าไปทำลายทุเรียน หากทำลายที่รากฝอย ปลายยอดและใบแห้ง ถ้าทำลายที่รากใหญ่ ใบหมองซีดแสดงอาการทั้งต้น ใบหลุดร่วงจากกิ่ง เมื่อเชื้อราเจริญเข้าทำลายราก ทำใหัรากเน่าเป็นสีน้ำตาล เปลือกรากยุ่ยหลุดลอกง่าย เมื่อเชื้อเข้าทำลายลำต้น เกิดจุดน้ำน้ำ มีเมือกไหลเยิ้ม เปลือกลำต้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง ใบดำน เหลืองซีด ใบร่วงและยืนต้นตาย ถ้าเข้าทำลายผล จะทำให้ผลเน่า (ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จังหวัดสงขลา, 2562) โรครากเน่าโคนเน่าเป็นปัญหาในการผลิตทุเรียนตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน พบระบาดมากในสภาพแวดล้อมมีฝนตกชุกยาวนาน ความชื้นในอากาศสูง ส่งผลให้เกิดการระบาดรุนแรงและต้นทุเรียนตายเป็นจำนวนมาก (มัลลัพร เชื้อบัณฑิต และคณะ, 2554) โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนมีรายงานว่าเกิดจากเชื้อสาเหตุคือ *Phytophthora palmivora* (Chan & Lim, 1986) โดยเชื้อนี้สามารถเข้าทำลายผลทุเรียน ทำให้เกิดโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวได้ด้วย (ปัญจมา กวางดี และสมศิริ แสงโชติ, 2545) Santoso *et al.* (2015) รายงานว่าเชื้อ *Phytophthora* และ *Pythium* เป็นเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่ากับต้นทุเรียนในประเทศอินโดนีเซีย จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการวิเคราะห์ลำดับเบสในส่วน ITS-nrDNA พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้ มีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *Py. cucurbitacearum*, *Py. vexans*, *Pythium*

sp. Py. deliense, *P. cinnamomic* var. *parvispora* และ *P. palmivora* ในประเทศไทย Suksiri *et al.*, 2018 ได้ศึกษาเชื้อสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าของต้นทุเรียนพันธุ์หมอนทองในจังหวัดชุมพร โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการวิเคราะห์ลำดับเบสในส่วน ITS-nrDNA เช่นกัน โดยเชื้อราสาเหตุโรคที่พบ คือ *P. palmivora*, *Py. cucurbitacearum*, *Py. deliense*, *Py. splendens*, *Mortierella chlamydospora*, *M. capitata* และเชื้อ *Mortierella* sp. ซึ่งเชื้อทั้งหมดสามารถแยกได้จากดินในสวนทุเรียนที่มีการเข้าทำลายของโรครากเน่าโคนเน่า นอกจากนี้เชื้อรา *Py. vexans* มีรายงานว่า เป็นเชื้อสาเหตุโรครากเน่าของทุเรียน ซึ่งพบได้ในดินรอบโคนต้นทุเรียนในเขตจังหวัดศรีสะเกษ (กนกพร จัทรไชยศิริ และคณะ, 2561) เชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิดมีการสะสมอยู่ในดิน ในรายงานของ Moura *et al.*, 2022 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่พบสะสมในดินและสามารถแพร่ระบาดทำให้เกิดโรคได้ในพืช ได้แก่ *Fusarium*, *Macrophomina*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Meloidogyne*, *Heterodera* และ *Pratylenchus*

ในการนี้การศึกษาถึงเชื้อสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าในสวนทุเรียน เขตภาคเหนือตอนล่าง ได้แก่ จังหวัดอุดรดิตถ์ และสุโขทัยจึงถือว่ามีความสำคัญ เนื่องจากเป็นพื้นที่ปลูกที่มีความสำคัญในเชิงการค้า และด้านเศรษฐกิจ (สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช, 2562) จากรายงานของ Santoso *et al.* (2015) และ Suksiri *et al.* (2018) พบว่าเชื้อ *Phytophthora* spp. และ *Pythium* spp. เป็นเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในหลายๆ พื้นที่ แต่ยังไม่มีการศึกษาวิจัยถึงเชื้อสาเหตุโรคที่แท้จริงในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างนี้ ซึ่งข้อมูลนี้สามารถช่วยเหลือนักวิชาการและเกษตรกรในด้านการควบคุมโรคจากเชื้อสาเหตุที่แท้จริงได้ ดังนั้น งานวิจัยชิ้นนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะทราบถึงเชื้อสาเหตุโรคที่ทำให้เกิดการระบาดในพื้นที่ปลูกทุเรียน และสะสมในดินในเขตภาคเหนือตอนล่าง และนำไปสู่การป้องกันกำจัดโรคอย่างถูกวิธีต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

เก็บตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าในสวนทุเรียนของเกษตรกรผู้ปลูกทุเรียนพันธุ์หมอนทอง พันธุ์หมอนพระร่วง และพันธุ์ หลงลับแล จำนวน 5 พื้นที่ ได้แก่ พื้นที่ที่ 1 ตำบลหัวดง อำเภอลับแล จังหวัดอุดรดิตถ์ พื้นที่ที่ 2 ตำบลหนองกะท้าว อำเภอนครไทย จังหวัดพิษณุโลก พื้นที่ที่ 3 ตำบลบ้านดึก อำเภอศรีษะพนาลัย จังหวัดสุโขทัย พื้นที่ที่ 4 ตำบลด่านนาขาม อำเภอเมือง จังหวัดอุดรดิตถ์ และพื้นที่ที่ 5 ตำบลห้วยไร่ อำเภอด่านซ้าย จังหวัดแพร่ ในปี พ.ศ. 2565 ช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคม เก็บตัวอย่างดินบริเวณใต้ทรงพุ่ม

ของต้นทุเรียนที่แสดงอาการของโรครากเน่าโคนเน่าในบริเวณห่างจากโคนต้นไม่เกิน 30 เซนติเมตร โดยจะเก็บดินที่ระดับผิวดินจนถึงระดับความลึก 10-15 เซนติเมตร ได้ตัวอย่างดินทั้งหมด 12 ตัวอย่าง นำตัวอย่างดินที่เก็บได้ไปทำการแยกเชื้อโดยวิธี Baiting Technique (Suksiri *et al.*, 2018) โดยนำตัวอย่างดินปริมาตร 10 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อแล้วปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วใส่ตัวอย่างใบทุเรียนขนาด 5 x 5 ตารางมิลลิเมตร (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที) แช่ในสารละลายดินนาน 24 ชั่วโมง แล้วนำใบทุเรียนล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ จากนั้นวางบนอาหาร Water Agar (WA) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เมื่อมีเส้นใยเชื้อราเจริญจากตัวอย่างใบทุเรียน จึงตัดปลายเส้นใยมาวางบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

ในส่วน of ตัวอย่างพืชนั้น ทำการเก็บส่วนเปลือก ลำต้นบริเวณลำต้นทุเรียนที่แสดงอาการผิวกิ่งมีลักษณะเปื่อยยุ่ย เป็นปื้นสีน้ำตาลเข้ม เปลือกอ่อนง่าย จากต้นทุเรียนพันธุ์หมอนทอง อายุ 13 ปี จำนวน 1 ตัวอย่าง พันธุ์หมอนพระร่วง อายุ 10 ปี จำนวน 1 ตัวอย่าง และพันธุ์หลงลับแล อายุ 8 ปี จำนวน 2 ตัวอย่าง และจากผลทุเรียนพันธุ์หมอนทองที่แสดงอาการของโรคผลเน่า จำนวน 1 ตัวอย่าง ทำการศึกษาอาการของโรคที่พบ การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าจากส่วนเปลือกลำต้นที่เป็นโรค ด้วยวิธี Tissue Transplanting (วันวิสาข์ พิระภาค และคณะ, 2566) โดยใช้มีดขูดลอกผิวเปลือกทุเรียนภายนอกบริเวณที่เป็นโรคออก จากนั้นใช้มีดผ่าตัดฆ่าเชื้อแล้วตัดเนื้อเยื่อบริเวณที่เชื่อมระหว่างเนื้อเยื่อปกติและบริเวณที่เป็นโรค ขนาดประมาณ 5 x 5 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที คีบชิ้นเนื้อเยื่อวางลงบนอาหาร Water Agar (WA) บ่มไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจดูเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ เมื่อพบการเจริญของเส้นใยเชื้อราออกมาจากเนื้อเยื่อ จึงแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Hyphal Tip Isolation โดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

กำหนดรหัสของเชื้อราที่แยกได้จากดินและส่วนของต้นและผลทุเรียนที่แสดงอาการของโรค เช่น RT1 หรือ RS1 โดย RT คือ ไอโซเลทของเชื้อราที่แยกจากส่วนเปลือกลำต้น และรากที่แสดงอาการของโรค และ RS คือไอโซเลทของเชื้อราที่แยกจากตัวอย่างดินที่เก็บได้ต้นที่เกิดโรค และตัวเลข คือ ลำดับไอโซเลทของเชื้อราที่แยกได้ตามลำดับ จากนั้นนำเชื้อราที่แยกได้ไปทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคต่อไป

2. การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา

การทดสอบการเกิดโรคบนใบด้วยวิธี detached leaf (Suksiri *et al.*, 2018 ; วันวิสาข์ พิระภาค และคณะ, 2566) บนใบทุเรียนพันธุ์หมอนทอง อายุ 5 ปี โดยการเลี้ยงเชื้อราแต่ละไอโซเลทบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ Cork Borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของแต่ละไอโซเลท แล้วย้ายเชื้อราวางลงบนใบทุเรียนระยะโตเต็มที่ ทำการปลูกเชื้อ 4 จุดบนใบในแต่ละจุดทำผลโดยใช้เข็มที่ฆ่าเชื้อแล้วทิ่มลงบนใบ จำนวน 3 ผลต่อจุด โดยจุดที่ 1-3 นำเชื้อราแต่ละไอโซเลทมาวางบนแผ่น จุดที่ 4 เป็นชุดควบคุมโดยใช้ชิ้นไม้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ) จากนั้นนำไปบ่มในกล่อง Moist Chamber เป็นเวลา 7 วัน ตรวจสอบการเกิดโรค โดยสังเกตจากจุดแผลสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นที่บริเวณทดสอบ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลที่เกิดขึ้นเพื่อคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคต่อไป

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

นำเชื้อราที่พบว่ามีความสามารถในการก่อโรคด้วยวิธี detached leaf มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3-5 วัน บันทึกลักษณะโคโลนี ลักษณะเส้นใย การสร้างหรือไม่สร้างโครงสร้างสืบพันธุ์ อาทิเช่น สปอร์ (Spore) คอนิเดีย (Conidia) หรือสปอร์แรงเจียม (Sporangium) บรรยายลักษณะรูปร่างของเส้นใยและโครงสร้างสืบพันธุ์ที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Santoso *et al.*, 2015 ; Suksiri *et al.*, 2018)

4. การจำแนกชนิดของเชื้อราโดยการวิเคราะห์ลำดับเบสดีเอ็นเอในส่วน ITS-nrDNA

การสกัดดีเอ็นเอประยุกต์วิธี CTAB protocol จากวิธีการของ Doyle and Doyle (1990) โดยนำเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคไอโซเลทต่างๆ ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 6 วัน บดด้วยไนโตรเจนเหลว นำเส้นใยที่บดละเอียดประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 2 มิลลิลิตร และเติม β -mercaptoethanol ปริมาตร 2 ไมโครลิตร และบัฟเฟอร์ 2x CTAB ปริมาตร 700 ไมโครลิตร นำหลอดไปต้มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่นละลายคลอโรฟอร์ม: แอลกอฮอล์ ไอโซเอมิล (อัตราส่วน 24:1, ปริมาตร/ปริมาตร) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบ ต่อนาที นาน 3 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ในบริเวณ ITS-nrDNA โดยใช้ไพรเมอร์ (Primer) คือ Forward ITS6 (5'-GAAGGTGAAGTCGTAACAA GG-3') และ Reverse ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTG-ATATGC-3') (Suksiri *et al.*, 2018 ; วันวิสาข์ พิระภาค และคณะ, 2566)

โดยมีปริมาตรทั้งหมด 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1x Taq buffer, dNTP 0.2 มิลลิโมลาร์, Primer ชนิดละ 0.2 ไมโครโมลาร์ และ Taq DNA polymerase 5 Unit กำหนดอุณหภูมิช่วง Denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ช่วง Annealing ที่ 48 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และช่วง Extension ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 35 รอบ และที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที PCR product ที่ได้นำมาทำให้บริสุทธิ์ โดยใช้ PCR Purification Test Kit (Macherey-Nagel, Duren, Germany) และส่งไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่บริษัท Macrogen ประเทศเกาหลี เปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในบริเวณ ITS-nrDNA ที่ได้จากฐานข้อมูลที่มีรายงานใน GenBank ที่อยู่บนเว็บไซต์ของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) โดยใช้โปรแกรม Blastn เพื่อจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน สร้าง Phylogenetic Tree โดยใช้โปรแกรม MEGA11 โดยวิธี Neighbor-Joining และ Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ

ผลการวิจัย

1. ลักษณะอาการที่พบและการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

ลำต้นทุเรียนที่พบในการสำรวจแสดงอาการใบเหลือง ใบอ่อนแสดงอาการเหี่ยว เหลือง ผลมีลักษณะน้ำน้ำ เส้นใบมีสีน้ำตาลดำ เชื้อเข้าทำลายลำต้น เกิดจุดน้ำน้ำ มีเมือกไหลเยิ้ม ผิวเปลือกของกิ่งมีเปลือกลำต้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงมีลักษณะเปื่อยยุ่ย ผลลูกกลมจนรอบโคนต้น (Figure 1A) จะทำให้ทุเรียนใบร่วง ในกรณีของผลมีอาการดังนี้ เกิดจุดแผลขนาดเล็กสีน้ำตาลดำ เมื่อแผลลามจะทำให้เกิดอาการผลเน่า (Figure 1B) ถ้าอาการรุนแรงมากผลจะเน่าร่วงหล่นก่อนกำหนด รากมีอาการเน่าจะลามไปยังรากแขนงและโคนต้น ทำให้ต้นทุเรียนโทรมและยืนต้นตาย



Figure 1 Symptoms of root and stem rot disease on durian trunk (A) and fruit rot (B).

เมื่อทำการแยกเชื้อจากตัวอย่างดินทั้งหมด 12 ตัวอย่าง และตัวอย่างพืชทั้งหมด 5 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 21 ไอโซเลตแบ่งเป็นจากตัวอย่างดิน 16 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลต RS1-RS16 และจากตัวอย่างพืช 5 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลต RT1-RT5

2. การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา

จากการปลูกเชื้อทดสอบลงบนใบทุเรียน หลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบว่ามีจำนวน 9 ไอโซเลตที่สามารถก่อให้เกิดโรคบนใบทุเรียนได้ ได้แก่ ไอโซเลต RS1, RS2, RS9, RS15, RT1, RT2, RT3, RT4 และ RT5 (Table 1) โดยใบทุเรียนที่ถูกปลูกเชื้อ แสดงอาการจุดน้ำน้ำในระยะแรก

ต่อมาเนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงดำ มีอาการตายของเนื้อเยื่อ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลประมาณ 7-17 มิลลิเมตร (Figure 2) เชื้อราที่แสดงความสามารถในการ

ก่อโรคทั้ง 9 ไอโซเลตนี้ จะถูกนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและวิเคราะห์ลำดับเบสดีเอ็นเอในส่วน ITS-nrDNA ต่อไป

Table 1 Fungal isolate names and lesion sizes (mm) after inoculation and incubation for 7 days.

isolate	average lesion sizes (mm $\pm$ SD) ¹	isolate	average lesion sizes (mm $\pm$ SD)	isolate	average lesion sizes (mm $\pm$ SD)
RS1	13.20 $\pm$ 1.25	RS8	-	RS15	12.25 $\pm$ 2.75
RS2	17.05 $\pm$ 2.25	RS9	11.75 $\pm$ 2.45	RS16	-
RS3	-	RS10	-	RT1	18.75 $\pm$ 2.05
RS4	-	RS11	-	RT2	7.45 $\pm$ 1.25
RS5	-	RS12	-	RT3	11.05 $\pm$ 2.45
RS6	-	RS13	-	RT4	18.15 $\pm$ 2.25
RS7	-	RS14	-	RT5	11.15 $\pm$ 2.75

¹(-) indicated no lesion.



Figure 2 Lesion appearance after 7 days of inoculation of isolates RT1, RS16, RT2 and agar (control).

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

เมื่อทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7-14 วัน สามารถจำแนกเชื้อออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไอโซเลต RT1 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ มีเส้นใยเจริญพบนอาหาร โคลนีสีขาว เส้นใยไม่มีผนังกัน ไม่พบการสร้าง สปอร์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Figure 3A)

กลุ่มที่ 2 ไอโซเลต RS1, RS2 และ RS15 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ มีลักษณะโคลนีสั้น เส้นใยเจริญพบนอาหาร

โคลนีสีสีขาว เมื่อเส้นใยแก่มีสีส้ม เส้นใยแบบมีผนังกัน บาง ไอโซเลตพบทั้ง Macroconidia รูปพระจันทร์เสี้ยว ไม่มีสี มี 2-4 เซลล์ และมีการสร้าง Microconidia รูปไข่ กลมมีถึงทรงกระบอก สปอร์ไม่มีสี และมี 1-2 เซลล์ จำแนกได้เป็นเชื้อ *Fusarium* sp. (Figure 3B, 3E and 3F)

กลุ่มที่ 3 ไอโซเลต RS9, RT2 และ RT4 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ มีลักษณะโคลนีสั้น เส้นใยเจริญพบนอาหาร และมีเมือกเยิ้มบนโคลนีสั้น เส้นใยไม่มีผนังกัน มีการสร้างสปอร์แรงเจียมทรงกลม ภายในบรรจุออสสปอร์ (Zoospore) เคลื่อนที่ได้ จำแนกได้เป็นเชื้อ *Pythium* sp. (Figure 3C and 3G)

กลุ่มที่ 4 ไอโซเลต RT3 และ RT5 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ มีลักษณะโคลนีสั้น เส้นใยและสปอร์ ดังนั้นเส้นใยเจริญพบนอาหาร โคลนีสีขาว เส้นใยมีผนังกัน มีสปอร์ทรงกลม สปอร์ไม่มีสีและมีเซลล์เดียว ผนังสปอร์หนาและผิวสปอร์เป็นหนาม จำแนกได้เป็นเชื้อ *Mortierella* sp. (Figure 3D and 3H)

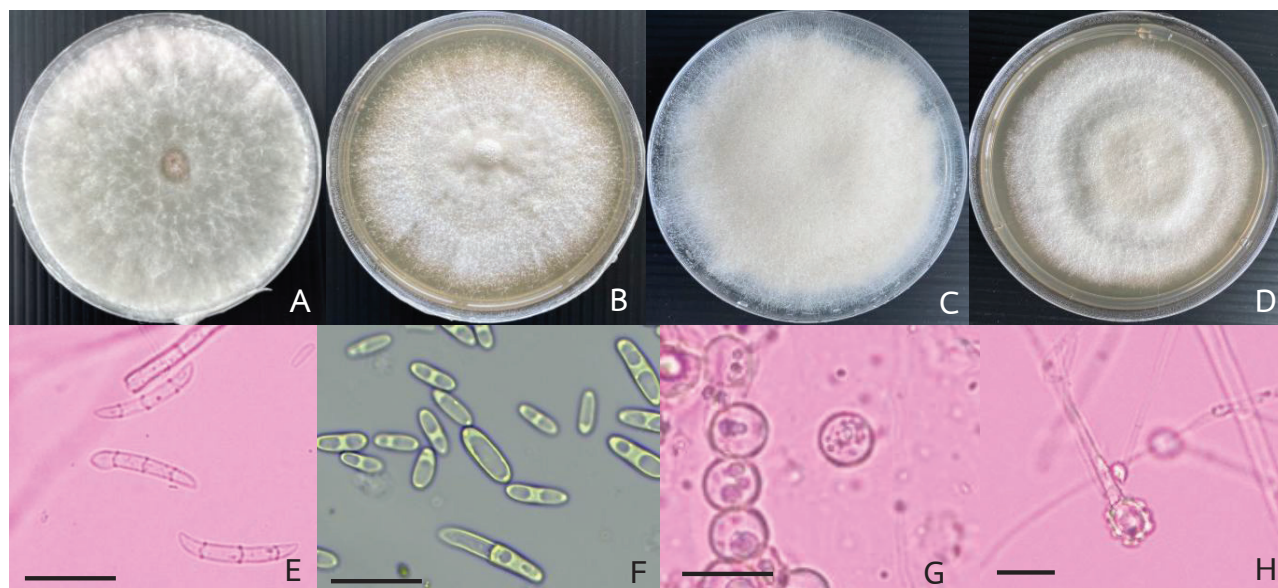


Figure 3 Morphological characteristic of isolate RT1, RS15, RT2 and RT5 colony (A, B, C and D, respectively) after 5 days of inoculation. Macroconidia (E) and microconidia (F) of RT1, Sporangium contains zoospore (G) of RT2 and thick-walled sporangium (H) of RT5 observed under compound microscope. (Scale bar = 10 μ m)

4. การจำแนกชนิดของเชื้อราโดยการวิเคราะห์ลำดับเบส ดีเอ็นเอในส่วน ITS-nrDNA

ในการวิเคราะห์ลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ ITS-nrDNA region ของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียนไอโซเลตต่างๆ (Table 2, Figure 4, 5 และ 6) พบว่าไอโซเลต RT1 บ่งชี้ได้เป็นเชื้อรา *Phytophthora palmivora* โดยจาก Phylogenetic tree เชื้อรากลุ่มที่ 1 ไอโซเลต RT1 มีความใกล้เคียงกับเชื้อ *P. palmivora* OP765505 มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือน (% identity) เท่ากับ 99 เปอร์เซ็นต์ (Figure 4) เชื้อรากลุ่มที่ 2 ไอโซเลต RS1, RS2 และ RS15 สามารถบ่งชี้ได้เป็นเชื้อรา *Fusarium solani* โดยมีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *F. solani* MN637863 ที่ 99 เปอร์เซ็นต์ (Figure 5) เชื้อรากลุ่มที่ 3 ไอโซเลต RS9, RT2 และ RT4 สามารถบ่งชี้ได้เป็นเชื้อรา *Pythium splendens* โดยมีความใกล้เคียงกับ *Py. splendens* AB780581 ที่ 98 เปอร์เซ็นต์ (Figure 4) ส่วนเชื้อรากลุ่มที่ 4 ไอโซเลต RT3 และ RT5 สามารถบ่งชี้ได้เป็นเชื้อรา *Mortierella chlamydospora* โดยมีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *M. chlamydospora* OL620104 ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ (Figure 6)

อภิปรายผล

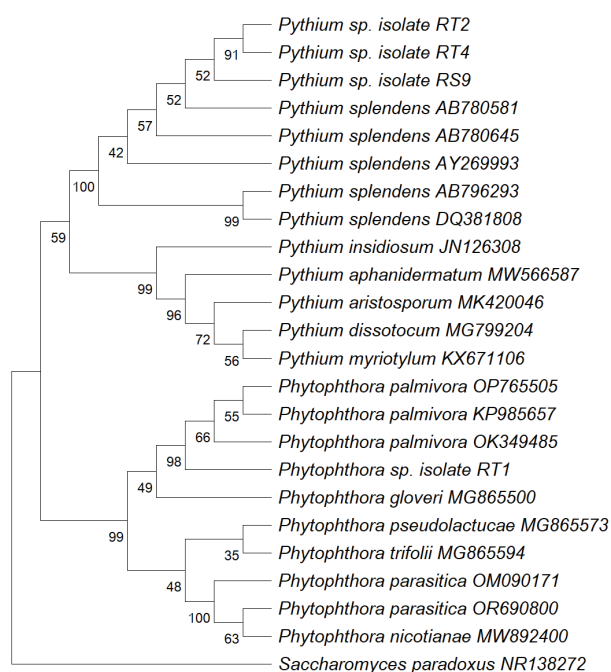
โรคในทุเรียนเป็นปัญหาใหญ่ที่ทำให้ผลผลิตของทุเรียนลดลง บางชนิดทำให้ผลผลิตเสียหายจนไม่สามารถขายหรือส่งออกไปยังต่างประเทศได้ (สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช, 2562) โรครากเน่าและโคนเน่าจัดเป็นโรคที่สำคัญ ทำให้ทุเรียนแสดงอาการในหลายๆ ส่วนของต้น ได้แก่ ปลายยอดแห้ง ใบหลุดร่วงจากกิ่ง รากเน่าเป็นสีน้ำตาล เปลือกรากยุ่ยหลุดลอกง่าย เกิดจุดฉ่ำน้ำ มีเมือกไหลเยิ้มที่ลำต้น นอกจากนี้ยังแสดงอาการผลเน่าด้วย (ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จังหวัดสงขลา, 2562) ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าจากดิน และส่วนของพืชที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจากสวนทุเรียนจังหวัดอุดรดิตถ์ จังหวัดสุโขทัย จังหวัดพิษณุโลก และจังหวัดแพร่ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะโคโลนี เส้นใยและการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์ และอนุชีวโมเลกุล ได้แก่ การวิเคราะห์ลำดับเบสดีเอ็นเอในส่วน ITS-nrDNA พบเชื้อสาเหตุโรค และเชื้อราในดิน จำนวน 4 ชนิด ได้แก่เชื้อ *Phytophthora palmivora* เชื้อ *Pythium splendens* เชื้อรา *Fusarium solani* และเชื้อรา *Mortierella chlamydospora*

Table 2 DNA sequence analysis of the ITS-nrDNA region of the fungus isolates from durian and soil from the lower northern region of Thailand.

isolate	specimen	place	accession number	identification		
				Molecular	accession number	% identity
RT1	trunk bark	Nakhon Thai District, Phitsanulok Province	PP267701	<i>Phytophthora palmivora</i>	OP765505	99
RS1	soil	Nakhon Thai District, Phitsanulok Province	PP267711	<i>Fusarium solani</i>	MN637863	99
RS2	soil	Mueang District, Uttaradit Province	PP267702	<i>Fusarium solani</i>	MN637863	99
RS15	soil	Mueang District, Uttaradit Province	PP267705	<i>Fusarium solani</i>	MN637863	99
RS9	soil	Den Chai District, Phrae Province	PP267710	<i>Pythium splendens</i>	AB780581	98
RT2	fruit	Laplae District, Uttaradit Province	PP267712	<i>Pythium splendens</i>	AB780581	98
RT4	trunk bark	Si Satchanalai District Sukhothai Province	PP267713	<i>Pythium splendens</i>	AB780581	98
RT3	trunk bark	Den Chai District, Phrae Province	PP267714	<i>Mortierella chlamydospora</i>	OL620104	100
RT5	trunk bark	Laplae District, Uttaradit Province	PP267715	<i>Mortierella chlamydospora</i>	OL620104	100

โดยเชื้อ *Fusarium solani* และ *Pythium splendens* สามารถแยกเชื้อได้จากดินในส่วนที่มีการระบาดของโรค ซึ่งให้เห็นว่าเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถอาศัยอยู่ในดินได้ นอกจากนั้น *Phytophthora palmivora* และ *Mortierella chlamydospora* ก็สามารถอาศัยอยู่ในดินได้เช่นกัน โดยในการศึกษาของ Santoso *et al.* (2015) รายงานว่าเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าที่พบในประเทศอินโดนีเซีย ได้แก่ เชื้อในกลุ่ม *Phytophthora* และ *Pythium* นั้นสามารถอาศัยอยู่ในดินได้เป็นระยะเวลานาน Sodikov *et al.* (2022) รายงานว่าเชื้อสาเหตุโรคในต้นทานตะวันคือ เชื้อราในสกุล *Fusarium*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahlia*, *Rhizoctonia solani* และเชื้อ *Pythium* spp. สามารถแพร่ระบาดและสะสมในดิน และเข้าทำลายพืชปลูกทางระบบรากก่อนส่วนอื่นๆ ในงานวิจัยของ Ozimek and Hanaka (2021) พบว่า เชื้อ *Mortierella* sp. พบโดยทั่วไปในดินทางการเกษตร และสามารถช่วยกระตุ้นการเจริญของพืชได้

ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อที่แยกได้ และมีความสามารถในการก่อโรคนั้น งานวิจัยนี้ได้ศึกษาในด้านลักษณะของโคโลนี การมีหรือไม่มีผนังกันของเส้นใย และการสร้างสปอร์ พบว่าลักษณะโคโลนีของ *Phytophthora*, *Pythium* และ *Mortierella* มีความคล้ายคลึงกัน

**Figure 4** Phylogenetic tree obtained from the analyses of ITS-nrDNA sequence data, representing the identification of *Pythium* sp. Isolate RT2, RT4 and RS9 as *Pythium splendens* and *Phytophthora* sp. isolate RT1 as *Phytophthora palmivora*, the numbers above the nodes are the percentage of the trees from bootstrap analysis.

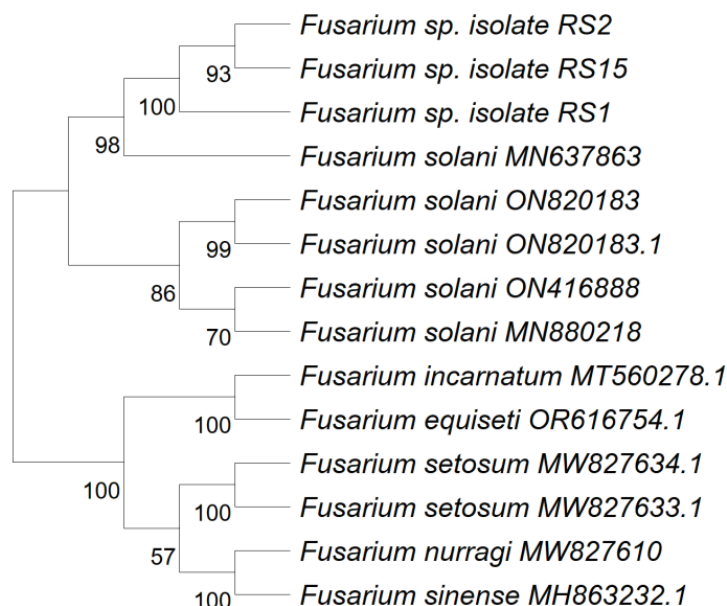


Figure 5 Neighbor-Joining phylogenetic tree obtained from the analyses of ITS-nrDNA sequence data, representing the identification of *Fusarium* sp. isolate RS1, RS2 and RS15 as *Fusarium solani*, the numbers above the nodes are the percentage of the trees from bootstrap analysis.

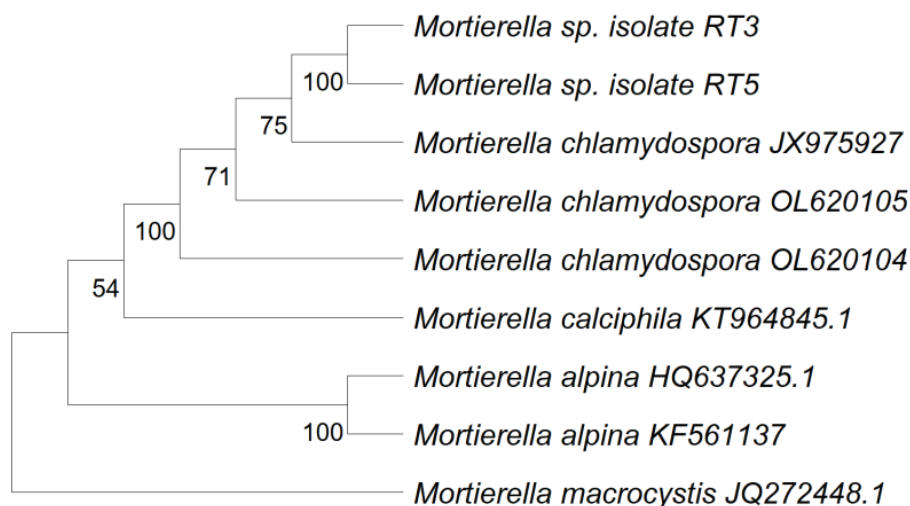


Figure 6 Neighbor-Joining phylogenetic tree obtained from the analyses of ITS-nrDNA sequence data, representing the identification of *Mortierella* sp. isolate RT3 and RT5 as *Mortierella chlamydospora*, the numbers above the nodes are the percentage of the trees from bootstrap analysis.

ในบางไอโซเลทไม่พบการสร้างสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งให้เห็นว่าการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาอย่างเดียวไม่เพียงพอในการจัดจำแนกเชื้อรา เหมือนกับในรายงานของ Suksiri *et al.* (2018) พบว่า ลักษณะโคโลนีของเชื้อราสกุล *Mortierella* คล้ายกับของเชื้อราสกุล *Pythium* และมีการสร้าง Zygosporangium คล้ายกับ Oosporangium ของเชื้อ *Pythium* ส่วนเชื้อ *Pythium* sp. นั้นมีการสร้าง sporangium ผ่องบางไม่มี papilla ภายใต้มือ Zoosporangium คล้ายกับเชื้อ *Phytophthora*

บางสายพันธุ์ แต่ในงานวิจัยนี้ไม่พบการสร้าง Sporangium ใน *P. palmivora* ไอโซเลท RT1 อาจต้องใช้วิธีการอื่นในการกระตุ้นให้เชื้อมีการสร้างสปอร์ ในเชื้อราไอโซเลทอื่นๆ สามารถที่สร้างสปอร์ และสามารถบ่งชี้ชนิดในระดับสกุลได้ ส่วนการจำแนกชนิดต้องใช้การวิเคราะห์ลำดับเบสดีเอ็นเอในส่วน ITS-nrDNA มาช่วยในการจำแนกเชื้อ เนื่องจากทำได้อย่างรวดเร็วและเป็นวิธีการที่น่าเชื่อถือ

ในงานวิจัยนี้พบว่าเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน และเชื้อราที่พบในดินในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย สามารถจำแนกได้ 4 ชนิดได้แก่ เชื้อ *P. palmivora*, *F. solani*, *Py. splendens* และ *M. chlamydospora* โดยเชื้อ *Py. splendens* สามารถพบได้ทั้งในดิน บนผล และเปลือกลำต้นที่แสดงอาการของโรค ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าเชื้อที่อยู่ในดินสามารถเข้าทำลายราก และลามไปยังส่วนต่างๆ ของต้นทุเรียนได้ สอดคล้องกับที่เคยมีรายงานในพื้นที่ปลูกทุเรียนในจังหวัดชุมพร โดย Suksiri *et al.* (2018) ได้รายงานว่า เชื้อที่แยกได้จากดินในสวนทุเรียน ได้แก่ *P. palmivora*, *Py. cucurbitacearum*, *Py. deliense*, *Py. splendens*, *M. chlamydospora*, *M. capitata* และ *Mortierella* sp. โดยเชื้อ *P. Palmivora* และ *P. cucurbitacearum* ทำให้เกิดโรคบนใบทุเรียนที่ใช้ทดสอบรุนแรงที่สุด นอกจากนี้ *Py. splendens* ทำให้เกิดแผลบนใบของทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ซึ่งใช้ในการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค ส่วน *P. deliense* และ เชื้อราในสกุล *Mortierella* ไม่เกี่ยวข้องกับโรคใบเน่าของทุเรียน ในงานวิจัยของ Chantarasiri and Boontanom (2021) พบว่าเชื้อรา *F. solani* และ *Lasiodiplodia pseudothobromae* เป็นเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายลำต้นของทุเรียนในภาคตะวันออกของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดระยองและจันทบุรี นอกจากนี้เชื้อ *F. solani* ยังเป็นเชื้อสาเหตุโรคกิ่งแห้งของทุเรียนด้วย (พัชริน บุญเรืองรอด และคณะ, 2564)

จากการทดลองทำให้ทราบว่าเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน และเชื้อราที่พบในดินในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย สามารถจำแนกได้ 4 ชนิดได้แก่ เชื้อ *P. palmivora*, *F. solani*, *Py. splendens* และ *M. chlamydospora* ซึ่งพบว่ามี 9 ไอโซเลท (จาก 21 ไอโซเลท) ที่สามารถทำให้เกิดอาการของโรคบนใบทุเรียนได้เมื่อปลูกเชื้อ จัดเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญและจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมในการพิสูจน์โรคและการควบคุมโรคในพื้นที่เพาะปลูกทุเรียนต่อไป

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า จากตัวอย่างดิน และส่วนของทุเรียนที่แสดงอาการของโรค ในเขตภาคเหนือตอนล่าง สามารถแยกเชื้อราจากดินจำนวน 16 ไอโซเลท จากส่วนของทุเรียนที่เป็นโรคจำนวน 5 ไอโซเลท มีจำนวน 9 ไอโซเลท ที่สามารถทำให้เกิดโรคบนใบทุเรียนจากการปลูกเชื้อได้ ในการจำแนกเชื้อโดยวิธีทางสัณฐานวิทยาและอนุชีวโมเลกุลโดยการวิเคราะห์ลำดับเบสดีเอ็นเอในส่วน ITS-nrDNA Region สามารถจำแนกเชื้อราและสิ่งมีชีวิตคล้ายราได้ 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Phytophthora palmivora*, เชื้อ *Pythium splendens*, เชื้อรา *Fusarium solani*, และเชื้อรา *Mortierella chlamydospora* จากการวิจัยนี้เป็นแนวทางให้เกษตรกรหาวิธีมาควบคุมโรคจากเชื้อข้างต้นได้อย่างถูกต้องต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ ภายใต้แผนงบประมาณกองทุนของสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ประจำปี 2565 ขอขอบคุณหลักสูตรชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ ที่ให้อาณูเคราะห์ห้องปฏิบัติการในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กนกพร ฉัตรไชยศิริ, รติยา พงศ์พิสุทธา, ชัยณรงค์ รัตนกริธา กุล และ สันธิติ บินคาเดอร์. (2561). เชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากเน่าของทุเรียน และประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุม. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 49(4) (พิเศษ), 171-174.
- ปัญจมา กวางดี และสมศิริ แสงโชติ. (2545). การจัดการโรคผลเน่าของทุเรียน (*Durio zibethinus* Murr.) ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 33(6) (พิเศษ), 45-48.
- พัชริน บุญเรืองรอด, รติยา พงศ์พิสุทธา, และ ชัยณรงค์ รัตนกริธา. (2564). ปัจจัยทางสรีรวิทยาต่อการเจริญของ *Fusarium solani* สาเหตุโรคกิ่งแห้งของทุเรียนและสารเคมีในการควบคุม. *เกษตร*, 49(6), 1375-1387. [https:// doi:10.14456/kaj.2021.122](https://doi.org/10.14456/kaj.2021.122)
- มัลลย์พร เชื้อบัณฑิต, ศิริพร วรกุลดำรงชัย, อภิรดี กอรัญไพบูลย์ และ วิชาญ ประเสริฐ. (2554). ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีและสารอินทรีย์ในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน. *รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มสิ้นสุดปี 2554 กรมวิชาการเกษตร*.
- วันวิสาข์ พิระภาค, พัชรชัย ปิ่นนาค และ ปิณณนา ฐานพงษ์วรกุล. (2566). การคัดแยก จำแนกและศึกษาคุณสมบัติของเชื้อ *Streptomyces* sp. SAURU59 ที่ใช้กำจัดเชื้อราก่อโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 28(3), 1981-1998.
- ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จังหวัดสงขลา. (2562). *การจัดการโรคและแมลงศัตรูทุเรียน*. สำนักงานส่งเสริมและพัฒนาเกษตรที่ 5 จังหวัดสงขลา กรมส่งเสริมการเกษตร.
- ส่วนนโยบายและแผนพัฒนาระบบโลจิสติกส์ด้านเกษตร. (2565). *โครงการศึกษารูปแบบการขนส่งทุเรียนสดจากประเทศไทยไปสาธารณรัฐประชาชนจีน*. กอลนโยบายและแผนพัฒนาการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.
- สำนักงานเกษตรจังหวัดชุมพร. (2564). *คู่มือการผลิตทุเรียนคุณภาพจังหวัดชุมพร*. กรมส่งเสริมการเกษตร.

สำนึกวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช. (2562). เอกสารวิชาการ
เรื่องโรคทุเรียน. กรมวิชาการเกษตร.

Chan, L. G., & Lim, T. K. (1986). Comparative in vitro sensitivity of selected chemicals on *Phytophthora palmivora* from cocoa and durian. *Pertanika*, 9(2), 183-191.

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 Report, 44, e12026. <https://doi.org/10.1002/ndr2.12026>

Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.

Moura, A. B., Backhouse, D., de Souza Júnior, I. T., Gomes, C. B. (2022). Soilborne Pathogens. In: Oliveira, T. S. d., Bell, R. W. (eds). *Subsoil Constraints for Crop Production*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-00317-2_9

Ozimek, E. ; Hanaka, A. (2021). *Mortierella* Species as the Plant Growth-Promoting Fungi Present in the Agricultural Soils. *Agriculture*, 11, 7. <https://dx.doi.org/10.3390/agriculture11010007>

Santoso, P. J., Aryantha, I. N. P., Pancoro, A., & Suhandono, S. (2015). Identification of *Pythium* and *Phytophthora* associated with durian (*Durio* sp.) in Indonesia: their molecular and morphological characteristics and distribution. *Asian Journal of Plant pathology*, 9(2), 59-71.

Sodikov, B., Khakimov, A., Rakhmonov, U., Omonlikov, A., Gulmatov, R., & Utaganov, S. (2022). Soil-borne plant pathogenic fungi biodiversity of sunflower. Sustainable Management of Earth Resources and Biodiversity. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1-8. <https://doi:10.1088/1755-315/1068/1/012018>

Suksiri, S., Laipasut, P., Soyong, K., & Poemai, S. (2018). Isolation and identification of *Phytophthora* sp. and *Pythium* sp. from durian orchard in Chumphon Province, Thailand. *International Journal of Agricultural Technology*, 14(3), 389-402.