การตอบสนองต่อสารคาร์เบนดาซิมของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Corynespora cassiicola* สาเหตุโรคใบจุดในยางพาราในสภาพห้องปฏิบัติการ

Response of carbendazim on *Colletotrichum gloeosporioides* and *Corynespora cassiicola*, causal agents of leaf spot diseases in rubber trees *in vitro*

นิศากร สุวรรณ [1]*

Nisakorn Suwan [1]*

Received : 15 May 2018 ; Accepted : 19 September 2018

บทคัดย่อ

การเก็บตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดนูนและใบจุดก้างปลาของยางพาราจากแปลงปลูกยางพาราในจังหวัดจันทบุรีและตราด สามารถแยกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Corynespora cassiicola* สาเหตุโรคได้จำนวนทั้งสิ้น 24 และ 12 ไอโซเลท และสามารถก่อโรคได้ทั้งสิ้น 15 และ 9 ไอโซเลท ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อราดังกล่าวมาทดสอบการตอบสนองต่อสารคาร์เบดาซิมบนอาหาร PDA ที่ผสมสารคาร์เบดาซิม (50%WP) ความเข้มข้นต่างกันคือ 100, 500 และ 1000 mg a.i./L พบว่าสารคาร์เบดาซิมทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. cassiicola* ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้เมื่อจัดระดับการตอบสนองต่อสารคาร์เบนดาซิม พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท DCG4-60S และ HCG 8/1 และเชื้อรา *C. cassiicola* ไอโซเลท HCC 1/1 มีระดับการตอบสนองต่อสารคาร์เบนดาซิมอยู่ในระดับ sensitive level (Car^S) และในขณะที่เชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. cassiicola* จำนวน 14 และ 8 ไอโซเลท ตามลำดับ มีระดับการตอบสนองต่อสารคาร์เบนดาซิมอยู่ในระดับ weakly resistant level (Car^{WR}) จากผลการศึกษาสามารถบ่งชี้ได้ว่าสารคาร์เบนดาซิมความเข้มข้นตามอัตราแนะนำในฉลาก (1000 mg a.i./L) สามารถนำไปใช้เพื่อควบคุมโรคใบจุดทั้งสองชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพในระดับห้องปฏิบัติการ และยังไม่พบการดื้อต่อสารสารคาร์เบนดาซิมระดับ highly resistant ในกลุ่มประชากรเชื้อราที่ศึกษา

คำสำคัญ : โรคใบจุดก้างปลา โรคใบจุดนูน ยางพารา *Colletotrichum gloeosporioides Corynespora cassiicola*

Abstract

The fungal pathogen of *Corynespora* leaf spot and *Colletotrichum* leaf spot disease from infected rubber leaves were obtained from rubber plantations in Chanthaburi and Trat provinces. Pathogenicity tests of these isolates were conducted, out of twenty-four and twelve isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Corynespora cassiicola* respectively fifteen and nine isolates were found to be pathogenic. *In vitro* responses of the fungi to carbendazim were performed in carbendazim (50%WP) amended potato dextrose agar of different concentration at 100, 500 and 1000 mg a.i./L. and mycelia growth of *C. gloeosporioides* and *C. cassiicola* were inhibited significantly ($p <0.05$) when compared to control at all levels of carbendazim. Also, the resistance of the fungi to carbendazim was evaluated and grouped into different phenotype reaction levels. The results showed that *C. gloeosporioides* isolates DCG4-60S and HCG 8/1 and *C. cassiicola* isolate HCC 1/1 were grouped as being sensitive to carbendazim (Car^S). Fourteen and eight isolates of *C. gloeosporioides* and *C. cassiicola* respectively were grouped into weakly resistant level to carbendazim (Car^{WR}). These results indicate that the recommended rate (1000 mg a.i./L) of carbendazim should be a

[1] *อาจารย์ สาขาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง อ.เมือง จ.ลำปาง 52100*

Department of Agriculture, Faculty of Agricultural Technology, Lampang Rajabhat University, Lampang, 52100

** Corresponding author: nisakorn.su@lpru.ac.th*

proper concentration for corynespora leaf spot and colletotrichum leaf spot disease control *in vitro* and there was no evidence of highly resistant level to carbendazim in these fungal populations.

Keywords: corynespora leaf spot disease, rubber tree, colletotrichum leaf spot disease, *Colletotrichum gloeosporioides, Corynespora cassiicola*

บทนำ

ยางพารา (*Hevea brasiliensis*) เป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยยางพาราประเภทยางดิบ ผลิตภัณฑ์ยาง และไม้ยางพารา สามารถทำรายได้การส่งออกเป็นอันดับสองของประเทศ ยางพาราจึงถือเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญสร้างรายได้ให้กับประเทศ สร้างอาชีพให้ประชาชนจำนวนมากทำให้มีรายได้เลี้ยงตนเอง ยางพาราสร้างรายได้เข้าประเทศสูงถึงปีละหลายแสนล้านบาท และในปัจจุบันยังคงมีการขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะในช่วง 7-10 ปีที่ผ่านมา[1] ยางพาราที่ส่งออกสู่ตลาดแบ่งออกเป็น 5 ประเภทใหญ่ ๆ ได้แก่ น้ำยางธรรมชาติ ยางแผ่นรมควัน ยางแท่ง ยางธรรมชาติ และยางอื่น ๆ เช่น ยางไม้ขาว ประเทศไทยส่งออกยางธรรมชาติเป็นอันดับหนึ่งของโลกมาตั้งแต่ปี 2534 โดยในปี 2559 ประเทศไทยส่งออกยางพาราธรรมชาติคิดเป็น 36.8% ของปริมาณผลผลิตยางธรรมชาติทั่วโลก มีมูลค่ารวมถึง 4.4 พันล้านเหรียญสหรัฐ หรือ 139,000 ล้านบาท[2] และในปี พ.ศ. 2560 มีการส่งออกยางธรรมชาติ รวมทั้งสิ้น 3,660,711.111 เมตริกตัน มีมูลค่าทั้งสิ้นประมาณ 204,769.26 ล้านบาท และจากข้อมูลล่าสุดในเดือนมกราคม-มีนาคม ปี พ.ศ. 2561 มีการส่งออกยางธรรมชาติรวมทั้งสิ้น 882,921.156 เมตริกตัน คิดเป็นมูลค่าทั้งสิ้นประมาณ 37,353.68 ล้านบาท[3] โดยมีตลาดส่งออกหลักอยู่ที่ประเทศจีน มาเลเซีย ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และเกาหลีใต้ ตามลำดับ[4]

พันธุ์ยางชั้น1 เป็นพันธุ์ยางที่ให้ผลผลิตน้ำยางสูงนิยมปลูกกันมากเช่น พันธุ์ RRIM 600, พันธุ์สถาบันวิจัยยาง 251, พันธุ์สถาบันวิจัยยาง 226 และ พันธุ์ BPM24 เป็นต้น[5] พันธุ์ยางเหล่านี้มักมีความอ่อนแอต่อโรคพืชหลายชนิด โดยโรคที่สำคัญ ได้แก่ โรคเส้นดำที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Phytophthora botryose* โรคราแป้งที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Oidium* sp. โรคใบจุดก้างปลาของยางพารา ซึ่งโรคใบจุดก้างปลาของยางพารา (Corynespora leaf spot disease) เป็นโรคที่สำคัญชนิดหนึ่งที่ทำความเสียหายให้แก่ต้นยางพาราในทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Corynespora cassiicola* เมื่อสปอร์ของเชื้อตกลงบนผิวพืชจะสร้าง mycelium เข้าไปเจริญอยู่ระหว่างเซลล์และสร้าง conidiophore ในชั้นของ epidermis ทั้งด้านบน และด้านล่างของใบพืช จึงสามารถพบส่วนขยายพันธุ์ (spore) ด้านบนและด้านใต้ใบในธรรมชาติ[6] ทำให้พืชแสดงอาการของโรคที่แผลจะลุกลามเข้าไปตามเส้นใบย่อย เนื้อเยื่อใบจะแห้งตายและมีสีซีด เห็นเป็นรูปลักษณะคล้ายก้างปลา ถ้าแผลขยายลุกลาม มีขนาดยาวและใหญ่เพิ่มขึ้น ทำให้ยอดกิ่งก้านและลำต้นแห้งตาย[7] เชื้อรา *C. cassiicola* สามารถแพร่ระบาดโดยลมและฝน ระบาดรุนแรงในสภาพอากาศร้อน โดยเฉพาะในระหว่างเดือนกรกฎาคม - กันยายน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ชะงักการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และไม่เจริญที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส[8]

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporiodes* สามารถทำลายยางพาราได้ทั้งในโรงเพาะกล้า และแปลงปลูก[9] โดยต้นอ่อนที่เป็นโรคนี้มักทำให้ใบร่วงและตายในที่สุด[10] และยังทำให้ปริมาณน้ำยางลดลง[11] ลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. gloeosporiodes* เริ่มขึ้นภายหลังที่สปอร์ตกลงบนพืช germ tube จะเริ่มงอกภายในเวลา 6 - 8 ชั่วโมง โดยสร้าง appressorium สีน้ำตาลเข้ม ภายในเวลา 10 -20 ชั่วโมง หลังจากนั้น appressorium จะสร้าง infection peg เพื่อแทงเข้าไปใน cuticle ของพืช เมื่อผ่านไป 48 ชั่วโมง โดย infection peg บางอันงอก primary hypha สั้น ๆ และจะหยุดการเจริญและแฝงตัวในระยะนี้ โดยไม่มีการเจริญต่อจนกว่าสภาพแวดล้อมเหมาะสมจึงแสดงอาการของโรค เรียกลักษณะการเข้าทำลายแบบนี้ว่าการติดเชื้อแฝง[12] อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส และหากมีความชื้นสูงร่วมด้วยในช่วงเวลาดังกล่าวก็จะทำให้การเข้าทำลายเกิดได้รวดเร็วและรุนแรงเพิ่มขึ้น[13]

การควบคุมโรคใบจุดทั้งสองประเภทนี้นิยมใช้สารเคมีชนิดดูดซึมโดยเฉพาะสารในกลุ่ม benzimidazole (benomyl/carbendazim) ซึ่งหากมีการใช้ในความเข้มข้นที่สูงเกินไปและใช้เพียงชนิดเดียวติดต่อกันนานหลายปีจะส่งผลทำให้เชื้อราเหล่านี้ไม่ตอบสนองต่อสารเคมีชนิดดังกล่าวหรือเรียกว่าเชื้อราเกิดการดื้อยาทำให้การควบคุมโรคล้มเหลว นอกจากนี้แล้วเชื้อรายังสามารถเกิดความต้านทานตรงข้าม (Cross–Resistance) ระหว่างกลุ่มของสารเคมีได้อีกด้วย[14] การใช้สารเคมีในระดับความเข้มข้นที่ไม่เหมาะสม คือสูงหรือต่ำเกินไปสามารถส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุได้เช่นกัน แต่ยังไม่มีรายงานการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมกับการ

ควบคุมโรคใบจุดก้างปลาและใบจุดนูน จึงทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะประเมินระดับความเข้มข้นของสารคาร์เบนดาซิมที่เหมาะสมในการควบคุมเชื้อรา *C. cassiicola* และเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคใบจุดก้างปลาและใบจุดนูนในยางพารา เพื่อใช้เป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโดยไม่ก่อให้เกิดการดื้อต่อสารกลุ่มนี้ในอนาคต

วิธีการศึกษา

การแยกและจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรค

นำใบยางพาราที่แสดงอาการของโรคใบจุดก้าง ปลา และใบจุดนูน จากพื้นที่ในเขตจังหวัดจันทบุรีและตราด มาทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคโดยการตัดชิ้นส่วนของใบยางที่เป็นโรคมาแช่ใน 10% Clorox ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 3 ครั้ง จากนั้นนำชิ้นพืชมาวางลงบนอาหาร water agar (WA) บ่มไว้ในที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน สังเกตการเจริญ ของเส้นใยเชื้อรา ย้ายเชื้อราที่เจริญออกมาจากแผลโดยใช้เข็มที่ปลายแหลมตัดปลายเส้นใยมาวางบนอาหาร WA อีกครั้งจนกว่าจะได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นใช้เข็มปลายแหลมตัดปลายเส้นใยของเชื้อรา จากอาหาร WA มาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคทำโดยตัดปลายเส้นใยของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากใบยางพาราข้างต้นด้วย cork borer ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร วางลงในอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นเขี่ยปลายเส้นใยมาย้อมด้วยสีย้อม lactophenol cotton blue (LPCB) แล้วนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา

นำเชื้อราที่แยกได้ข้างต้นมาปลูกเชื้อบนใบยางพาราปกติด้วยวิธี detached leaf technique โดยใช้ cork borer ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดปลายเส้นใยเชื้อรามาวางบนใบยางพาราที่ฆ่าเชื้อบริเวณผิวด้วย 70% เอทิลแอลกอฮอล์ บ่มใบยางที่ปลูกเชื้อแล้วใน moist chamber เปรียบเทียบกับชุดความคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ บันทึกผลจากลักษณะของแผลที่เกิดขึ้น ทำการทดลอง 4 ซ้ำ เพื่อคัดเลือกเชื้อราที่สามารถก่อโรคได้ใช้ในการทดลองถัดไป

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อรา

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Experimental Design: CRD) ประกอบด้วย 4 กรรมวิธีทดลอง ได้แก่ (1) ความเข้มข้น 0 mg/L (ชุดควบคุม), (2) ความเข้มข้น 100 mg/L, (3) ความเข้มข้น 500 mg/L และ (4) ความเข้มข้น 1,000 mg/L (อัตราแนะนำ) ทำการทดสอบกรรมวิธีทดลองละ 5 ซ้ำ

การทดสอบกระทำโดยตัดปลายเส้นใยเชื้อราที่ได้จากการทดลองข้างต้นด้วย cork borer ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร แล้วนำ culture disc มาวางบนอาหาร PDA[15] ที่ผสมสารคาร์เบนดาซิม (50%WP, a.i., Bentus®, Sotus) ความเข้มข้น 0, 100, 500 และ 1,000 (อัตราแนะนำ) mg/L โดยวางไว้ตรงกลางจานละ 1 ชิ้น และวางบนอาหารที่ไม่ได้ผสมสารเคมีในชุดควบคุม บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อราในชุดควบคุมเจริญเต็มจาน นำชุดทดสอบ และชุดควบคุมมาวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีแล้วนำไปหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (percent inhibition of radial growth: PIRG) ตามวิธีการของ Soytong[16]

$$PGIR = \frac{(D1 - D2)}{D1} \times 100$$

เมื่อ D1=ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราชุดควบคุม

D2= ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราชุดทดสอบ

จากนั้นนำเปอร์เซ็นต์การเจริญของเชื้อราที่ทดสอบบนอาหาร ≥500 mg/L มาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราชุดควบคุม โดยแบ่งระดับการตอบสนองตามเกณฑ์ของ Peres *et al*.[17] ออกเป็นดังนี้คือ เจริญได้ <10%=sensitive to carbendazim (Car^S), เจริญได้ ≥10–35%=weakly resistant to carbendazim (Car^{WR}), เจริญได้ >35–65%=moderately resistant to carbendazim (Car^{MR}) และเจริญได้ >65–100%=highly resistant to carbendazim (Car^{HR}) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีโดย Least significant difference (LSD) ที่ P>0.05 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป statistix version 8.0

ผลการศึกษา

การแยกและจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรค

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างยางพาราที่แสดงอาการของโรคใบจุดก้างปลาจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ แปลงขยายพันธุ์ยางพาราของมหาวิทยาเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี พื้นที่ปลูกยางในเขตอำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี พื้นที่ปลูกยางในเขตอำเภอเขาคิชฌกูฏ จังหวัดจันทบุรี พื้นที่ปลูกยางในเขตอำเภอแหลมงอบ จังหวัดตราด

พบว่าใบยางที่แสดงอาการของโรคจะพบแผลเป็นจุดกลม ขอบแผลสีน้ำตาลดำ กลางแผลสีซีดหรือเทา ขอบแผลสีเหลืองและขยายลุกลามเข้าไปตามเส้นใบ มีลักษณะคล้ายก้างปลา เนื้อเยื่อบริเวณรอยแผลมีสีเหลืองถึงน้ำตาล (Figure 1A) จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการมาแยกเชื้อ พบว่าได้เชื้อรา จำนวน 12 ไอโซเลท (Table 1) เมื่อศึกษาลักษณะของเส้นใยเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-10 วัน พบว่าเส้นใยฟู มีสีเหลืองปนน้ำตาลไปจนถึงมีสีเทาเข้มเข้ม (Figure 1B) เมื่อนำมาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าสปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกตรง (cylindrical) ผิวนอกเรียบ สีค่อนข้างใส มีผนังกั้น (septa) จำนวนผนังกั้น 1-23 ตอน ส่วนโคนสปอร์ตัดตรง มี hilum ชัดเจน ขนาดของสปอร์ 224 x 12 ไมโครเมตร(Figure 1C) โดยเป็นลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *C. cassiicola*[18-20]

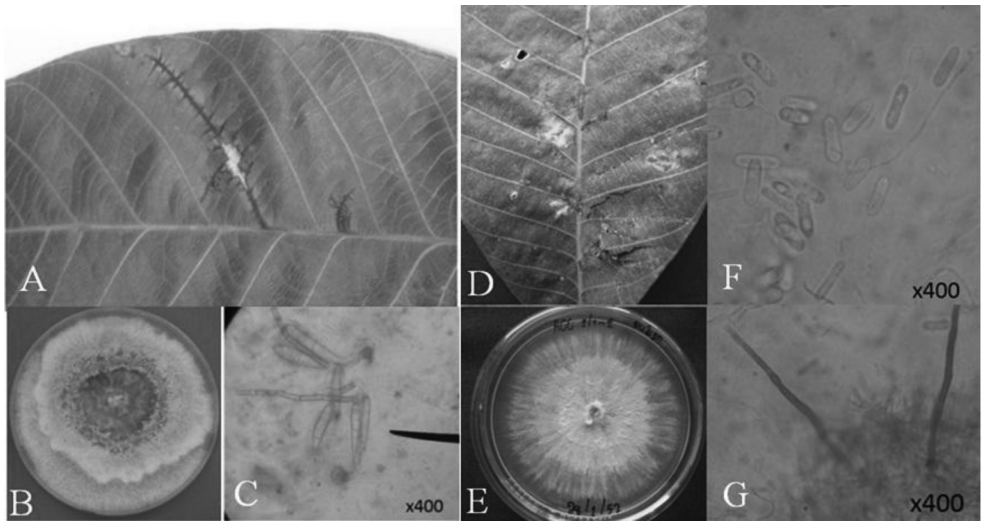

Figure 1 Symptom of leaf spot disease of rubber trees, corynespora leaf spot disease (A), colony (B) and conidia of *Corynespora cassiicola* (C) and symptom of colletotrichum leaf spot disease (D), colony (E) and conidia (F) and setae of *Colletotrichum gloeosporioides* (G)

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างยางพาราที่แสดงอาการของโรคใบจุดนูนจากพื้นที่ปลูกยางพาราในเขตจังหวัดจันทบุรีและตราด พบว่าใบยางพาราที่มีอาการของโรคใบจุดนูนมีอาการดังต่อไปนี้ คือ พบจุดแผลสีน้ำตาลขอบแผลสีเหลืองขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร เนื้อใบบางส่วนบิดงอ เมื่อในใบที่มีอายุมากเนื้อตรงกลางแผลจะทะลุเป็นรู (Figure 1D) เมื่อแยกเชื้อจากใบยางพาราที่แสดงอาการของโรค สามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ได้จำนวนทั้งสิ้น 24 ไอโซเลท (Table 1) เมื่อนำเชื้อราบริสุทธิ์มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อราตามลักษณะสปอร์โดยใช้หลักเกณฑ์ของ Sutton[20] พบว่าเป็นลักษณะของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งเมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-10 วัน พบโคโลนีมีสีขาวฟู ตรงกลางโคโลนีมีสีเทา (Figure 1E) หลังจากนั้นเชื้อราบางไอโซเลทจะเริ่มสร้างกลุ่มสปอร์สีส้มบนโคโลนี (spore mass) เมื่อตรวจดูลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400X พบสปอร์เซลล์เดียว สีใส รูปร่างทรงกระบอกหัวท้ายมน (cylindrical) ขนาด 9-24 X 3-4.5 ไมโครเมตร (Figure 1F,1G)

การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา

การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราที่แยกได้ พบว่าเชื้อรา *C. cassiicola* จำนวน 9 ไอโซเลท (Table 1) สามารถก่อโรคได้หลังจากปลูกเชื้อกลับด้วยเชื้อราบริสุทธ์ที่แยก มีอาการเริ่มแรกบนใบยาง คือพบแผลช้ำตรงเส้นใบ และกระจายอยู่ทั่วแผ่นใบ ต่อมาเนื้อเยื่อแผลแห้งตายเป็นสีน้ำตาลและขอบแผลสีเหลือง เมื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุที่แยกได้ พบว่าเชื้อรา *C. cassiicola* ไอโซเลท BL3-1 60s, CC1-2, DCC1-60S, DCC3-1, HCC1/1, HCC1/2, HCC2/1-2, HCC4/1 และ HCC4/2 สามารถก่อโรคบนยางพาราได้ และเชื้อราไอโซเลท DCC1-60S ทำให้ใบยางพาราเป็นแผลขนาดใหญ่ที่สุด คือ 7.88 เซนติเมตร

Table 1 Number of fungal isolated from rubber trees

Organism	Number of received isolates	Number of Pathogenic isolates	Percent of pathogenic isolate
Corynespora cassiicola	12	9	75.0
Colletotrichum gloeosporioides	24	15	62.5

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อรา

เมื่อนำเชื้อราที่ได้ทั้ง 9 ไอโซเลท มาทดสอบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 100, 500 และ 1000 mg/L โดยวัดผลจากความสามารถในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ผสมสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (Figure 2) ผลปรากฏว่าอาหาร PDA ที่ผสมสารคาร์เบนดาซิม ความเข้มข้น 100 mg/L, 500 mg/L, และ 1000 mg/L สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *C. cassiicola* ไอโซเลท BL3-1 60s เท่ากับ 88.44%, 88.78% และ 88.78% ตามลำดับ ไอโซเลท HCC2/1-2 เท่ากับ 78.34%, 80.22% และ 84.78% ตามลำดับ ไอโซเลท HCC4/2 เท่ากับ 86.34%, 87.11% และ 87.67 % ตามลำดับ ไอโซเลท HCC4/1 เท่ากับ 87.44%, 88.22% และ 88.78% ตามลำดับ

ไอโซเลท HCC1/2 เท่ากับ 70.67%, 72.44% และ 75.45 % ตามลำดับ ไอโซเลท DCC1-60s เท่ากับ 86.67%, 88.89% และ 88.89% ตามลำดับ ไอโซเลท DCC1-2 เท่ากับ 88.67%, 89.00% และ 90.67% ตามลำดับ ไอโซเลท HCC1/1 เท่ากับ 92.44%, 92.56% และ 93.11% ตามลำดับ และไอโซเลท DCC3-1 เท่ากับ 88.78%, 89.00% และ 89.33% ตามลำดับ (Table 2) นอกจากนี้พบว่าเชื้อรา *C. cassiicola* ทั้งสิ้น 8 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ ≥ 10 -35% ในอาหารที่ผสมคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 500 mg/L จึงจัดให้อยู่ในกลุ่ม weakly resistant (Car^{WR}) phenotype ในขณะที่มีเพียงเชื้อราไอโซเลท HCC1/1 ถูกยับยั้งเส้นใยได้มากกว่า 10% จึงจัดให้อยู่ในกลุ่ม sensitive (Car^{S}) phenotype (Table 2)

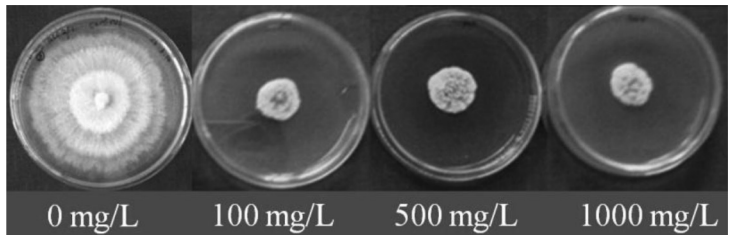

Figure 2 Colony morphology of *Corynespora cassiicola* on carbendazim amended PDA after incubation for 7 days

Table 2 Efficiency of various carbendazim fungicide concentrations on percent inhibition of mycelia radial growth and phenotype reactions of *Corynespora cassiicola*

Carbendazim concentrations	Percent inhibition of radial growth (%)[1/]								
	BL3-1 60s	CC1-2	DCC1-60S	DCC3-1	HCC1/1	HCC1/2	HCC2/1-2	HCC4/1	HCC4/2
0 mg/L	0.00±0c[2/]	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0c	0.00±0c	0.00±0c	0.00±0b	0.00±0c	0.00±0b
100 mg/L	88.44±0.2b	88.67±3.5a	86.67±4.4a	88.78±0.2b	92.44±0.4b	70.67±2.1b	78.34±2.7a	87.44±1.70b	86.34±1.4a
500 mg/L	88.78±0.3a	89.00±0.6a	88.89±0.8a	89.00±0.3ab	92.56±0.3b	72.44±1.9ab	80.22±8.9a	88.22±0.72ab	87.11±1.6a
1000 mg/L	88.78±0.2a	90.67±0.2a	88.89±1.2a	89.33±0.5a	93.11±0.5a	75.45±3.4a	84.78±5.9a	88.78±0.46a	87.67±1.3a
CV (%)	0.32	2.67	3.49	0.44	0.55	4.11	8.85	1.47	1.91
Phenotype reactions[3/]	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{S}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}

1/ Means of five replications ±SD

2/ Means followed by a common letter in each column are not significantly different by LSD at $P < 0.05$

3/ Phenotype reactions of *Corynespora cassiicola* on carbendazim amended PDA

การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา สาเหตุที่แยกได้พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 15 ไอโซเลท (Table 1) สามารถก่อให้เกิดโรคได้หลังจากปลูกเชื้อกลับบนใบยางพาราปกติด้วยเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแผลที่แสดงอาการของโรค โดยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท DCG8 ทำให้ใบยางพาราเป็นแผลขนาดใหญ่ที่สุด คือ 7.88 เซนติเมตร และเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท DCG2 และ ไอโซเลท DCG8-120 ทำให้ใบยางพาราเป็นแผล

ขนาดเท่ากับ 2.33 และ 2.25 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อราที่ได้ทั้ง 15 ไอโซเลท มาทดสอบกับสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 100, 500 และ 1000 mg/L โดยวัดผลจากความสามารถในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ผสมสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (Figure 3)

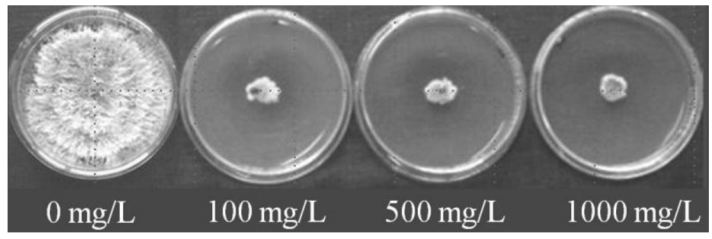

Figure 3 Colony morphology of *Colletotrichum gloeosporioides* on carbendazim amended PDA after incubation for 7 days

ผลปรากฏว่าอาหาร PDA ที่ผสมสารคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 100 mg/L, 500 mg/L และ1000 mg/L สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท DCG1 เท่ากับ 70.33%, 71.56%, และ 70.33% ตามลำดับ ไอโซเลท DCG2 เท่ากับ 71.56%, 76.78% และ 74.78% ตามลำดับ ไอโซเลท DCG3 เท่ากับ 88.56%, 89.33% และ 88.66% ตามลำดับ ไอโซเลท DCG4-30S เท่ากับ 88.67%, 89.11% และ 88.67% ตามลำดับ ไอโซเลท DCG4-60S เท่ากับ 92.56%, 92.78% และ 92.89% ตามลำดับ ไอโซเลท DCG5-30S เท่ากับ 90.89%, 92.22% และ 92.89% ตามลำดับ ไอโซเลท DCG8 เท่ากับ 88.78%, 88.89% และ 89.44% ตามลำดับ ไอโซเลท DCG8-120S เท่ากับ 64.89%, 82.33%, และ 88.33% ตามลำดับ ไอโซเลท DCG9 เท่ากับ 83.99%, 83.22% และ 85.67 % ตามลำดับ ไอโซเลท DCG10-120S เท่ากับ 88.11%, 88.56% และ 89.44% ตามลำดับ ไอโซเลท HCG4/1 เท่ากับ 88.44%, 88.67% และ 88.89% ตามลำดับ

ไอโซเลท HCG5/1 เท่ากับ 82.44%, 87.67% และ 88.11% ตามลำดับ ไอโซเลท HCG7/1 เท่ากับ 70.44%, 67.00% และ 68.22% ตามลำดับ ไอโซเลท HCG8/1 เท่ากับ 92.56%, 92.78% และ 92.89% ตามลำดับ และไอโซเลท HCG9/1 เท่ากับ 88.89%, 83.67% และ 87.89% ตามลำดับ และเมื่อจัดระดับการตอบสนองต่อคาร์เบนดาซิม พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท DCG4-60S และ HCG8/1 สามารถเจริญได้น้อยกว่า 10% จัดอยู่ในกลุ่ม sensitive (Car^S) phenotype สำหรับไอโซเลท DCG1, DCG2, DCG3, DCG4-30S, DCG5-30S, DCG8, DCG8-120, DCG9, DCG10-120S, HCG4/1, HCG5/1, HCG7/1 และ HCG9/1 สามารถเจริญได้ ≥ 10 - 35% ในอาหารที่ผสมคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 500 mg/L จึงจัดให้อยู่ในกลุ่ม weakly resistant (Car^{WR}) phenotype (Table 3)

Table 3 Efficiency of various carbendazim fungicide concentrations on percent inhibition of mycelia radial growth and phenotype reactions of *Colletotrichum gloeosporioides*

Carbendazim concentrations	Percent inhibition of radial growth (%)[1/]														
	DCG1	DCG2	DCG3	DCG4-30S	DCG4-60S	DCG5-30S	DCG8	DCG8-120	DCG9	DCG10-120S	HCG4/1	HCG5/1	HCG7/1	HCG8/1	HCG9/1
0 mg/L	0.00±0b[/2]	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0b	0.00±0c
100 mg/L	70.33±2.1a	71.56±2.9a	88.56±0.5a	88.67±0.5a	92.56±0.3a	90.89±2.6a	88.78±0.9a	64.89±4.8a	83.99±1.3a	88.11±0.6a	88.44±1.0a	82.44±1.7a	70.44±1.9a	92.56±0.5a	88.89±2.0a
500 mg/L	71.56±1.2a	76.78±6.5a	89.33±1.0a	89.11±0.6a	92.78±0.4a	92.22±0.4a	88.89±0.6a	82.33±5.3a	83.22±5.0a	88.56±0.6a	88.67±0.5a	87.67±1.8a	67.00±1.9a	92.78±0.6a	83.67±11.3a
1000 mg/L	70.33±2.2a	74.78±7.9a	88.66±0.8a	88.67±0.2a	92.89±0.4a	92.89±3.2a	89.44±0.8a	88.33±4.8a	85.67±1.7a	89.44±0.8a	88.89±0.4a	88.11±2.4a	68.22±3.9a	92.89±0.8a	87.89±11.9a
CV (%)	3.15	9.58	1.09	0.62	0.49	1.99	1.04	30.95	4.32	1.29	0.89	2.65	4.61	11.85	15.82
Phenotype reactions[3/]	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{s}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{WR}	CAR^{s}	CAR^{WR}

1/ Means of five replications **±SD**

2/ Means followed by a common letter in each column are not significantly different by LSD at $P < 0.05$

3/ Phenotype reactions of *Colletotrichum gloeosporioides* on carbendazim amended PDA

วิจารณ์และสรุป

เชื้อรา *C.cassiicola* ถูกยับยั้งด้วยสารคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 mg/L ได้สูงสุด 92.44%, 92.56% และ 93.11% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่เชื้อรา *C. gloeosporioides* ถูกยับยั้งด้วยสารคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 100, 500 และ 1000 mg/L ได้สูงสุดเท่ากับ92.89%, 92.78% และ 92.56% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสามารถบ่งชี้ได้ว่าสารคาร์เบนดาซิมสามารถนำไปใช้เพื่อควบคุมโรคใบจุดทั้งสองชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพในระดับห้องปฏิบัติการ เนื่องจากโดยทั่วไปแล้วการควบคุมเชื้อรา *C. cassiicola* นั้น เกษตรกรส่วนมากใช้สารเคมีในกลุ่ม benzimidazole (เบโนมิล/คาร์เบนดาซิม (50% a.i.): อัตราแนะนำ= 1000 mg/L) และ morpholine (ไตรดีมอร์ฟ (75% a.i.): อัตราแนะนำ= 1000 mg/L) เพื่อกำจัดเชื้อราเหล่านี้ แต่ด้วยว่าสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนซิมเป็นสารประเภทดูดซึมมีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดเชื้อราสูง แม้ใช้ในความเข้มข้นต่ำก็ยังสามารถใช้ควบคุมโรคได้ดีในพืชหลายชนิด เช่น ข้าว องุ่น แตงโม ถั่ว มะม่วง พริก พริกไทย มะเขือเทศ กาแฟ ยาสูบ ฝ้าย กล้วยไม้ ผักต่างๆ ไม้ดอกไม้ประดับทุกชนิด ถึงแม้ว่ายังไม่มีรายงานการพบการดื้อต่อราคาร์เบนซิม ของเชื้อรา *C. cassiicola* ในประเทศไทย แต่พบว่าในต่างประเทศมีรายงานการดื้อของเชื้อรา *C. cassiicola* ต่อสารเคมีในกลุ่ม Benzimidazole, N-phenylcarbamates และ QoI fungicides[21-25] และยังพบว่าเชื้อรา *C. cassiicola* ดื้อต่อสารกำจัดเชื้อรา boscalid (94.4% a.i.) ซึ่งเป็นสารเคมีกำจัดเชื้อรากลุ่มใหม่ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ succinate dehydrogenase หรือที่รู้จักกันในชื่อของ carboxamide ความเข้มข้น 0, 0.1, 1, 5, 10 และ 30 µg/ml ในเชื้อรา *C. cassiicola* สาเหตุของโรคใบจุดในแตงกวา ทำให้เชื้อราที่มีความต้านทานต่อสารชนิดนี้ในระดับปานกลาง หรือสูงจะลดประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อราชนิดนี้ลง[26] เช่นเดียวกับการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporiodes* เกษตรกรนิยมใช้สารเคมีชนิดดูดซึมในการป้องกันกำจัดโรคพืชกลุ่ม benzimidazole (benomyl/carbendazim) กลุ่มpolychlorinated aromatic (Chlorothalonilis) และสารเคมีในกลุ่ม polymeric dithiocarbamate fungicides (propineb, zineb) สารเคมีเหล่านี้กลายเป็นสิ่งจำเป็นและขาดไม่ได้เนื่องจากสะดวกและมีประสิทธิภาพดี แต่การใช้สารเคมีประเภทดูดซึมติดต่อกันเป็นระยะเวลายาวนานเป็นการสะสมสารเคมีในสิ่งแวดล้อม[27] โดยสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole (benomyl/ carbendazim) มีรายงานมาตลอดหลายสิบปีว่ามีผลต่อการดื้อยาของเชื้อรา *C. gloeosporiodes* ในพืชหลายชนิด ด้วยกลไกการออกฤทธิ์ของคาร์เบนซิมนั้นจะส่งผลโดยตรงต่อการยับยั้งการสังเคราะห์ DNA และ RNA และการแบ่งเซลล์ของเชื้อรา โดยคาร์เบนดาซิมจะไปจับที่ตำแหน่งของยีน β–tubulin ภายในไมโครทูบูลที่จะสร้างเป็น spindle fiber เมื่อไม่สามารถสร้างไมโครทูบูลได้ การแยกตัวของโครโมโซมคู่เหมือนจะถูกยับยั้งลงไป ดังนั้นเชื้อราจึงไม่สามารถแบ่งตัวได้ตามปกติ ซึ่งแสดงให้เห็นได้ว่าสารเคมีกำจัดเชื้อราที่เป็นสารเคมีประเภทดูดซึมมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อราได้ดีกว่าสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภทสัมผัสตาย แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราประเภทดูดซึมต้องพึงระมัดระวังในการใช้มากกว่าเพราะมีโอกาสก่อเกิดการกลายพันธุ์ของประชากรศัตรูพืชได้สูงกว่า[28-29] เนื่องจากเมื่อมีการใช้สารคาร์เบนดาซิมบ่อยครั้งจนทำให้ประชากรเชื้อราเกิดการแปรผันทางพันธุกรรมไปโดยยีน β–tubulin ของเชื้อรานั้นมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างภายในทำให้สารคาร์เบนดาซิมไม่สามารถจับที่ตำแหน่งดังกล่าวได้ เชื้อราจึงยังสามารถเจริญต่อไปได้ตามปกติซึ่งถือว่าเกิดความล้มเหลวในการควบคุมเชื้อราชนิดนั้นๆ ไป นอกจากนี้มีรายงานว่าเชื้อราก็มีโอกาสที่จะดื้อต่อสารตัวอื่นในกลุ่มเดียวกันได้ เช่น ดื้อต่อสารเบโนมิลแล้วก็จะดื้อต่อสารคาร์เบนซิม หรือดื้อต่อสารไทอะเบนดาโซลก็จะดื้อต่อสารเบโนมิลด้วย เป็นต้น

นอกจากนี้เป็นที่น่าสังเกตว่า เชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมสารคาร์เบนดาซิมทุกความเข้มข้นตั้งแต่ระดับ 100 - 1000 mg/L มีการสร้าง pigment สีม่วงเข้มรอบโคโลนีของเชื้อรา *C. cassiicola* และ *C. gloeosporioides* เช่นเดียวกับที่พบในเชื้อรา *Cercospora lactucae-sativae* สาเหตุโรคใบจุดของผักกาดหอมที่ดื้อต่อสารคาร์เบนดาซิม (CAR^{HR}) โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะ phenotype เช่น การเจริญ เส้นใย การสร้างสปอร์ แต่พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสของยีน β–tubulin ในตำแหน่ง โคดอนที่ 198 จาก adenine ไปเป็น cytosine ส่งผลให้ชนิดของกรดอะมิโนใน wild type (CAR^{S})เปลี่ยนจาก glutamic acid (GAG) ไปเป็น alanine (GCG) ในไอโซเลทที่ดื้อยา (CAR^{HR})[29]

จากผลจากการทดสอบจะเห็นได้ว่าสารคาร์เบนดาซิมทุกความเข้มข้นตั้งแต่ระดับ 100 - 1000 mg/L สามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อรา แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งที่อัตราแนะนำบนฉลากของสารคาร์เบนดาซิมนั้นอยู่ที่ 1000 mg/L ซึ่งนั่นหมายความว่าสารคาร์เบนดาซิมเพียง 100 mg/L ให้ผลเทียบเคียงกับที่ความเข้มข้น 1000 mg/L แสดงว่าเกษตรกรสามารถใช้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่าอัตราแนะนำบนฉลากได้ เพื่อไม่ให้เกิดการดื้อต่อสารคาร์เบนดาซิมนี้ในอนาคต แต่ทั้งนี้การศึกษาการประเมินระดับความต้านทานของเชื้อรา *C. cassiicola* และ *C. gloeospori-*

oides สาเหตุโรคใบจุดก้างปลา และใบจุดนูนต่อสารเคมีกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อ *C. cassiicola* และ *C. gloeosporioides* เป็นการทดสอบเบื้องต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อภายในห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นสภาวะควบคุมปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม รวมถึงใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารคาร์เบนดาซิมที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพเบื้องต้นของสารเคมีได้ชัดเจนแต่ในสภาวะแปลงปลูกนั้นความเข้มข้นที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้อาจจะใช้ไม่ได้ผลเนื่องจากมีปัจจัยด้านสภาวะแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ ดังนั้นในขั้นต้นเกษตรกรต้องใช้สารเคมีชนิดนี้ในระดับต่ำก่อน เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมกับการใช้จริงในแปลงปลูกต่อไปและผู้วิจัยเองควรได้มีการศึกษาระดับแปลงเพิ่มเติมในอนาคตด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณรายได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ประจำปีงบประมาณ 2557

เอกสารอ้างอิง

1. อุมาภรณ์ อุดมผล, บัญชา สมบูรณ์สุข. การสร้างแบบจำลองระบบการทำฟาร์มสวนยางพาราและสวนปาล์มน้ำมันในอำเภอคลองท่อม จังหวัดกระบี่. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2554. 520 หน้า.
2. Workman D. Natural rubber exports by country in world top exports. 2018. Available from: URL:http://www.worldstopexports.com/ natural-rubber-exports-country/ May 5 2018.
3. สำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม. สถิติส่งออกยางธรรมชาติ. (ค้นวันที่ 5 พฤษภาคม พ.ศ. 2561) สืบค้นจาก URL:http://rubber.oie.go.th/ImExThaiByProduct.aspx?pt=ex.
4. สมาคมยางพาราไทย. สถิติยางไทย. (ค้นวันที่ 5 พฤษภาคม พ.ศ. 2561) สืบค้นจาก URL:http://www.thainr.com/th/?detail=stat-thai.
5. การยางแห่งประเทศไทย. การปลูกยางพารา- พันธุ์ยางที่นิยมปลูกในประเทศไทย. (ค้นวันที่ 5 พฤษภาคม พ.ศ. 2561) สืบค้นจาก URL:http://km.rubber.co.th/.
6. กรรณิการ์ เพี้ยนภักตร์, กัญจนา โป๊ะเงิน, อุบล คือประโคน, วิรัช ชูบำรุง, สัญชัย ตันตยาภรณ์. *Corynespora cassiicola* เชื้อราสาเหตุโรค target spot ของมะละกอ. วารสารวิชาการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. 2533;8(1):25-30
7. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร. ยางพารา. (ค้นวันที่ 5 พฤษภาคม พ.ศ. 2561) สืบค้นจาก URL:http://www.arda.or.th/kasetinfo/south/para/controller/01-05.php.
8. พงษ์เทพ ขจรไชยกูล, อมรมณ์ โรจน์สุจิตร, เก็บ หนูศรี, วันเพ็ญ หวังเกียรติ, อาคม โทมณี และกาจศิลป์ รัตนะ. ปฏิกิริยาของยางพันธุ์บราซิลต่อเชื้อ *Corynespora cassiicola* Curt. & Wei. ที่แยกได้จากยางพารา. สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร. 2541. กรุงเทพฯ. 9 หน้า.
9. Ogbebor NO, Adekunle AT Enobakhare, DA. Inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sac. causal organism of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) leaf spot using plant extracts. Afr J Biotechnol. 2007;6(3):213-218
10. Begho ER. Nursery diseases of *Hevea brasiliensis* in Nigeria, and their control. Proceedings of a National workshop on fruit/tree crop seedling production NEARLS. Zaria. 1990;103-106
11. Sabu PI, Kuruvilla CJ, Manju MJ, Kothandaraman R. Current status of Corynespora Leaf fall disease in India. In: the International Rubber Research and development board (IRRDB) workshop on Corynespora leaf fall of Rubber in Kuala Lumpur and Medan; 2000 June 6 – 14; 2000. p5.
12. Podila GK., Rogers LM, Kolattukudy PE. Chemical signals from avocado surface wax trigger germination and appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Physiol. 1993;103:267-272
13. Wilson LL, Madden LV, Ellis MA. Influence of temperature and wetness duration on infection of immature and mature strawberry fruit by *Colletotrichum acutatum*. Phytopathology. 1990;80(1): 111-116
14. อนันต์ วงเจริญ. ผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคของข้าว. วารสารแก่นเกษตร. 2556;41(ฉบับพิเศษ): 527-531
15. พัฒนา สนธิรัตน, ลักษณ์ วงศ์หิรัญภิญโญ, วิรัช ชูบำรุง, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. สัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และพืชอาศัยของเชื้อรา *Corynespora cassiicola* สาเหตุโรคใบจุดก้างปลาของยางพารา. ใน:รายงานการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 30 ระหว่างวันที่ 29 มกราคม–1 กุมภาพันธ์ 2535. มหาวิทยาลัย

เกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ:2535;395-401

16. Soytong, K. Biological Control of Plant Pathology. 1989. 362pp.
17. Peres NAR, Souza NL, Peever TL. and Timmer LW. Benomyl sensitivity of Isolates of *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides* from citrus. Plant Dis. 2004;88:125-130
18. นริสา จันทร์เรือง, ประภา พัฒนกุล, อุไร จันทรประทิน, บัญญัติ สิทธิผล. ศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านในการป้องกันกำจัดโรคยางพาราที่สำคัญ. รายงานผลงานวิจัย กรมวิชาการเกษตร ประจำปี 2537. 2537;11 หน้า
19. Wei CT. Notes on *Corynespora*. J Myco Papers. 1950;34:10 pp
20. Sutton BC. The Coelomycetes. Kew. Surrey. England; 1992
21. Hasama W. Occurrence and characteristics of resistant strains of *Corynespora melonis* against benzimidazole compounds. Ann. Phytopathol. Soc. 1991;57:312-318
22. Hasama W, Sato M. Occurance and distribution of fungicide-resistant field isolates of strains of *Corynespora cassiicola* causal fungus of target leaf spot of cucumber. *In* :Kyushu and Okinawa districts. Proceeding of the association for Plant Protection of Kyushu. 1996;42:30-26
23. Date H, Kataoka E, Tanina K. Sensitivity of *Corynespora cassiicola*, casual agent of Corynespora leaf spot of cucumber, to thiophanate-methy;l, dithiofencarb and azoxystrobin. Jpn J Phytopathol. 2004;70:10-13
24. Takeuchi T, Kubo C, Ishii H. Sensitivity of Chiba Perfecture isolates of *Corynespora cassiicola*, causal agent of Corynespora leaf spot on cucumber, to several fungicides. Annual report of Kanto-Tosan Plant Protection Society. 2006;53:55-60
25. Ishii H, Yano K, Date H. Molecular characterization and diagnosis of QoI resistance in cucumber and eggplant fungal pathogens. Phytopathology. 2007;97:1458-1466
26. Miyamoto T, Ishii H, Stammler G, Koch A, Ogawara T, Tomita Y, Fountaine, JM, Ushio S Seko T, Kobori S. Distribution and molecular characterization of *Corynespora cassiicola* isolates resistant to boscalid. Plant Pathol. 2010;59(5):873-881
27. บุปผา อุ่นแสงจันทร์, วิทยา ยกฉวี, ทรงพล โต้ซารี. รายงานสถานการณ์มลพิษทางน้ำจากการปลูกยางพารา. ส่วนน้ำเสียเกษตรกรรม สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ. กรุงเทพฯ. 2556;50 หน้า
28. Kongtragoul P, Na lumpang S, Miyamoto Y, Izumi Y, Akimitsu K. Mutation at Codon 198 of TUB2 gene for carbendazim resistance in *Colletotrichum gloeosporioides* causing mango anthracnose in Thailand. J. Plant Prot Res. 2011;51(4):377-384
29. Suwan N, Nuandee N, Akimitsu K, Na Lumpang S. Analysis of β-tubulin gene from carbendazim resistant isolates of *Cercospora lactucae-sativae* on Lettuce in Thailand. Int J Agri Techno. 2012;8(2):711-723