รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. ชื่อแผนงานวิจัย : แผนงานวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

2. ชื่อโครงการวิจัย : การศึกษาและพัฒนาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดและควบคุมศัตรูพืช

ชื่อโครงการวิจัยย่อย : ศึกษาประสิทธิภาพและผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

3. ชื่อการทดลอง : ผลกระทบของสารป้องกันกำจัดรา metalaxyl ต่อการเจริญของรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคเน่าของไม้ผล

Effect of Metalaxyl on Growth of *Phytophthora palmivora* Causing Fruit Plant Rot Diseases

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	: นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ร่วมงาน	: นางพีระวรรณ วัฒนวิภาส	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. บทคัดย่อ :

ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน และตัวอย่างดินจากสวนทุเรียนที่เป็นโรครากเน่าโคนเน่า ระหว่าง ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 เมื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้รา *Phytophthora palmivora* และเลี้ยงขยายรา *P. Palmivora* ที่เก็บไว้ใน culture collection ของ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารวุ้น มันฝรั่งที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อ ให้ได้ข้อมูลการดื้อยาของเชื้อรา *P. Palmivora* ต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ได้ตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนซึ่งแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้รา *P. palmivora* จากจังหวัดจันทบุรี 3 ไอโซเลท ระยอง 1 ไอโซเลท และนครศรีธรรมราช 2 ไอโซเลท ตัวอย่างดินจากสวนทุเรียนจันทบุรีและนครศรีธรรมราช จังหวัดละ 2 ไอโซเลท รวม 10 ไอโซเลท และเลี้ยงขยายเพื่อศึกษารา *P. Palmivora* ที่เก็บไว้ใน culture collection จำนวน 10 ไอโซเลท รวมทั้งสิ้น 20 ไอโซเลท พบว่าราทุกไอโซเลทมี แบบคู่ผสม เป็น A1 สารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ความเข้มข้น 10 และ 1,00 ppm.ไม่สามารถควบคุมการเจริญเติบโตเส้นใยของราได้ ราทุกไอโซเลทสร้างสปอร์แรนเจีย และ คลามายโดสปอร์ลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารเคมีเพิ่มขึ้น ไม่พบการสร้างสปอร์แรนเจีย ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm.

คำหลัก : โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน รา *Phytophthora palmivora* สารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl

6. คำนำ :

รา *Phytophthora* spp. เป็นสาเหตุโรคของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด ทั้งระยะกล้าและระยะต้นไม้ใหญ่ บาง species ทำลายพืชมากกว่าหนึ่งชนิด รา *Phytophthora* ถูกพบและรายงานเป็นครั้งแรกในประเทศไทยตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2470 โดยหม่อมเจ้า สิทธิพร กฤดากร พบความผิดปกติของต้นพลูที่มีอาการรากเน่าโคนเน่า และได้รายงานไว้ในหนังสือพิมพ์กสิกร ซึ่งปัจจุบันได้รายงานว่า ทั้งโรคพลูและโรคพริกไทยมีสาเหตุจากรา *Phytophthora parasitica* และ *P. palmivora* ต่อมามีการรายงานพบการทำลายพืช ของรา *Phytophthora* กับพืชอื่นๆ อีกหลายชนิด เช่น ทุเรียน มะละกอ วานิลลา และลำไย โดยทำลายส่วนต่างๆ ของพืชเหนือดิน ทำให้เกิดอาการเน่า ทั้งราก โคน กิ่งและผล โดยเฉพาะรา *P. palmivora* เป็นสาเหตุโรคเน่าของไม้ผลหลายชนิด เช่น สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน โรครากเน่าลำไย โรคผลเน่าพุทรา โรคผลเน่าขนุน เป็นต้น

ในการศึกษาการป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีสาเหตุจาก รา *Phytophthora* spp. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชที่มักนำมาใช้ คือ สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ซึ่งใช้ควบคุมเชื้อโรคเฉพาะในกลุ่ม Oomycetes มีรายงานมากเกี่ยวกับกรณีเชื้อโรคพืชดื้อต่อสารเคมี หรือ ความต้านทาน (หรือทนทาน) ของรา *Phytophthora* spp ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการศึกษาผลของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ต่อการเจริญของ เชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าของไม้ผล ให้ได้ข้อมูลสภาพการดื้อยา หรือ ความต้านทาน หรือทนทาน ของราที่แยกได้จากแปลงปลูกไม้ผลต่างๆ ทั่วประเทศ เพื่อนำข้อมูลนั้นประกอบใช้ในการจัดการโรคอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์ :
  1. อาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ(อาหารวุ้นมันฝรั่งผสม บี อาร์ เอ็น เอ พี (PDA + BRNAP)
  2. อาหารวุ้นแครอท
  3. สารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl
- วิธีการ

1. **เก็บ รวบรวมตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนและการแยกเชื้อสาเหตุ**

ได้เก็บและรวบรวม และเก็บตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนระหว่าง ตุลาคม 2553 - กันยายน 2555 นำตัวอย่างโรคพืชเหล่านั้นมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ในวันเดียวกัน โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue transplanting) ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติ เป็นชิ้นส่วนขนาด 2x2 มิลลิเมตร ตัวอย่างละ 15-20 ชิ้น เลี้ยงบนอาหารวุ้นมันฝรั่งผสม บี อาร์ เอ็น เอ พี (PDA + BRNAP) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ (Selective media) (Masago et al., 1972) เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดชอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นตัวอย่าง เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะอีกครั้ง เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดชอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นเชื้อ เลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท (Carrot

agar) (Kaosiri et al., 1978) แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง ศึกษารายละเอียดของเชื้อสาเหตุเหล่านั้น ที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนและการเกิดโรค

ศึกษารายละเอียดลักษณะอาการของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน สภาพแวดล้อมของการเกิดโรค และการปฏิบัติดูแลของเกษตรกร

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของ รา *Phytophthora* sp. โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

3.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ของเชื้อ

เลี้ยงรา *Phytophthora* ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่มีอาหารวุ้นมันฝรั่ง และอาหารวุ้นแครอท จำนวน 15 มิลลิเมตร เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย ใช้เครื่องเจาะรู (Cork borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อซึ่งเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท นาน 5 วัน วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบนอาหารบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่มมืดอุณหภูมิห้อง จนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ศึกษาบันทึกลักษณะการเจริญที่ผิวหน้าอาหารและความหนาแน่นของเส้นใย

3.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา

นำรา *Phytophthora* ในจานเลี้ยงเชื้อ ที่มีอาหารวุ้นแครอท จำนวน 15 มิลลิเมตร ที่บ่มในตู้บ่มมืดนาน 72 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้แสงนีออน (White cool) 40 วัตต์ 2 หลอดระยะ 30 เซนติเมตรที่ให้แสง 200 แรงเทียน (Foot candle ftc) ที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยไว้ใต้แสงนาน 48 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อสร้าง สปอร์แรงเจีย (Sporangia) ศึกษาและบันทึกลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (Sporangiophores) วัดความยาว (Length) และความกว้าง (Breadth) ของ สปอร์แรงเจีย เพื่อหาอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง วัดความยาวของก้านสปอร์ (Pedicel หรือ Stalk) ความยาวของปาปิลา (Papilla) และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ คลาไมโดสปอร์ (Chlamydospore) ศึกษาสปอร์ทั้ง 2 ชนิด จำนวนตัวอย่างละ 50 สปอร์

3.3 ศึกษาแบบคู่ผสม (Mating type) ของรา

เลี้ยงรา *Phytophthora* แต่ละไอโซเลท บนอาหารวุ้นแครอท วิธีการเดียวกับ ข้อ 3.1 จากนั้นใช้ เครื่องเจาะรู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของ เชื้อ (Unknown) เลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท ในจานเลี้ยงเชื้อด้านตรงข้ามกับรา *P. palmivora* มาตรฐานที่ทราบแบบคู่ผสมแล้ว คือ แบบคู่ผสม A1 (*P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่าลำไย) แล้วทำวิธีการเดียวกันกับรา *P. palmivora* มาตรฐาน แบบคู่ผสม A2 (*P. palmivora* สาเหตุ

โรคเน่าแก้วหน้าม้า) เพื่อหา แบบคู่ผสม ของราทุก ไอโซเลท นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดนาน 7-10 วัน ศึกษาและบันทึกการสร้าง Sexual structure ของเชื้อ Unknown กับ A1 หรือ A2 มาตรฐาน วัดขนาด (ความยาวและความกว้าง) ของ โอโอโกเนีย (Oogonia), โอโอสปอร์ (Oospores) และ แอนเธอริเดีย (Antheridia) จำนวนไอโซเลทละ 50 สปอร์ ศึกษาตำแหน่งของแอนเธอริเดีย บนผิวของ โอโอโกเนียม (Oogonium) และลักษณะของ โอโอสปอร์ (Oospore) ที่อยู่ภายในแต่ละ โอโอโกเนียม

4. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อโดยวิธีการทำสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture)

นำรา *Phytophthora* บริสุทธิ์จากตัวอย่างโรคที่เก็บจากแหล่งต่างๆ แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท ตัวอย่างละ 3 ซ้ำเก็บไว้ในที่มืด 72 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้แสงนีออน ที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยไว้ใต้แสงนาน 24–48 ชั่วโมง ใช้เข็มเขี่ยปลายม้วน (Loop) ลนไฟฆ่าเชื้อ แช่ในน้ำกลั่นนึ่ง นำมาแตะบนปลายเส้นใย ซึ่งได้ สปอร์แรงเจีย จำนวนมาก นำไปเขี่ยให้กระจาย (Streak) บนอาหารวุ้น (WA) แล้วส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 10 x 10 เพื่อหา สปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium) ตักสปอร์เดี่ยวดังกล่าววางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 จุดต่อ 1 จาน เลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท ปริมาณ 15 มิลลิเมตรในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 72 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากสปอร์เดี่ยวนั้น นำไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง

5. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่แยกได้

เลี้ยงราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ บนอาหารวุ้นแครอท ที่อุณหภูมิห้อง ใช้ เครื่องเจาะรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อนำไปปลูกเชื้อ โดยวิธีเด็ดใบ (Detached leaf) ใช้ใบพริกระยะใบเพสลาด ที่ปลายของก้านใบพันด้วยสำลีชุบน้ำกลั่น เพื่อให้ใบสดอยู่เสมอ ปลูกเชื้อที่แยกได้ ใช้ เครื่องเจาะรู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เจาะทำแผลบนบริเวณกลางใบพริก วางเส้นใยบนอาหารวุ้นคว่ำลงบนใบที่ทำแผล จากนั้นใช้สำลีชุบน้ำวางบนชิ้นอาหารวุ้นดังกล่าวเพื่อให้ความชื้น วางใบพริกในกล่องพลาสติกปิดฝา เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 3 วัน นำใบพริกที่แสดงอาการเป็นโรค ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติไปแยกเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่ง แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทในหลอดทดลอง

6. ผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ต่อการเจริญของ รา *P. palmivora*

6.1 ผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ต่อการเจริญของเส้นใย

6.2 ผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ต่อการสร้างสปอร์ชนิดต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำ เลี้ยงราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ บนอาหารวุ้นแครอท ที่อุณหภูมิห้อง ใช้เครื่องเจาะรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ นำไปวางบนอาหารวุ้นมันฝรั่งที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ที่มีความเข้มข้น 10 100 1,000 และ 10,000 ppm. โดยมี รา *P. palmivora* ที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นมันฝรั่งที่ไม่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ เมื่อเส้นใยของราในกรรมวิธีเปรียบเทียบเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ เปรียบเทียบความเจริญเติบโตของเส้นใย (เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำนวนและขนาดของสปอร์ชนิดต่างๆ ที่เปลี่ยนแปลงไป

- เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น 2554 สิ้นสุด 2555

สถานที่ สวนผลไม้ สวนทุเรียน

ห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเก็บ รวบรวมตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนและการแยกเชื้อสาเหตุ

ผลการเก็บและรวบรวมตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนระหว่าง ตุลาคม 2553 - กันยายน 2555 พบโรคพืชที่มีสาเหตุจากรา *Phytophthora* spp. แยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้รา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนจากจังหวัดจันทบุรี 3 ไอโซเลท ระยอง 1 ไอโซเลท และนครศรีธรรมราช 2 ไอโซเลท ตัวอย่างดินจากสวนทุเรียนจันทบุรี 2 ไอโซเลท นครศรีธรรมราช 2 ไอโซเลท รวม 10 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ไอโซเลท รา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน

ลำดับที่	ไอโซเลท	ส่วนของพืช	แหล่งปลูกที่เก็บตัวอย่าง
1.	54[1] Du[2] CB[3] 6[4] S[5]	ลำต้น	อ.เมือง จังหวัดจันทบุรี
2.	54 Du CB 8 S	ลำต้น	อ.เขาคิชฌกูฏ จังหวัดจันทบุรี
4.	55 Du CB 9 So	ดินปลูก	อ.เขาคิชฌกูฏ จังหวัดจันทบุรี
3.	55 Du-CB 10 S	ลำต้น	79 ม.2 ต.อ่างคีรี อ.มะขาม จังหวัดจันทบุรี
5.	55 Du-CB 11 So	ดินปลูก	79 ม.2 ต.อ่างคีรี อ.มะขาม จังหวัดจันทบุรี

6.	55-Du-RY 4 S	ลำต้น	บ้านพงตาเฮียบ อ.วังจันทร์ จังหวัดระยอง
7.	54 Du NST 8 S	ลำต้น	อ.ท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช
8.	54 Du NST 9 So	ดินปลูก	อ.ท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช
9.	54 Du NST 10 So	ลำต้น	อ.นบพิตำ จังหวัดนครศรีธรรมราช
10.	54 Du NST 11 So	ดินปลูก	อ.นบพิตำ จังหวัดนครศรีธรรมราช

หมายเหตุ

[1] ตัวเลข 2 ตัวแรก = ปี พ.ศ. ที่แยกรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

[2] อักษร 2 ตัวแรก Du = รา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน

[3] อักษร 2/3 ตัวถัดมา = อักษรย่อชื่อจังหวัดภาษาอังกฤษที่เก็บไอโซเลทเชื้อ

CB = จันทบุรี (Chanthaburi)

RY = ระยอง (RaYong)

NST = นครศรีธรรมราช (Nakhon Si Thammarat)

[4] ตัวเลข = ไอโซเลทของเชื้อที่เก็บได้ในจังหวัดนั้น

[5] อักษร 1 ตัวหลัง = ส่วนของพืชที่แยกเชื้อสาเหตุได้

S = ลำต้น (Stem)

So = ดิน (Soil)

เช่น 54[1] Du[2] CB[3] 6[4] S[5] คือ รา *palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนจาก จังหวัดจันทบุรี ไอโซเลทที่ 6 แยกได้จากลำต้น

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนและการเกิดโรค

โรครากเน่า-โคนเน่า เป็นโรคที่ทำความเสียหายและสร้างปัญหาใหญ่ในการปลูกแก่ทุกสวนทุเรียน บางสวนต้นทุเรียนเป็นโรคนี้เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ หรือหมดทั้งสวน และบางสวนต้นทุเรียนกำลังค่อยๆ ตายลง อาการส่วนบนของลำต้น พบว่าใบสลดไม่เป็นมัน เหลืองและเริ่มร่วง ที่บริเวณโคนต้นแสดงอาการเป็นจุดสีดำ เปลือกเน่ามีสีน้ำตาล บางต้นมีน้ำเยิ้มๆ สีน้ำตาลอมชมพูเป็นหยดออกมา เมื่อถากบริเวณดังกล่าวจะพบว่าเนื้อไม้เริ่มเน่ามีสีน้ำตาล หรือสีน้ำตาลเข้ม ตัดกับส่วนดี บางต้นพบมอดเข้าทำลายเปลือกร่วมด้วย ต้นที่เพิ่งเริ่มเป็นโรคจะแสดงอาการเพียงด้านเดียว หากไม่ได้รับการรักษา โรคจะค่อยๆ ขยายลุกลามจนรอบโคนต้น ทำให้ใบเหลือง และใบร่วงหมดต้น ยืนต้นแห้งตายในเวลาต่อมา แต่บางต้นมีอาการทรุดโทรมโดยไม่พบอาการของโคนลำต้นเน่าเลย ในกรณีนี้แสดงว่ารากของทุเรียนได้รับความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อรา ทำให้เกิดอาการรากเน่า ทั้งราก

ใหญ่โคนต้น รากแขนงเล็กๆ และรากฝอยที่อยู่ใกล้ผิวดิน จนรากไม่สามารถทำหน้าที่ดูดซับแร่ธาตุอาหาร และน้ำไปหล่อเลี้ยงส่วนบนของทุเรียนได้ ต้นทุเรียนจึงแสดงอาการทรุดโทรมมากขึ้น และจะตายในที่สุด

ลักษณะอาการเน่าของทุเรียน มีชื่อเรียกตามส่วนต่างๆ ที่เกิดโรค คือ โรครากเน่า-โคนเน่า ลำต้นเน่า และผลเน่า

นอกจากพบต้นทุเรียนที่มีอาการรากเน่า-โคนเน่า และกิ่งเน่าแล้ว ยังพบโรคผลเน่าของทุเรียนด้วย ผลทุเรียนแก่ใกล้เก็บเกี่ยวที่อยู่บนต้นทุเรียนมีอาการเน่าเป็นจุดสีน้ำตาล บางผลที่แผลขยายใหญ่ขึ้น ทำให้ผลร่วง บางผลที่แก่จัด แผลเป็นจุดเน่าสีน้ำตาลและแตก ชาวสวนมักปล่อยให้ผลที่เน่ากองอยู่บนพื้นดินบริเวณใต้ต้นทุเรียนนั้นเอง หรือบางสวนนำไปกองสุมกันไว้บนเนินดิน ซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่สมควรกระทำเป็นอย่างยิ่ง เชื้อราสาเหตุของโรคยังคงเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และสะสมอย่างมากมายในบริเวณนั้น นอกจากนี้สภาพพื้นที่โดยทั่วไปของสวนทุเรียนมักปลูกบนเนินเขา หรือบางสวนปลูกในที่ราบบนภูเขา และมักเกิดน้ำท่วมขังแทบทุกปี เป็นการเอื้ออำนวยให้สปอร์ชนิดที่ว่ายน้ำได้ของเชื้อโรคที่สะสมอยู่ เกิดการแพร่ระบาดได้อย่างดียิ่ง (อมรรัตน์ และทวี, 2545)

ราสาเหตุของโรคมีชีวิตอยู่ในดิน ได้เป็นเวลานาน หรืออยู่ในพืชอาศัยอื่น ในวงจรชีวิตมีการสร้างสปอร์ถึง 4 ชนิด คือ สปอร์แรนเจียม ซูสปอร์ คลามายโดสปอร์ และ โอโอสปอร์ สปอร์แต่ละชนิดมีความสำคัญ และทำหน้าที่แตกต่างกันไป เชื้อราแพร่ระบาดทำลายราก และลุกลามสู่โคนต้น ในสภาพดินที่มีการระบายน้ำไม่ดี มีน้ำขัง ทำให้ดินมีความชื้น และแฉะอยู่ตลอดเวลา และในสภาพที่มีฝนตกชุก และอากาศมีความชุ่มชื้นสูง เป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะกับการเจริญของเชื้อสาเหตุ มีการสร้างเส้นใยสีขาว พร้อมทั้งสร้างถุงบรรจุสปอร์เรียกว่าสปอร์แรนเจียม ภายในถุงนี้สร้างสปอร์ชนิดที่ว่ายน้ำได้เรียกว่า ซูสปอร์ เป็นจำนวนมาก เมื่อมีฝนตกสปอร์ที่ว่ายน้ำได้นี้จะติดไปกับหยดน้ำฝนที่กระเซ็นหรือไหลตามน้ำฝน หรือแพร่ระบาดทางลม เชื้ออาจติดไปกับดิน น้ำ และซากส่วนที่เป็นโรค เข้าทำลายใบและลุกลามสู่กิ่งและผล เป็นรุนแรงกับทุเรียนหลายพันธุ์ เช่น หมอนทอง กระดุมทอง อีลวง ชะนี ก้านยาว กบสุวรรณ เป็นต้น

3.การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของ รา *Phytophthora* sp. โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

3.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ของเชื้อ

ราสร้างเส้นใยไม่มีผนังกั้น และสร้างสปอร์แรนเจียมที่มีปาปิลาที่ปลายเด่นชัด เมื่อสปอร์แรนเจียมแก่จะหลุดจากก้านชูสปอร์ พร้อมมีก้านสปอร์สั้นๆ ติดอยู่ สปอร์แรนเจียมมีรูปร่าง รีๆ ราสร้างสปอร์ผนังหนา ในอาหารวุ้นแครอท และอาหารวุ้นมันฝรั่งจำนวนมาก รูปร่างและขนาดของสปอร์แรนเจียมอาจมีความแตกต่างกันไปบ้างเล็กน้อยตามพืชแต่ละชนิดที่ราเข้าทำลาย

3.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา

การศึกษาลักษณะ รูปร่างและขนาดของ sporangium ของเชื้อ พบว่าเชื้อสร้าง sporangia จำนวนมากบนผิวอาหารวุ้นแครอท มีหลายรูปแบบ รูปร่างรี หรือรูปไข่ (ovoid) รูปค่อนข้างยาว (Elongated ellipsoid) มี papilla เด่นชัด (Papillate) การแตกกิ่ง (Branching) ของก้านสปอร์

(Sporangiophore) เป็นแบบ Simple sympodium ฐาน sporangia ส่วนที่ติดอยู่กับก้านแคบลงเล็กน้อย สปอร์หลุดจากก้านสปอร์ได้ง่ายเมื่ออายุมาก การหลุดจากก้านของ sporangia (Caducity) มีก้านที่ติดมากับสปอร์ (Pedicel หรือ Stalk) สั้น ความยาว 2.5 μm sporangium ขนาดแตกต่างกัน มีขนาดเฉลี่ย 54.51 x 33.54 μm อัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของ sporangia เฉลี่ย 1.64 พบว่าเชื้อสร้าง คลามายโดสปอร์ จำนวนมาก มีรูปร่างค่อนข้างกลม พบเกิดปลายเส้นใย (Terminal) และระหว่างเส้นใย (Intercalary) เกิดมากในที่มืด มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 36.16 x 37.22 μm หรือ 37 μm

3.3 ศึกษา แบบคู่ผสม (Mating type) ของรา

ศึกษาแบบคู่ผสมของเชื้อ พบว่ารา P. *palmivora* ทุกไอโซเลท ในวงจรชีวิตของการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ เป็น Heterothallic การเกิด Oospores ได้จากการผสมกันของเชื้อราต่างแบบคู่ผสมที่เข้ากันได้ เป็น แบบคู่ผสม A1 ตำแหน่งของ Antheridia บนผิวของ Oogonium เป็นแบบ Amphigynous antheridium คือติดที่ฐานของ Oogonia ซึ่งมีขนาดเล็ก เฉลี่ย 26.90 x 26.21 μm หรือเฉลี่ย 27 μm ผิวผนัง Oogonium เรียบ รูปร่างกลม Oospore ผนังหนา มีขนาดเฉลี่ย 23.34 - 22.14 μm หรือเฉลี่ย 23 μm อยู่ใน Oogonia พบทั้งแบบเต็มและแบบหลวมภายใน Oogonia Antheridia มีรูปร่างหลายแบบ แบบสี่เหลี่ยมจัตุรัส แบบยาว แบบรูปไข่โคนแหลม และแบบรูปไข่โคนมน มีขนาดเฉลี่ย 13.65 x 14.06 μm หรือเฉลี่ย 14 μm ซึ่งทุกไอโซเลทมีขนาดใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกันมากนัก เชื้อทุกไอโซเลทสร้าง Oogonia, Antheridia และ Oospores ใส ไม่มีสี

จากผลการศึกษา ลักษณะการเจริญ ลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์ต่างๆ (Sporangium, Chlamydospores, Oogonia, Antheridia และ Oospores) ของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าและผลเน่าทุเรียนไอโซเลทต่างๆ พบว่าเชื้อราดังกล่าวมีลักษณะตรงกับคู่มือการจำแนกชนิด *Phytophthora* ของ Stamps et al. (1990) (ตารางภาคผนวก-TABLE 1) เชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าและผลเน่าทุเรียนทุกไอโซเลทที่ศึกษา คือเชื้อรา *P. palmivora* หรือ *P. p. palmivora* (Erwin and Ribeiro, 1996)

4. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ โดยวิธีการทำสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture)

ผลการทำเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture) ของรา *Phytophthora* ที่แยกได้ เพื่อหาลักษณะการเจริญของเส□นใยบนอาหารวุ้นมันฝรั่ง และอาหารวุ้น แครอท ทำให□ได□เชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช□ในงานทดลอง พบว□าลักษณะการเจริญของเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์เดี่ยว เหมือนกับที่แยกได□จากทีเรียนที่เป□นโรคโดยตรงทุกประการ

การทำเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์แรงเจียมเดี่ยว เป□นวิธีการที่ทำได□ง□ายกว□า การทำเชื้อบริสุทธิ์จากซูสปอร์เดี่ยว (Single zoospore) เนื่องจาก *Phytophthora* ที่แยกได□ มีการผลิต หรือสร□าง สปอร์แรนเจียบนผิวอาหารแข็ง โดยเฉพาะบนอาหารวุ้นแครอท และ สปอร์แรนเจีย ที่สร□างบนอาหารวุ้นแครอท หลุดจากก

□านชูสปอร□ได□ง□ายและมีก□านสปอร□ยาวอยู□ด□วย ซึ่งตรงกับการทดลองของ Kaosiri et al. (1980) ที่แยก สปอร์แรงเจียมเดี่ยว จากรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าของโกโก้

5. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้

ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ รา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่แยกได้ พบว□ารา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได□ ภายหลังการปลูกเชื้อนาน 5 วัน ทำให□ใบทุเรียนระยะเพสลาดเป□นโรค แสดงอาการแผลเน□าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้ง ด□านหลังใบและท□องใบ หลังจากนั้น แผลจะลุกลามไปตาม เส□นใบ มีขนาด และรูปร□างไม□แน□นอน แต□ขยายขึ้นไปตามความยาวของใบมากกว□าความกว□าง

การทดสอบความสามารถทำให□เกิดโรคโดยใช□ใบทุเรียนครั้งนี้ ได□ผลการทดลองเช□นเดียวกับการทดลองของ อมรรัตน□และคณะ (2546) ที่ได□ทดสอบความสามารถในการทำให□เกิดโรคของรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน□าโคนเน□าทุเรียนที่แยกได□จากแต□ละพื้นที่ปลูก ทดสอบโดยวิธีเด็ดใบภายหลังการปลูกเชื้อโดยการทำแผลเป□นเวลา 3-5 วัน ทำให□ใบทุเรียนพันธุ□หมอนทอง ระยะเพสลาด เป□นโรค และได้ผลดีเช่นเดียวกับ การทดลองของ อมรรัตน์และคณะ (2553) ที่ทดสอบปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ พบว□าเป□นวิธีการที่เหมาะสม สามารถทดสอบหาพันธุ์/สายพันธุ์หน้าวัวได้เป็นจำนวนมาก ดังนั้นการทดสอบความสามารถในการทำให□เกิดโรคควรทำการทดสอบโดยการใช□วิธีเด็ดใบซึ่งเป□นวิธีการที่สะดวกและประหยัดเวลาในการศึกษาได□มาก

6. ผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ต่อการเจริญของ รา *P. palmivora*

6.1 ผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ต่อการเจริญของเส้นใย (ตารางที่ 2)

พบว่า เมื่ออายุ 5 วัน รา *P. palmivora* ไอโซเลท 54 Du CB 6 S เจริญบนอาหารวุ้นมันฝรั่งที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ความเข้มข้น 10 และ 100 ppm. ได้ดี เท่ากับเจริญบนอาหารวุ้นมันฝรั่งที่ไม่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ซึ่งเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี เท่ากับ 90.00 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเจริญบนอาหารวุ้นมันฝรั่งที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ความเข้มข้น 1,000 และ 10,000 ppm. ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี เท่ากับ 54.75 และ 12.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ

เมื่ออายุ 5 วัน รา *P. palmivora* ไอโซเลท 54 Du NST 8 S เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ บนอาหารวุ้นมันที่ไม่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเจริญบนอาหารวุ้นมันฝรั่งที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ที่ความเข้มข้น 10 ppm. ที่เชื้อเจริญ 85.65 มิลลิเมตร แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเจริญบนอาหารวุ้นมันฝรั่งที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ที่ความเข้มข้น 100 และ1,000 ppm. เชื้อเจริญ 78.56 และ 54.75

มิลลิเมตร ตามลำดับ รา *P. palmivora* ไอโซเลท 54 Du NST 8 S ไม่เจริญบนอาหารวุ้นมันฝรั่งที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm.

เมื่ออายุ 5 วัน รา *P. palmivora* ไอโซเลท 54 Du NST 9 So เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อบนอาหารวุ้นมันฝรั่งที่ไม่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับการเจริญบนอาหารวุ้นมันฝรั่งกรรมวิธีอื่นๆ ที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ที่ความเข้มข้น 10 และ 100 ppm. เชื้อเจริญ 10.60 และ 10.15 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ราไม่เจริญบนอาหารวุ้นมันฝรั่งที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ที่ความเข้มข้น 1000 และ 10,000 ppm.

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตเส้นใยของ รา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนไอโซเลทต่างๆ บนอาหารวุ้นมันฝรั่งที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ความเข้มข้นต่างๆ กัน

ความเข้มข้นของ metalaxyl	**ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (มิลลิเมตร)**		
(ppm.)	**54 Du CB 6 S**	**54 Du NST 8 S**	**54 Du NST 9 So**
10	90.00 c[1]	85.65 d	10.60 b
100	90.00 c	78.56 c	10.15 b
1,000	54.75 b	54.75 b	00.00 a
10,000	12.00 a	00.00 a	00.00 a
0 (control)	90.00 c	90.00 d	90.00 c
C.V (%)	6.00	5.8	9.2

[1] ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจาก 10 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ผลการทดลอง พบว่า ราไอโซเลท 54 Du NST 9 So ซึ่งแยกได้จากดิน เจริญบนอาหารที่ผสม metalaxyl ความเข้มข้น 10 และ 1,00 ppm. 10.60 และ 10.15 มิลลิเมตร ตามลำดับ แตกต่างจาก ราไอโซเลท 54 Du CB 6 S และ 54 Du NST 8 S ที่เจริญเต็มและเกือบเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้น 10 และ 1,00 ppm.ไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมราไอโซเลท 54 Du CB 6 S และ 54 Du NST 8 S ได้

6.2 ผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ต่อการสร้างสปอร์ชนิดต่างๆ

ผลการทดลอง พบว่า ราทุกไอโซเลทสร้างสปอร์แรนเจีย และ คลามายโดสปอร์ ลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารเคมีที่เพิ่มขึ้น ไม่พบการสร้างสปอร์แรนเจีย ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm.

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอนะ

ผลการเก็บรวบรวมตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนระหว่าง ตุลาคม 2553 - กันยายน 2555 แยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้ตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนซึ่งแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้รา *P. palmivora* จากจังหวัดจันทบุรี 3 ไอโซเลท ระยอง 1 ไอโซเลท และนครศรีธรรมราช 2 ไอโซเลท ตัวอย่างดินจากสวนทุเรียนจันทบุรีและนครศรีธรรมราช จังหวัดละ 2 ไอโซเลท รวม 10 ไอโซเลท

โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนทำให้เกิดอาการ ใบสลดไม่เป็นมัน เหลืองและร่วง เปลือกโคนต้นเน่า มีสีน้ำตาล มีน้ำเยิ้มสีน้ำตาลอมชมพูเป็นหยดออกมา เมื่อถากบริเวณดังกล่าวพบเนื้อไม้มีสีน้ำตาล หรือสีน้ำตาลเข้มตัดกับส่วนดี บางต้นพบอาการรากเน่า ไม่สามารถทำหน้าที่ดูดซับแร่ธาตุอาหาร และน้ำไปหล่อเลี้ยงส่วนบนของทุเรียนได้ ต้นทุเรียนจึงแสดงอาการทรุดโทรมมากขึ้น และจะตายในที่สุด พบโรคผลเน่าของทุเรียน แก่ใกล้เก็บเกี่ยวที่อยู่บนต้นทุเรียนมีอาการเน่าเป็นจุดสีน้ำตาล แผลขยายใหญ่ขึ้น ทำให้ผลร่วง บางผลที่แก่จัด แผลเป็นจุดเน่าสีน้ำตาลและแตก ราสร้างเส้นใยไม่มีผนังกั้น และสร้างสปอร์แรนเจียมที่มีปาปิลาที่ปลายเด่นชัด เมื่อสปอร์แรนเจียมแก่จะหลุดจากก้านชูสปอร์ พร้อมมีก้านสปอร์สั้นๆ ติดอยู่ ราทุกไอโซเลทมี แบบคู่ผสม เป็น A1

สารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ความเข้มข้น 10 และ 1,00 ppm.ไม่สามารถควบคุมการเจริญเส้นใยของราไอโซเลท 54 Du CB 6 S และ 54 Du NST 8 S ได้ ราทุกไอโซเลทสร้างสปอร์แรนเจีย และ คลามายโดสปอร์ ลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารเคมีที่เพิ่มขึ้น ไม่พบการสร้างสปอร์แรนเจีย ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm.

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สำหรับให้คำแนะนำแก่เกษตรกร ว่าสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl ยังคงมีประสิทธิภาพในการในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนที่มีสาเหตุจาก รา *P. palmivora* ได้ดี
2. เขียนเอกสารเผยแพร่

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2556. เอกสารวิชาการ รา ไฟทอปธอรา สาเหตุโรคพืชในประเทศไทย *Phytophthora* Fungi Causing Plant Diseases in Thailand. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรและสหกรณ์. 148 หน้า.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2556. เอกสารวิชาการ "พืชที่เป็นโรคไฟทอปธอรา" สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรและสหกรณ์. 178 หน้า.

11. เอกสารอ้างอิง

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และทวี เก่าศิริ. 2545. โรคเน่า.....ในสวนทุเรียน. กสิกร 75 (5) : 31-35.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และทวี เก่าศิริ. 2546. ความผันแปรใน *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. ทุเรียน : ลักษณะรูปร่างและแบบคู่ผสม. วารสารวิชาการเกษตร 21 (1) : 72-89.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พัชราภรณ์ ลีลาภิรมย์กุล ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และพจนา ตระกูลสุขรัตน์. 2553. การจัดการโรคราน้ำฝนของลำไย. (เอกสารกำลังจัดพิมพ์) เอกสารวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Erwin, D. C., and Ribeiro O. K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS Press, St. Paul., MN., USA. 562 p.

Kaosiri, T; G. A. Zentmyer and D. C. Erwin. 1978. Stalk length as a taxonomic criterion for *Phytopthora palmivora* isolates from cacao. Canadia Journal of Botany 56:1730-1738.

Kaosiri, T; G. A. Zentmyer and D. C. Erwin. 1980. Oospore morphology and germination in the *Phytopthora palmivora* complex from cacao. Mycologia 72:888-907.

Masago, H., M. Yoshikawa, M. Fukada and N. Nakanishi. 1977. Selection inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plants. Phytophthology 67 : 425 – 428.

Stamps, D.J., G. M. Waterhouse, F. J. Newhook and G. S. Hall. 1990. Revised Tabular Key to the Species of *Phytopthora*. Mycological Papers No. 162. CB. International Mycological Institute. 28 p.