



ผลของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp.
สาเหตุโรคมะเร็ง

Effect of copper nanoparticles on *Phytophthora* sp. and *Fusarium* spp.
causing durian diseases

นางสาวปนัดดา โป่งสันเทียะ

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช)
ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับที่...../.....
งานทะเบียนและประมวลผล

โครงการพิเศษปีการศึกษา 2564

ผลของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp.

สาเหตุโรคทุเรียน

Effect of copper nanoparticles on *Phytophthora* sp. and *Fusarium* spp.

causing durian diseases

นางสาวปนัดดา โป่งสันเทียะ

โครงการพิเศษนี้ นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
(เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช)

ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เห็นชอบ/รับรอง

P. Kongtragoul

(ผศ.ดร.พรประพา คงตระกูล)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
โครงการพิเศษนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งหากนำไปใช้

โครงการพิเศษปีการศึกษา 2564

ผลของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. สาเหตุโรคทุเรียน
Effect of copper nanoparticles on *Phytophthora* sp. and *Fusarium* spp. causing durian
diseases



โดย

นางสาวปนัดดา โป่งสันเทียะ

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.พรประพา คงตระกูล

เสนอ

หลักสูตรเทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช)
ปีการศึกษา 2564



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรื่อง / หัวข้อโครงการพิเศษ	: ผลของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. และ <i>Fusarium</i> spp. สาเหตุโรคทุเรียน
ผู้เขียน	: นางสาวปนัดดา โป่งสันเทียะ
ปริญญา	: วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช)
หลักสูตร	: เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช
ภาควิชา	: เทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษา	: ผศ.ดร.พรประพา คงตระกูล

บทคัดย่อ

ทุเรียนเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ปัญหาด้านโรคเป็นปัญหาสำคัญตลอดการผลิต งานวิจัยครั้งนี้จึงได้ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคทุเรียนจากแปลงปลูกในพื้นที่จังหวัดชุมพร เพื่อทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี tissue transplanting และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้เชื้อรา *Phytophthora* sp. และ เชื้อรา *Fusarium* spp. อย่างละ 4 ไอโซเลท เมื่อนำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้ง 8 ไอโซเลทด้วยอนุภาคนาโนทองแดงขนาด 100 นาโนเมตรที่ระดับความเข้มข้น 50, 100, และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ด้วยวิธี well diffusion วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ พบว่าอนุภาคนาโนทองแดงสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ได้ทุกไอโซเลท ปรากฏรัศมี clear zone ขนาดกว้างกว่าเชื้อรา *Fusarium* sp. ทั้งนี้พบว่าความกว้างของ clear zone เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของอนุภาคนาโนคอปเปอร์ โดยที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มี clear zone กว้างที่สุด คือ 8.84, 8.06, 6.68, 4.38 มิลลิเมตร ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท CLM2_S2, CLM2_S1, CLM1_S1, และ CLM1_S2 ตามลำดับ

คำสำคัญ : โรคทุเรียน, การควบคุมโรคพืช, อนุภาคนาโนทองแดง, *Phytophthora* sp., *Fusarium* spp.

Title : Effect of copper nanoparticles on *Phytophthora* sp. and *Fusarium* spp. causing durian diseases

Author : Miss. Panadda Pongsantia

Degree : Bachelor of Science (Management Technology for Plant Production)

Program : Management Technology for Plant Production

Department : Agricultural Technology

Advisor : Asst. Dr. Pornprapa Kongtragoul

Abstract

Durian is an important economic fruit of Thailand. Disease problems are a major problem throughout production. In this research, durian disease samples were collected from durian orchards in Chumphon province. The causative fungus was isolated by tissue transplanting, and morphological studies were obtained as 4 isolates of *Phytophthora* sp. and *Fusarium* spp. The copper nanoparticles with 100 nm at concentrations of 50, 100, and 200 mg/l have tested the inhibition of fungal growth of all isolates. They were compared with the control by well diffusion method with a Completely Randomized Design (CRD) of 4 replications. The result shows that copper nanoparticles could inhibit the mycelial growth of all isolates *Phytophthora* sp. The clear zone radius was wider than *Fusarium* sp. It was found that the width of the clear zone increased with the concentration of copper nanoparticles at 200 mg/l concentrations. The widest clear zone was 8.84, 8.06, 6.68, and 4.38 mm for *Phytophthora* sp. isolates CLM2_S2, CLM2_S1, CLM1_S1, and CLM1_S2 respectively.

Keywords: durian disease, plant disease control, Copper nanoparticle, *Phytophthora* sp., *Fusarium* spp.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.พรประพา คงตระกูล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่เสียสละเวลา แรงกาย แรงใจ ให้คำแนะนำปรึกษาและแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทำโครงการพิเศษ ตลอดจนชี้แนะข้อบกพร่องในการจัดทำโครงการพิเศษและกราบขอบพระคุณอาจารย์ประจำหลักสูตรเทคโนโลยีการจัดการผลิตพืชที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำตลอดจนอบรมสั่งสอนข้าพเจ้ามาโดยตลอดขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ หลักสูตรเทคโนโลยีการจัดการผลิตพืชทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือให้กำลังใจจนทำให้โครงการพิเศษนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

สุดท้ายข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา บุคคลในครอบครัว ที่ได้ให้การสนับสนุนทั้งกำลังกายกำลังใจในการศึกษาและการทำโครงการพิเศษจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ปนัดดา โป่งสันเทียะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร	3
2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของทุเรียน	3
2.2 โรคของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp.	4
2.3 โรคของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp.	6
2.4 อนุภาคนาโนทองแดง (Copper nanoparticles)	7
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง	10
3.1 เก็บรวบรวมและแยกเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. และ <i>Fusarium</i> spp. สาเหตุโรคทุเรียน	10
3.2 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp.	11
3.3 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp.	12
3.4 ประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. และ <i>Fusarium</i> spp. ในสภาพห้องปฏิบัติการ	13
บทที่ 4 ผลการทดลอง	14
4.1 ตัวอย่างและการแยกเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. จากทุเรียน	14
4.2 ตัวอย่างและการแยกเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp. จากทุเรียน	16
4.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp.	18
4.4 ลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp.	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.5 ฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. และ <i>Fusarium</i> spp.	22
บทที่ 5 วิจัยรณัผลการทดลอง	25
5.1 การแยกและรวบรวมเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. จากทุเรียน	25
5.2 การแยกและรวบรวมเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp. จากทุเรียน	25
5.3 การประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. และ <i>Fusarium</i> spp.	26
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	29
เอกสารอ้างอิง	30
ประวัติผู้แต่ง	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 PAR(PH) – V8 agar mixed Selective medium: For <i>Phytophthora</i> species.	11
4.1 List of location details and condition in Rab Ro Sub-district, Tha Sae District, Chumphon Province. (<i>Phytophthora</i> sp.)	12
4.2 List of <i>Phytophthora</i> sp. Isolates from each location	13
4.3 List of location details and condition in Rab Ro Sub-district, Tha Sae District, Chumphon Province. (<i>Fusarium</i> spp.)	14
4.4 List of <i>Fusarium</i> spp. Isolates from each location	15
4.5 Morphology characterization of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates causing durian disease.	16
4.6 Morphology characterization of <i>Fusarium</i> spp. isolates causing durian disease	18
4.7 The clear zone of <i>Phytophthora</i> sp.	21
4.8 The clear zone of <i>Phytophthora</i> sp. (Statistical analysis by Statistix v.8 and compared different means by LSD at p 0.01)	21
4.7 The clear zone of <i>Fusarium</i> spp.	23
4.8 The clear zone of <i>Fusarium</i> spp. (Statistical analysis by Statistix v.8 and compared different means by LSD at p 0.01)	23

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 Disease cycle of <i>Phytophthora</i> disease affecting the roots, bark, and fruit	5
2.2 <i>Fusarium</i> life cycle	6
2.3 Length scale to compare NP dimensions to the size of biological materials	7
2.4 Mechanism for antibacterial activity of copper nanoparticles	8
4.1 Symptoms of <i>Phytophthora</i> disease	13
4.2 Symptoms of <i>Fusarium</i> disease	15
4.3 Morphology characterization of <i>Phytophthora</i> sp.	18
4.4 Morphology characterization of <i>Fusarium</i> spp.	20
4.5 The antifungal activity of CuNPs to <i>Phytophthora</i> sp.	23
4.6 The antifungal activity of CuNPs to <i>Fusarium</i> spp.	26

บทที่ 1

บทนำ

ทุเรียน (*Durio zibethinus* Murr.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ในปี 2564 ประเทศไทยมีผลผลิตทุเรียนสด 875,097,018 ตัน เพิ่มขึ้นจากปี 2563 ร้อยละ 40.94 และมีมูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นร้อยละ 66.39 ซึ่งเป็นผลมาจากการขยายพื้นที่เพาะปลูก (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) จากการวิเคราะห์อนาคตทุเรียนไทย ปัญหาด้านโรคทุเรียนยังคงเป็นจุดอ่อนในการแข่งขันทางการค้า (กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ, 2564) โดยปัญหาสำคัญมาจากเชื้อราซึ่งเป็นสาเหตุของโรค แพร่ระบาดทำความเสียหายให้กับแปลงทุเรียนทั่วทุกพื้นที่ของไทยตั้งแต่อดีต และในปัจจุบันกำลังทวีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น โดยเชื้อราที่สำคัญคือเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า (รัตยา และคณะ, 2563) ระยะเวลาเจริญเติบโต เนื่องจากเชื้อราสามารถปรับตัวเจริญเติบโตเข้ากับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี ทำให้เกิดเป็นแหล่งสะสมของเชื้อโรคพืช โดยเชื้อราเข้าทำลายทางรากและลูกกลมสู่โคนต้น ในสภาพดินที่มีการระบายน้ำไม่ดี มีความชื้นและแฉะอยู่ตลอดเวลา เป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* เชื้อราจะสามารถสร้างสปอร์จำนวนมาก แพร่ระบาดติดไปกับผืนหรือแพร่กระจายไปกับกระแสลมได้ ส่งผลให้เชื้อรา *P. palmivora* สามารถเข้าทำลายและแพร่ระบาดได้อย่างรวดเร็ว ยากต่อการป้องกัน (ทวี, 2543) และอีกหนึ่งเชื้อสาเหตุสำคัญ คือ เชื้อรา *Fusarium* spp. เป็นเชื้อราอีกสกุลหนึ่งที่มีข้อสงสัยในการก่อให้เกิดโรครากแห้ง พบมีรายงานเป็นเชื้อราสาเหตุโรค (plant pathogenic fungi) และเชื้อราที่เข้าทำลายซ้ำเติม (secondary fungal infection agent) จึงทำให้ข้อมูลการศึกษาการก่อโรคของเชื้อรานี้ในทุเรียนยังไม่ชัดเจนเท่าที่ควร อย่างไรก็ตามเชื้อรา *Fusarium* spp. ส่วนมากพบเป็น soil borne fungi เข้าทำลายพืชบริเวณที่อยู่เหนือดิน และลำต้นใต้ดินสามารถแพร่กระจายได้ทุกพื้นที่ทั่วโลก ทั้งในเขตอบอุ่น เขตร้อนชื้น และเขตกึ่งร้อน (Booth, 1971; Nelson et al., 1983) เชื้อราทั้งสองชนิดนี้จึงเป็นปัญหาที่สำคัญของเกษตรกร ปัจจุบันมีการใช้สารทดแทนสารเคมี โดยการพัฒนาอีกรูปแบบหนึ่ง คือการนำไวรัสดุนาโนมาประยุกต์ใช้ ซึ่งเป็นอนุภาคที่มีขนาดเล็ก อยู่ในช่วง 1-100 นาโนเมตร มีคุณสมบัติทางเคมี และทางกายภาพที่พิเศษแตกต่างไปจากอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ เนื่องจากขนาดอนุภาคที่เล็กส่งผลให้มีพื้นที่ ผิวสัมผัสที่สูงจึงสามารถเกิดปฏิกิริยาที่พื้นผิวได้ดี (Wang et al., 2006) หนึ่งในอนุภาคนาโนที่ใช้งานได้หลายสาขา คืออนุภาคนาโนทองแดง เนื่องจากมีต้นทุนในการสังเคราะห์ที่ต่ำ และมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อรา (I.-M. Chung et al., 2017)

อนุภาคนาโนทองแดงจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ เพื่อลดความเสี่ยงจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเก็บรวบรวม แยกและจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. สาเหตุโรคทุเรียน

2. เพื่อประเมินประสิทธิภาพของนาโนทองแดง ในการควบคุมโรค *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. สาเหตุโรคทุเรียน ในสภาพห้องปฏิบัติการ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของทุเรียน

ประเทศไทยเป็นประเทศผู้ผลิตและส่งออกทุเรียนรายใหญ่ของโลก ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกทุเรียนทั้งหมดประมาณ 1,069,668 ไร่ โดยในปี พ.ศ. 2564 มีการส่งออกทุเรียน แบ่งเป็น 4 ประเภท ดังนี้ ทุเรียนสด 875,097,018 ตัน มูลค่า 109,205,936,124 บาท , ทุเรียนแช่แข็ง 50,047,960 ตัน มูลค่า 9,573,641,333 บาท, ทุเรียนกวน 351,211 ตัน มูลค่า 44,518,895 บาท และทุเรียนอบแห้ง 359,112 ตัน มูลค่า 335,866,167 บาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) ในบรรดาผลไม้ส่งออกทั้งหมดของไทยทุเรียนเป็นราชาผลไม้ที่สร้างรายได้ให้แก่ไทยสูงที่สุด ประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ฮองกง ไต้หวัน และประเทศอินโดนีเซีย และในอนาคตมีแนวโน้มที่จะขยายตลาดไปยัง ยุโรป สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น ภายหลังจากที่ประเทศไทยประสบความสำเร็จในการผลิตทุเรียนที่มีกลิ่นน้อยได้สำเร็จ พันธุ์ทุเรียนที่เกษตรกรนิยมปลูกมากที่สุดคือ พันธุ์หมอนทอง เนื่องจากสามารถขายในรูปของผลสดและส่ง โรงงานอุตสาหกรรมเพื่อทำทุเรียนทอดส่งออกได้ (มณีรัตน์, 2561) ปัจจุบันประเทศไทยส่งออกทุเรียนเป็นอันดับ 1 ของโลก และทุเรียนเป็นสินค้าที่ส่งออกมากที่สุดเป็นอันดับที่ 2 ของประเทศ โดยการส่งออกทุเรียนสดมีมูลค่ามากกว่าผลไม้อื่น ๆ มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557 ซึ่งการส่งออกในเดือนพฤษภาคมปี 2564 แต่ะมูลค่ารายเดือนสูงที่สุดในประวัติศาสตร์ แม้จะประสบปัญหาการแพร่ระบาดของโควิด-19 แต่การส่งออกทุเรียนสดของไทยกลับเติบโตสวนกระแส และมีแนวโน้มเติบโตทำสถิติใหม่อย่างต่อเนื่อง ซึ่งแรงสนับสนุนสำคัญมาจากการตอบรับของผู้บริโภคในตลาดโลก ปัจจุบันสาธารณรัฐประชาชนจีนเป็นประเทศผู้บริโภครายใหญ่ที่สุดของโลก หรือคิดเป็น 70% ของตลาดโลก ซึ่งเมื่อรวมตลาดฮ่องกงที่มีส่วนแบ่งเกือบ 20 % ทำให้จีนครองตลาดทุเรียนไปเกือบทั้งหมด (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2564)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 โรคของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp.

เชื้อ *Phytophthora* sp. นี้มีจุดกำเนิดอยู่บริเวณอเมริกาใต้ สามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจได้หลายชนิด เช่น กล้วยไม้ ไม้เนื้อแข็ง ยางพารา มะละกอ อะโวคาโด โกโก้ ทุเรียน พริกไทย กระเจี๊ยบ ละหุ่ง และ ปาล์ม เป็นต้น (Zentmyer, 1963; Tsai et al., 2006) สำหรับประเทศไทยมีรายงานพบเชื้อ *Phytophthora* sp. ระบาดครั้งแรกที่ อำเภอบางกรวย จังหวัด นนทบุรี (ยุพิน, 2534)

เชื้อรา *Phytophthora* sp. จัดจำแนกตาม Erwin and Ribeiro (1996) ดังนี้

Kingdom Chromista

Class Oomycetes

Order Peronosporales

Family Pythiaceae

Genus *Phytophthora*

เชื้อรา *Phytophthora* sp. สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศสร้าง sporangium รูปร่างแบน ovate หรือ elongate elliptical เมื่อแก่จะหลุดออกจากกัน ภายใน sporangium ผลิต zoospore ซึ่งมี 2 หาง (bi-flagellate) สามารถแพร่กระจายได้ง่ายโดยการว่ายน้ำหรือเคลื่อนที่เข้าทำลายพืชอาศัยได้โดยตรง ทั้งนี้ในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศยังสามารถสร้าง chlamydospores มีลักษณะเป็นทรงกลม ผนังเรียบ และบาง ที่บริเวณปลายเส้นใย (mycelium) (Suzui et al., 1979) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อชนิดนี้เป็นแบบ heterothallic ประกอบไปด้วย 2 mating types คือ A1 และ A2 oospore เกิดจากการผสมกันของ 2 mating types โดย antheridium และ oogonium ถูกสร้างขึ้นจากเส้นใยของแต่ละ mating type (Worral, 1999) oospore สามารถสร้าง zoospores 2 หางที่มีความยาวไม่เท่ากัน (Figure 1) การสร้าง zoospores เกิดจากการแบ่งตัวของ cytoplasm ภายใน sporangia สำหรับ zoospores ไม่มี cell wall แต่มี plasma-membrane เมื่อ zoospores ว่ายน้ำหรือเคลื่อนที่ไปพบพืชอาศัย จากนั้นจะปลดหางทิ้งพร้อมกับมีการสร้าง cell wall ที่มี ส่วนประกอบของ cellulose อย่างรวดเร็ว สปอร์ดังกล่าวพร้อมที่จะงอกเส้นใยเข้าทำลายพืชได้โดยตรง (Figure 2.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

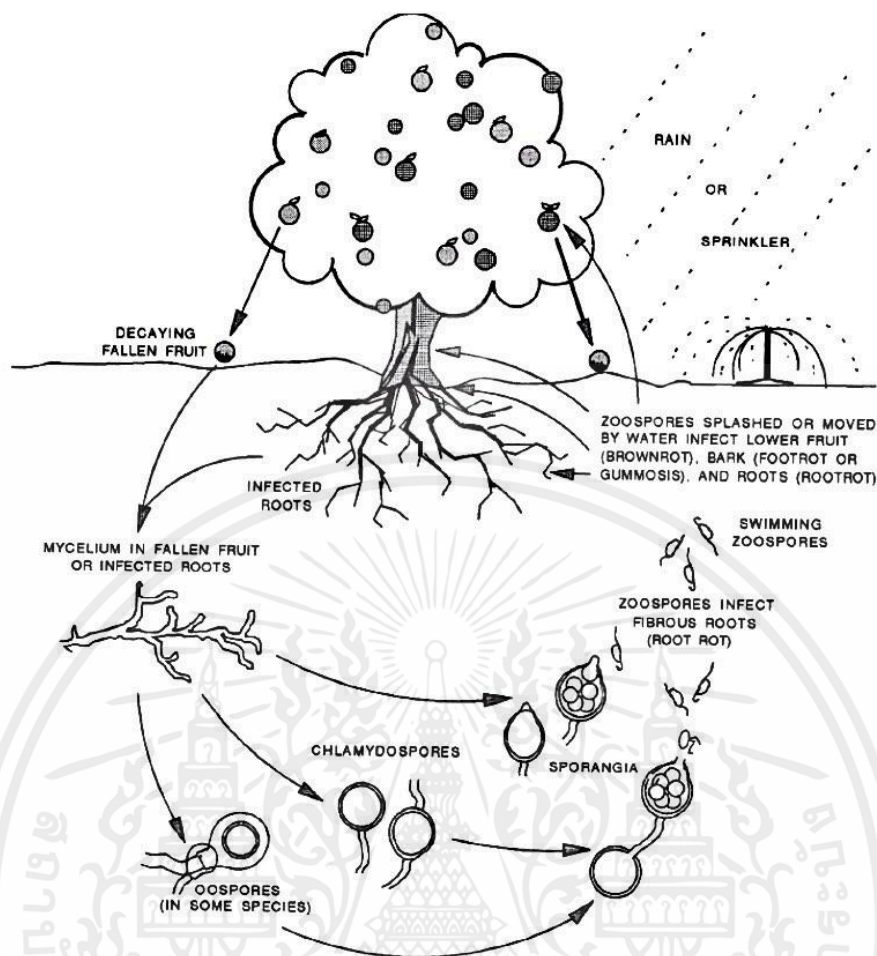


Figure 2.1 Disease cycle of *Phytophthora* disease affecting the roots, bark, and fruit

(Source: Timmer and Duncan 1999)

โรคที่สร้างความเสียหายต่อทุเรียนอย่างรุนแรงและเป็นปัญหาของเกษตรกรมาอย่างยาวนานคือ “โรครากเน่าโคนเน่า” ที่มีสาเหตุเกิดจาก เชื้อรา *Phytophthora palmivora* โดยเชื้อรา เหล่านี้อาศัยอยู่ในดิน แพร่กระจายโดยการปล่อยสปอร์ซึ่งสามารถเคลื่อนที่ในน้ำได้ เข้าทำลายรากหรือลำต้นของทุเรียน (Suksiri et al., 2018) ทำให้ลำต้นและรากมียางไหล เมื่อสังเกตลักษณะของพุ่ม พบใบของทุเรียนมีสีเขียวสลับเหลือง ร่วง และแห้งตายจากยอดเข้าสู่ลำต้นอาจเกิดเฉพาะกิ่งหรือทั้งต้น หากเชื้อเข้าทำลายต้นทุเรียนในระยะออกดอก จะส่งผลทำให้ดอกผสมเกสรไม่ติดและดอกร่วง มักระบาดในช่วงฤดูฝนเป็นส่วนใหญ่ (มานิตย์, 2553) หากเชื้อเข้าทำลายต้นทุเรียนในระยะติดผลตั้งแต่ระยะผลอ่อนไปจนถึงช่วงระยะการเก็บเกี่ยวซึ่งส่วนใหญ่จะเกิดในช่วงอายุก่อนเก็บเกี่ยว ประมาณ 1 เดือน ซึ่งมีผลกระทบโดยตรงต่อปริมาณการผลิต และคุณภาพของผลิตผล โดยเริ่มแรกเกิดจุดแผลขนาดเล็กสีน้ำตาลดำบนผล จุดแผลจะขยายใหญ่ลุกลามมากขึ้นตามการสุกของผล ในสภาพที่มีความชื้นสูงอาจพบเส้นใยสีขาวของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า พบอาการโรคได้ตั้งแต่ผลที่ยังอยู่บนต้น ซึ่งถ้าอาการรุนแรงมากผลจะเน่าร่วงหล่นก่อนกำหนด (กรมวิชาการเกษตร, 2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 โรคของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* spp.

เชื้อรา *Fusarium* spp. จัดจำแนกตาม (Ainsworth et al., 1971) ดังนี้

Kingdom Fungi

Phylum Ascomycota

Subphylum Pezizomycotina

Class Sordariomycetes

ราในสกุล *Fusarium* เป็นเชื้อราที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาก เชื้อราหลายชนิดในสกุลนี้เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับพืชมากมาย ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในดินสามารถมีชีวิตอยู่รอดในดินได้นานในรูปของสปอร์ผนังหนา หรือ chlamydospores (Lester et al., 1988) เชื้อรานี้สร้างเส้นใยมีผนังกัน ลักษณะ conidiophore เป็นก้านเดี่ยวหรือแตกแขนง มีการสร้าง sporodochium และ phialide macroconidium มีรูปร่างคล้ายเคียวหรือเสี้ยวพระจันทร์ (sickle-shaped) ลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดของเชื้อรา ได้แก่ macroconidium โดยเฉพาะรูปร่าง ขนาด foot cell และ apical cell microconidia มีขนาดเล็ก อาจมีหรือไม่มีผนังกันหรืออาจเกิดต่อกันเป็นลูกโซ่ เชื้อราสร้างสปอร์ผนังหนาหรือchlamydospore เกิดอยู่ในตำแหน่งปลายเส้นใย (terminal) หรือ กลางเส้นใย (intercalary) (Figure 2.2) (Gams et al., 1987) การสร้าง stroma หรือ sporodochium ไม่จัดเป็นลักษณะสำคัญในการจำแนกชนิดของ *Fusarium* แต่การสร้าง macroconidium รูปร่างเรียวยาวลักษณะโค้ง หัวท้ายแหลม (fusoid) และรูปร่างของ foot cell เป็นลักษณะสำคัญในการจำแนกราก *Fusarium* ออกจากรา *Cylindrocarpon* ซึ่งเป็นราที่มีรูปร่างลักษณะคล้ายกัน (Booth, 1971)

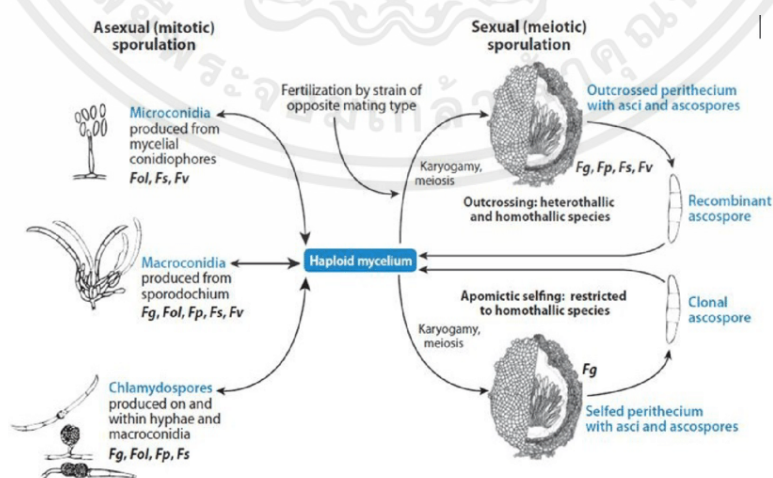


Figure 2.2 *Fusarium* Life Cycle (Source: Hasan, 2020)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายงานที่เกี่ยวข้องกับเชื้อรา *Fusarium* ในทุเรียนพบว่ามีความสอดคล้องกับข้อมูลของเชื้อราที่สามารถเป็นได้ทั้งราสาเหตุโรค และเชื้อเข้าทำลายซ้ำเติม เช่น รายงานของ วีระณีย์ (2560) ได้อธิบายถึงอาการ dieback ของทุเรียนที่มีอาการใบบิดเบี้ยว บริเวณปลายยอด และเมื่อสภาพอากาศร้อนส่งผลให้เกิดลักษณะไหม้ที่บริเวณปลายหรือขอบใบ จากนั้นใบจะร่วง กิ่งแห้ง และลามมายังส่วนล่างของกิ่ง หากอาการรุนแรง จะส่งผลให้ต้นทุเรียนโทรมและตายในที่สุด โดยการสันนิษฐานเบื้องต้นพบว่าอาจเกิดเชื้อรา *Fusarium* spp. โดยตรง หรือเกิดจากเพลี้ยไฟที่เข้าทำลายโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อนทำให้เกิดอาการใบบิดเบี้ยว และเกิดแผลทำให้เชื้อราเข้าทำลายซ้ำเติม หนึ่งในนั้นคือเชื้อรา *Fusarium* spp.

2.4 อนุภาคนาโนทองแดง (Copper nanoparticles, CuNPs)

อนุภาคนาโนเป็นวัสดุที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาจากกระบวนการทางนาโนเทคโนโลยี มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร (1-100นาโนเมตร) (Figure 3) เนื่องจากวัสดุมีอนุภาคขนาดเล็กจึงส่งผลให้สัดส่วนของจำนวนอะตอมที่อยู่บริเวณผิวหน้า และผิวสัมผัสของวัสดุเพิ่มขึ้นทำให้สมบัติทางไฟฟ้า สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางแม่เหล็ก และสมบัติทางแสงแตกต่างจากวัสดุมีขนาดใหญ่จึงทำให้นาโนเทคโนโลยีมีบทบาทต่อการดำเนินชีวิตของมนุษย์ในด้านการใช้ประโยชน์ต่าง ๆ มากขึ้นในปัจจุบัน (Gupta and Gogate, 2016) อนุภาคนาโนทองแดงเป็น Nanodots หรือ Nano powder เป็นอนุภาคโลหะพื้นผิวทรงกลมสีดำ อนุภาคนาโนทองแดงมีขนาด 10-30 นาโนเมตร ที่มีพื้นที่ผิวเฉพาะ (SSA) ในช่วง 30-70 ตารางเมตรต่อกรัม และยังมีพื้นที่ผิวจำเพาะประมาณ 5-10 ตารางเมตรต่อกรัม เมื่อมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 70-100 นาโนเมตร (Figure 2.3) (NNI, 2021)

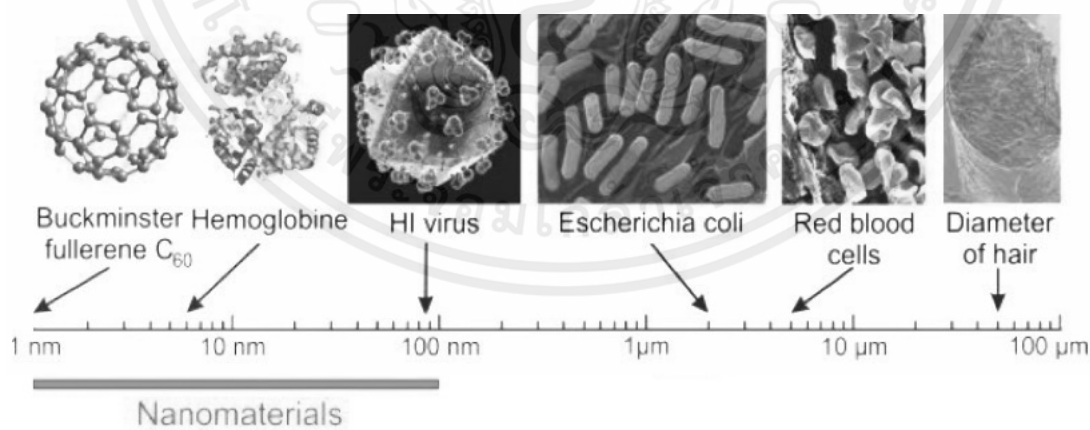


Figure 2.3 Length scale to compare NP dimensions to the size of biological materials

(Source : Wallyn *et al.* 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้ประโยชน์ในด้านเกษตรกรรมปัจจุบันมีรายงานว่าอนุภาคนาโนทองแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชได้หลายชนิด (Kanhed *et al.*, 2013) ซึ่งเข้าไปทำหน้าที่เป็น Nano sensor เพื่อตรวจจับเชื้อโรค และแบคทีเรียก่อโรค (Siddiqi and Husen, 2020) ซึ่งเมื่ออนุภาคนาโนทองแดงเจอกับเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจะเกิดการลดแรงศักย์ไฟฟ้าเคมีลง (Din *et al.*, 2017) อนุภาคนาโนทองแดงมีขนาดเล็กมากทำให้มีพื้นผิวมากที่จะสัมผัสกับเชื้อโรค สามารถติดอยู่บนพื้นผิวของเซลล์ และจะเข้าขัดขวางช่องทางเข้าของสารอาหาร ทำให้สารอาหารไม่สามารถเข้าไปเกิดอันตรกิริยาในเซลล์ได้ (Figure 2.4) ทำให้เซลล์ตาย หรืออาจเกิด reductive oxygen species หรือเป็นออกซิเจนปฏิกิริยาที่รวดเร็ว ซึ่งมีความสามารถในการออกซิไดซ์ได้สูงเมื่อเจอกับโปรตีน ทำให้โครงสร้างเดิมของเซลล์เกิดความเสียหายส่งผลให้เซลล์ทำงานไม่ได้ หรืออาจเข้าไปในเซลล์ไปขัดขวางกระบวนการ DNA (Makvandi *et al.*, 2019

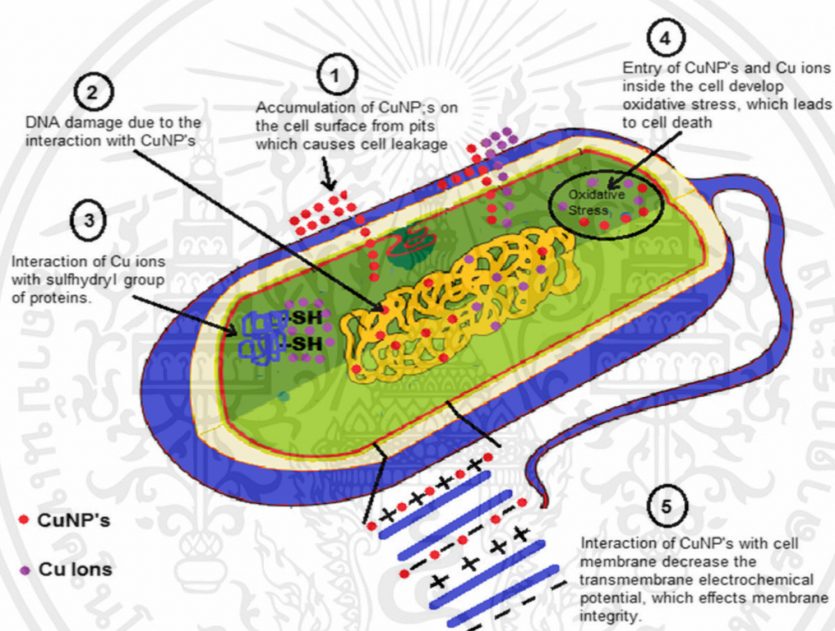


Figure 2.4 Mechanism for antibacterial activity of copper nanoparticles

(Source : Din *et al.* 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

(Montero et al., 2019) ได้มีการใช้วัสดุทองแดงที่แตกต่างกันเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของ Cu/Cu₂O-NPs ที่สังเคราะห์ในหลอดทดลองกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่ามีการยับยั้งการเจริญเติบโตตามแนวรัศมี (IGR) ในเปอร์เซ็นต์สูงด้วย NPs ซึ่งมี Cu₂O ในสัดส่วนที่สูงกว่า และอนุภาคที่มีขนาดค่อนข้างเล็กกว่า นอกจากนี้ทางสัณฐานวิทยาพบว่าเยื่อหุ้มเซลล์เชื้อราเกิดความเสียหาย และการผลิตออกซิเจนชนิดปฏิกิริยา (ROS) ซึ่งได้รับการประเมินด้วย SEM และกล้องจุลทรรศน์

(ณัฐภพ และปัฐวิภา, 2564) ได้ทำการประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคนาโน CuO และ ZnO ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าวจำนวน 2 ไอโซเลทโดยวิธี poisoned food ที่ความเข้มข้น 500 1,000 และ 1,500 ppm พบว่า สารเคมี CuO และ ZnO ขนาดอนุภาคน้อยกว่า 50 นาโนเมตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท และเมื่อทดสอบที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าอนุภาคนาโน CuO สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทได้ดีกว่าอนุภาคนาโน ZnO

(Pham et al., 2019) ได้ใช้อนุภาคนาโนทองแดงขนาด 53, 84, 120 และ 174 nm ที่สังเคราะห์ได้จากวิธีการ reduction และวัดขนาดอนุภาคผ่านไตกล้อง TEM ในการประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และ *Phytophthora capsici* โดยใช้วิธี disc diffusion ที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 15 ppm พบว่า ที่ขนาด 53 nm อนุภาคนาโนทองแดงสามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *F.oxysporum* และ *P.capsici* ได้ทุกไอโซเลท และเมื่อทดสอบที่ขนาดเดียวกันในความเข้มข้นที่ต่างกัน พบว่า อนุภาคนาโนทองแดงสามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *P.capsici* ได้ดีกว่าเชื้อรา *F.oxysporum*

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เก็บรวบรวมและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. สาเหตุโรคทุเรียน

เก็บตัวอย่างชิ้นส่วนของต้นทุเรียนที่คาดว่าเกิดจากเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. ในพื้นที่จังหวัดชุมพร

การเก็บข้อมูลการทดลอง

- บันทึกรายละเอียดตัวอย่างเชื้อรา
- บันทึกวัน/เดือน/ปี แหล่งที่พบ และพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS)
- ถ่ายภาพ

การแยกเชื้อ *Phytophthora* sp.

โดยใช้วิธี Tissue transplanting technique ตัดชิ้นพืชบริเวณแผลที่พืชโดนเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุ ให้มีขนาด 0.5×0.5 cm. ฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวโดยแช่ Clorox 10% ประมาณ 3-5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 3-5 นาที ซับด้วยกระดาษที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำชิ้นส่วนพืชไปวางบนอาหาร V8 agar ผสม Selective media เตรียมโดยแสดงตาม (Table 3.1) ภายในตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow clean bench) นำไปบ่มไว้ในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) 2-3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสังเกตเห็นเส้นใยของเชื้อราที่เจริญออกมาใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. ตัดบริเวณปลายเส้นใยที่เจริญออกมา วางบนอาหาร PDA (Potato dextrose agar) บ่มไว้ในตู้บ่มเชื้อ 2-3 วัน ใช้ cork borer ตัดบริเวณปลายเส้นใยเก็บไว้ใน PDA slant สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

เก็บข้อมูลการทดลอง

- จำนวนตัวอย่างโรคที่เก็บ
- จำนวนเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแยกเชื้อ *Fusarium* spp.

แยกเชื้อด้วยวิธี Tissue transplanting technique โดยตัดชิ้นส่วนพืชที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium* sp. ให้มีขนาด 0.5 × 0.5 cm. ฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวโดยแช่ sodium hypochlorite (Clorox 10%) ประมาณ 3-5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 3-5 นาที ซับด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำชิ้นส่วนพืชไปวางบนอาหาร water agar (WA) เมื่อสังเกตเห็นเส้นใยของเชื้อราที่เจริญออกมา ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดบริเวณปลายเส้นใยที่เจริญออกมา แล้ววางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และบ่มที่อุณหภูมิห้อง

เก็บข้อมูลการทดลอง

- จำนวนตัวอย่างโรคที่เก็บ
- จำนวนเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่แยกได้

3.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora* sp.

เลี้ยงเชื้อรา *Phytophthora* sp. โดยการเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (potato dextrose agar) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 cm. และใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm. ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบริเวณกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ และศึกษาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การเก็บข้อมูลการทดลอง

- ลักษณะโคโลนีเชื้อรา
- ตรวจสอบลักษณะเส้นใยและการสร้าง sporangium ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.3 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Fusarium spp.*

เลี้ยงเชื้อรา *Fusarium spp.* โดยการเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (potato dextrose agar) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 cm. และใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm. ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบริเวณกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ปมไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ และศึกษาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การเก็บข้อมูลการทดลอง

- ลักษณะโคโลนีเชื้อรา
- ตรวจสอบลักษณะเส้นใยและการสร้าง macroconidia และ microconidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Table 3.1 PAR(PH) – V8 agar mixed Selective medium : For *Phytophthora* species.

Ingredient	Amount per		A.I. Concentration (PPM)
	1.0 Liter	0.5 Liter	
Basal Medium			
*Clarified V8 Concetrate	50 ml	25 ml	
Distilled Water	950 ml	475 ml	
Difco Bacto Agar	15 g	7.5 g	
Amendments			
Delvocid [50% pimaricin]	10 mg = 0.01 g	5 mg	5
Sodium Ampicillin	250 mg = 0.25 g	125 mg	~ 250
Rifamycin-SV [sodium salt]	10 mg =0.01 g	5 mg	~ 10
**Terraclor [70% PCNB]	66.7 mg =0.0667 g	33.4 mg	50
**Hymexazol	50 mg = 0.05 g	25 mg	50
or**Tachiaren[70% Hymexazol]	71.4 mg =0.071 g	35.7 mg	50

* Clarified V8 Concentrate = Buffered V8 Juice [1.0 g CaCO₃/100 ml V8 Juice] clarified by :

- Centrifugation [400 RPM for 20 min] & filtration [2 layers of Whatman No. 1 with vacuum], or

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- spin @ 7000 rpm for 10 min then filtration is not necessary then, freeze at -20°C in 50- ml aliquots [e.g., in disposable 50- ml centrifuge tubes]

** PCNB and hymexazol are optional and can be omitted [e.g., to make PAR, PARP, & PARH]

- PCNB is particularly useful to inhibit soilborne fungi on soil dilution plates

- Hymexazol inhibits most *Pythium* spp. While allowing most *Phytophthora* spp. To grow

Sources : Jeffers and Martin (1986) and Ferguson and Jeffers (1999)

3.4 ประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ด้วยวิธี agar well diffusion ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ (Kaur et al., 2019) โดยการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 agar สำหรับทดสอบเชื้อ *Phytophthora* sp. อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สำหรับทดสอบเชื้อรา *Fusarium* spp. ทำการเจาะหลุมด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 ซม. จำนวน 4 หลุมลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยแต่ละหลุมมีเส้นรัศมีที่ 2 ซม. จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซม. เจาะเชื้อวางลงบนบริเวณจุดกึ่งกลางระหว่างหลุมทั้ง 4 หลุมทิ้งไว้เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นใช้สารละลายอนุภาคนาโนทองแดงขนาด 100 นาโนเมตรทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 50, 100, และ 200 ppm ตามลำดับ โดยใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายอนุภาคนาโนทองแดงที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หยอดลงในหลุมที่เจาะไว้ทั้ง 4 ด้าน ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3-5 วัน ตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียร์คาร์ลิเปอร์ (Vernier caliper) ในหน่วยมิลลิเมตร (mm) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ แล้วนำไปเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ clear zone ด้วยโปรแกรมทางสถิติ Statistix v.8 ด้วยวิธีการ LSD ที่ค่า p 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 เก็บรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อรา *Phytophthora* sp. จากทุเรียน

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียน ในพื้นที่ตำบลรั้ว อำเภอนาทะ จังหวัดชุมพร แสดงรายละเอียดใน Table 4.1 ที่คาดว่าเกิดจากเชื้อสาเหตุ *Phytophthora* sp. ซึ่งมีลักษณะอาการจากลำต้น และผลปรากฏจุดแผลฉ่ำน้ำ เปลือกอ่อนเน่าเป็นสีน้ำตาล เนื้อไม้ด้านในเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจนถึงสีตาลเข้ม (Figure 4.1 a) ลักษณะอาการที่ผลมีจุดแผลทั้งขนาดเล็ก และขนาดใหญ่ มีสีน้ำตาลปนเทาบนผล อาจพบ 1 หรือ 2 จุด หรือมากกว่านั้น และขยายใหญ่เป็นวงกลมหรือค่อนข้างรี ไปตามรูปร่างผล (Figure 4.1 b)

Table 4.1 List of location details and condition in Rab Ro Sub-district, Tha Sae District, Chumphon Province.

Famer name	GPS	Location code
Has Pongsantia	10° 44' 53.7'' N, 99° 05' 28.5'' E	CLM1
Boonchuay Lomklang	10° 46' 11.8'' N, 99° 02' 28.0'' E	CLM2



Figure 4.1 Symptoms of *Phytophthora* disease on (a) stem rot disease, (b) fruit rot disease.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยนำตัวอย่างมาทำการแยกด้วยวิธี Tissue transplanting technique จากตัวอย่างทุเรียนที่แสดงอาการโรครากเน่าโคนเน่า และโรคผลเน่า ที่เก็บภายในตำบลรั้ว อำเภอนาทะ จังหวัดชุมพรซึ่งตัวอย่างที่แยกได้จำนวน 4 ไอโซเลท โดยแบ่งออกเป็น CLM1 จำนวน 2 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากอาการบนลำต้นทุเรียน และ CLM2 จำนวน 2 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากอาการบนผลทุเรียน (Table 4.2) หลังจากนั้นนำไปทำการแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์สำหรับการทดลองครั้งต่อไป

Table 4.2 List of *Phytophthora* sp. Isolates from each location.

Location code	No. isolate	Tissue	
		Stem	Fruit
CLM1	2	2	-
CLM2	2	-	2

4.2 เก็บรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อรา *Fusarium* spp. จากทุเรียน

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียน ในพื้นที่ตำบลรั้ว อำเภอนาทะ จังหวัดชุมพร แสดงรายละเอียดใน Table 4.3 ที่คาดว่าเกิดจากเชื้อสาเหตุ *Fusarium* spp. ซึ่งมีลักษณะอาการแห้งจากบนลงล่าง (Figure 4.2 a) ใบบิดเบี้ยว และร่วงเริ่มจากบริเวณปลายยอด มีลักษณะไหม้ที่บริเวณปลายหรือขอบใบ และลามมายังส่วนล่างของกิ่ง (Figure 4.2 b)

Table 4.3 List of location details and condition in Rab Ro Sub-district, Tha Sae District, Chumphon Province.

Famer name	GPS	Location code
Noy Pongsantia	10° 46' 57.7" N, 99° 57' 40.9" E	FUM1
Manop Meesantia	10° 45' 42.2" N, 98° 56' 20.6" E	FUM2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



a

b

Figure 4.2 Symptoms of *Fusarium* disease on (a) stem, (b) top.

โดยนำตัวอย่างมาทำการแยกด้วยวิธี Tissue transplanting technique จากตัวอย่างทุเรียนที่แสดงอาการโรค dieback ที่เก็บภายในตำบลรือร้อ อำเภอกาบัง จังหวัดชุมพรซึ่งตัวอย่างที่แยกได้จำนวน 4 ไอโซเลต โดยแบ่งออกเป็น FUM1 จำนวน 2 ไอโซเลต ซึ่งแยกได้จากอาการบนลำต้นทุเรียน และ FUM2 จำนวน 2 ไอโซเลต ซึ่งแยกได้จากปลายยอดทุเรียน (Table 4.4) หลังจากนั้นนำไปทำการแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์สำหรับการทดลองครั้งต่อไป

Table 4.4 List of *Fusarium* spp. Isolates from each location.

Location code	No. isolate	Tissue	
		Stem	Top
FUM1	2	2	-
FUM2	2	-	2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากเชื้อที่แยกได้ 4 ไอโซเลท (Table 4.4) พบว่า เชื้อราทั้งหมดมีลักษณะโคโลนิบนอาหาร V8 agar ดังนี้ โคโลนิที่มีสีขาวเป็นเส้นใยสีขาวบาง ๆ (Figure 4.3 a) เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 85 mm. ประมาณ 5-7 วัน จากนั้นหยดน้ำกลั่นหนึ่งหยดเชื้อ 1 หยด ใช้เข็มเขี่ยเส้นใยเชื้อรานำไปวางบนแผ่นสไลด์ และเขี่ยให้เส้นใยหรือสปอร์ของเชื้อราแตกกระจาย และปิดแผ่น cover slip หรือใช้วิธีตัดชิ้นวุ้นวางบนแผ่นสไลด์แล้วกดแผ่น cover slip เพื่อช่วยให้ส่วนของวุ้นแตกกระจายออก ตรวจสอบลักษณะเส้นใยและ sporangium ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การสร้าง sporangium แบบ ovoid, globose, pyriform, limoniform และ ellipsoid ใสไม่มีสี (hyaline) ส่วนตรงปลายมี papilla (Figure 4.3 b) ลักษณะเส้นใยเป็นแบบ non-septate เรียวยาว แตกกิ่งก้านแบบ simple sympodium หรืออาจไม่มีความแน่นอน (Figure 4.3 c) และพบการสร้าง chlamydospores รูปร่างค่อนข้างกลม (Figure 4.3 d) จากลักษณะดังกล่าวจัดจำแนกเป็น *Phytophthora palmivora*

Table 4.5 Morphology characterization of *Phytophthora palmivora* isolates causing durian disease.

Isolate code	Sporangium shape	Chlamydospores
CLM1_S1	ovoid	√
CLM1_S2	pyriform	√
CLM2_S1	pyriform	√
CLM2_S2	limoniform	√

√ = appeared

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

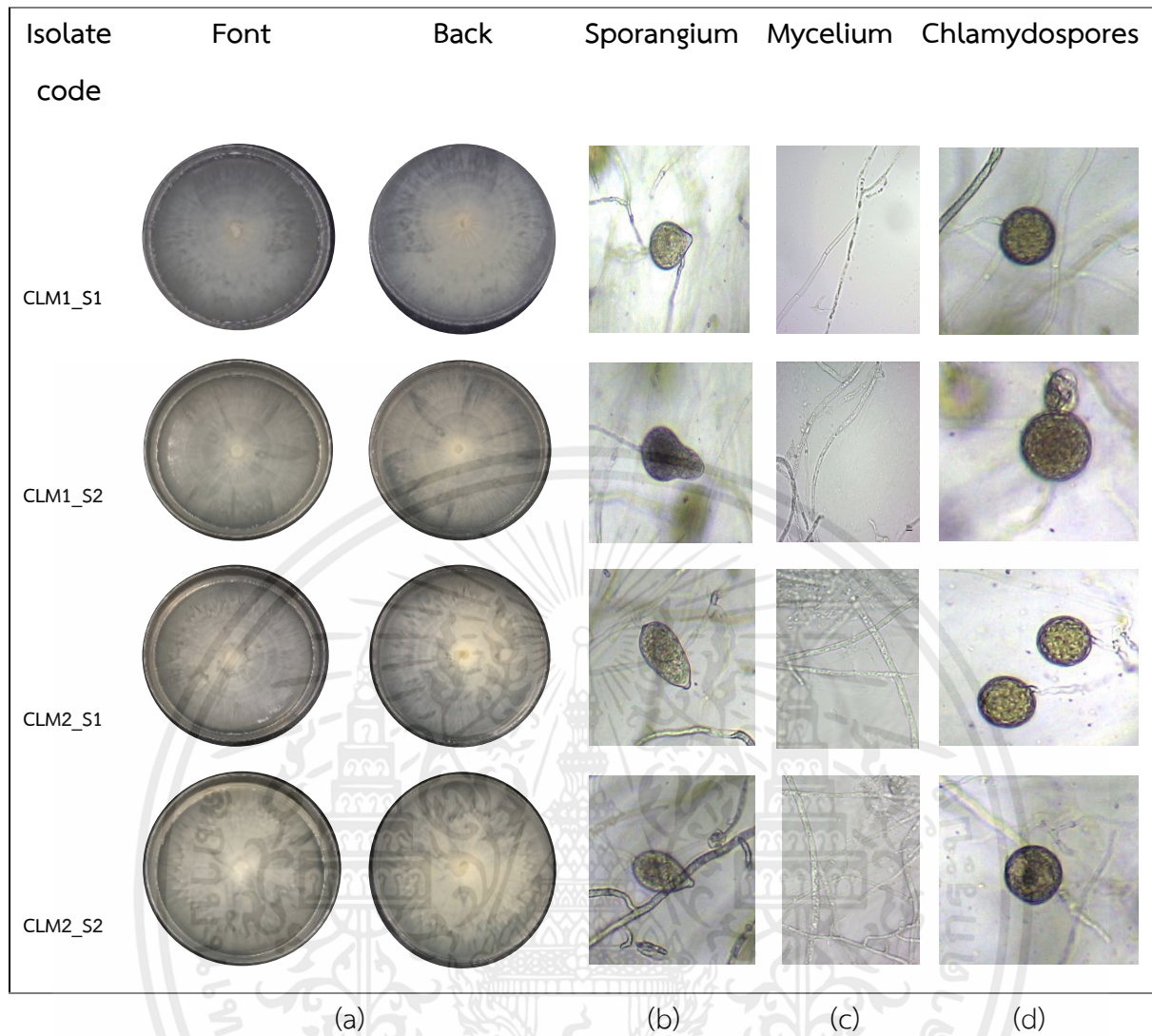


Figure 4.3 Morphology characterization of *Phytophthora* sp. isolates causing durian disease; colony (a), sporangium (b), mycelium (c), chlamydo spores (d).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากเชื้อที่แยกได้ 4 ไอโซเลท (Table 4.5) พบว่า เชื้อราทั้งหมดมีลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ดังนี้ โคโลนีมีสีขาวเป็นเส้นใยสีขาวค่อนข้างหนา (Figure 4.4 a) เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 85 mm. ประมาณ 5-7 วัน จากนั้นหยดน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 1 หยด ใช้เข็มเขี่ยเส้นใยเชื้อรานำไปวางบนแผ่นสไลด์ และเขี่ยให้เส้นใยหรือสปอร์ของเชื้อราแตกกระจาย และปิดแผ่น cover slip หรือใช้วิธีตัดชิ้นวุ้นวางบนแผ่นสไลด์แล้ว กดแผ่น cover slip เพื่อช่วยให้ส่วนของวุ้นแตกกระจายออก ตรวจสอบลักษณะของเส้นใย, macroconidia และ microconidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดของเชื้อรา โดย microconidia จะมีขนาดเล็ก อาจมีหรือไม่มีผนังกันหรืออาจเกิดต่อกันเป็นลูกโซ่ (Figure 4.4 b) และ macroconidium มีลักษณะรูปร่างเรียวยาวลักษณะโค้ง หัวท้ายแหลม (fusoid) คล้ายรูปร่างของ foot cell หรือเสี้ยวพระจันทร์ (sickle-shaped) (Figure 4.4 c) เส้นใยมีผนังกันรูปร่างไม่แน่นอน (Figure 4.4 d) จากลักษณะดังกล่าวจัดจำแนกเป็น *Fusarium* sp.

Table 4.6 Morphology characterization of *Fusarium* spp. isolates causing durian disease.

Isolate code	Microconidia	Macroconidia
FUM1_S1	√	√
FUM1_S2	√	√
FUM2_S1	√	√
FUM2_S2	√	√

√ = appeared

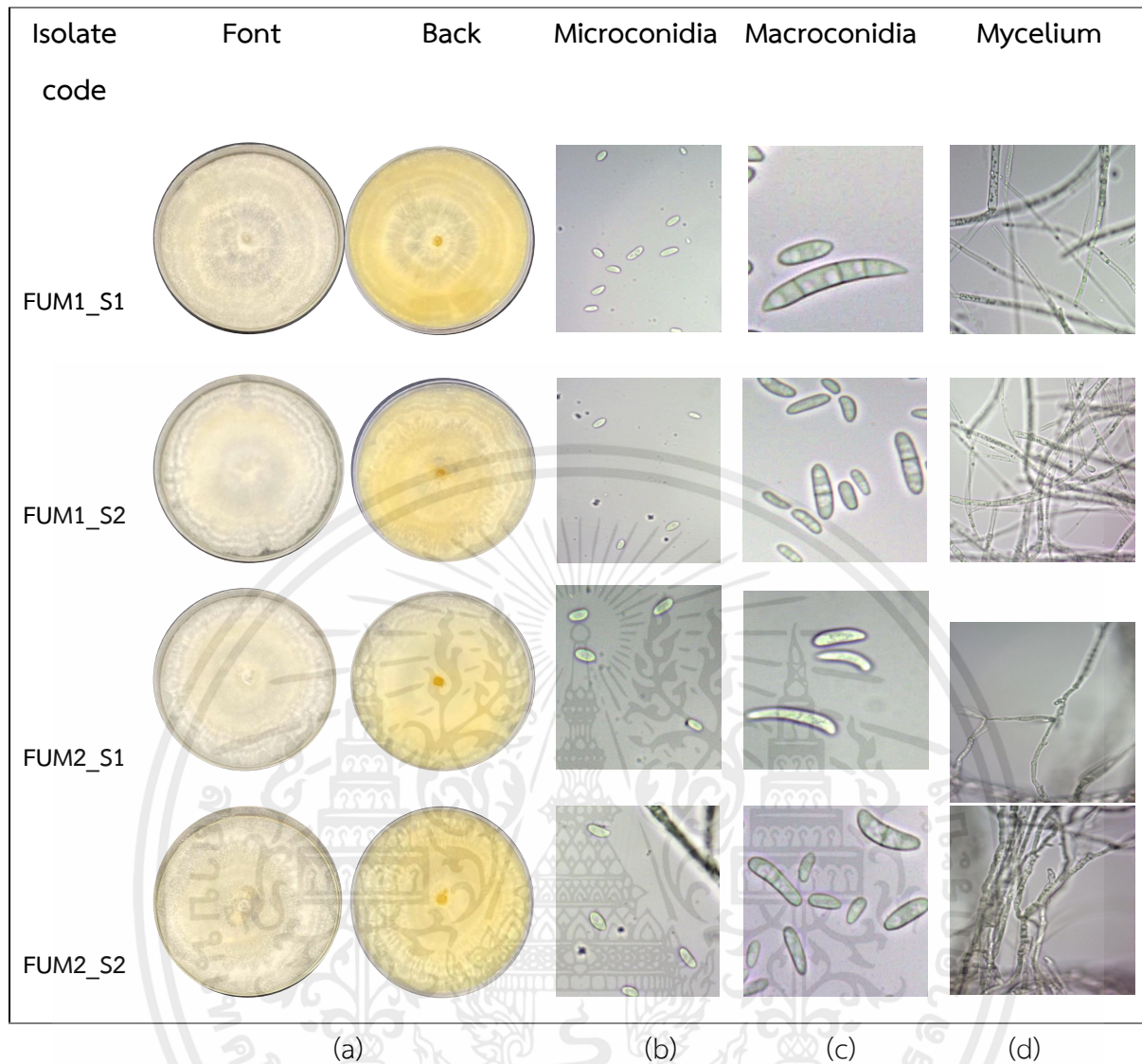


Figure 4.4 Morphology characterization of *Fusarium* spp. isolates causing durian disease; colony (a), microconidia (b), macroconidia (c), mycelium (d).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากการศึกษาประเมินฤทธิ์ต้านทานของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 agar และ *Fusarium* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper) ในหน่วยมิลลิเมตร (mm) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำแล้วนำไปเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ clear zone ด้วยโปรแกรมทางสถิติ Statistix v.8 ด้วยวิธีการ LSD ที่ค่า p 0.01 แล้ว พบว่า ประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนทองแดงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. ได้ทั้ง 8 ไอโซเลท ทั้งนี้ที่ความเข้มข้น 200 ppm มีจำนวน 1 ไอโซเลท ที่ปรากฏ clear zone มากที่สุดถึง 9.97 มิลลิเมตร คือ CLM2_S1 (Table 4.6)

จากการทดลองข้างต้น พบว่า ประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนทองแดงที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ได้ดีกว่า *Fusarium* spp. โดยที่ความเข้มข้น 200 ppm สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp. ซึ่งปรากฏ clear zone มากที่สุดเพียง 4.55 มิลลิเมตร คือ FUM2_S2 (Table 4.8)

เมื่อตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (clear zone) แล้วนำไปเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ clear zone ด้วยโปรแกรมทางสถิติ Statistix v.8 ด้วยวิธีการ LSD ที่ค่า p 0.01 แล้ว พบว่า ทุกไอโซเลทมีค่าเฉลี่ยต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และฤทธิ์ในการต้านทานเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. แปรผันตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด แต่ที่ความเข้มข้น 200 ppm อนุภาคนาโนทองแดงขนาด 100 nm สามารถยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora* sp. ซึ่งปรากฏ clear zone เฉลี่ยมากที่สุดคือ 8.84 ในไอโซเลท CLM2_S2 (Table 4.7) ได้ดีกว่า เชื้อรา *Fusarium* spp. ซึ่งปรากฏ clear zone เฉลี่ยเพียง 3.19 ในไอโซเลท FUM2_S2 (Table 4.9)

Table 4.7 The clear zone of *Phytophthora* sp.

	Concentrations	Isolate code			
		CLM1_S1	CLM1_S2	CLM2_S1	CLM2_S2
control		0	0	0	0
		0	0	0	0
		0	0	0	0
		0	0	0	0
50		3.72	3.13	1.90	6.42
		2.43	3.45	1.64	6.56
		2.99	3.11	1.20	7.68
		2.72	3.30	1.34	6.10
100		3.56	3.86	2.46	6.79
		4.41	4.82	2.07	7.61
		4.65	4.61	3.45	7.16
		4.31	3.91	3.57	7.70
200		9.97	6.55	4.86	8.52
		8.71	6.45	4.48	8.26
		7.65	6.36	4.02	8.30
		9.01	7.38	4.13	7.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4.8 The clear zone of *Phytophthora* sp.

Concentrations	Isolate code			
	CLM1_S1	CLM1_S2	CLM2_S1	CLM2_S2
0	0.00 d	0.00 d	0.00 c	0.00 c
50	3.25 c	1.52 c	6.69 b	2.97 b
100	4.30 b	2.89 b	7.32 ab	4.23 b
200	6.68 a	4.38 a	8.06 a	8.84 a
	**	**	**	**

**Statistical analysis by Statistix v.8 and compared different means by LSD at p 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

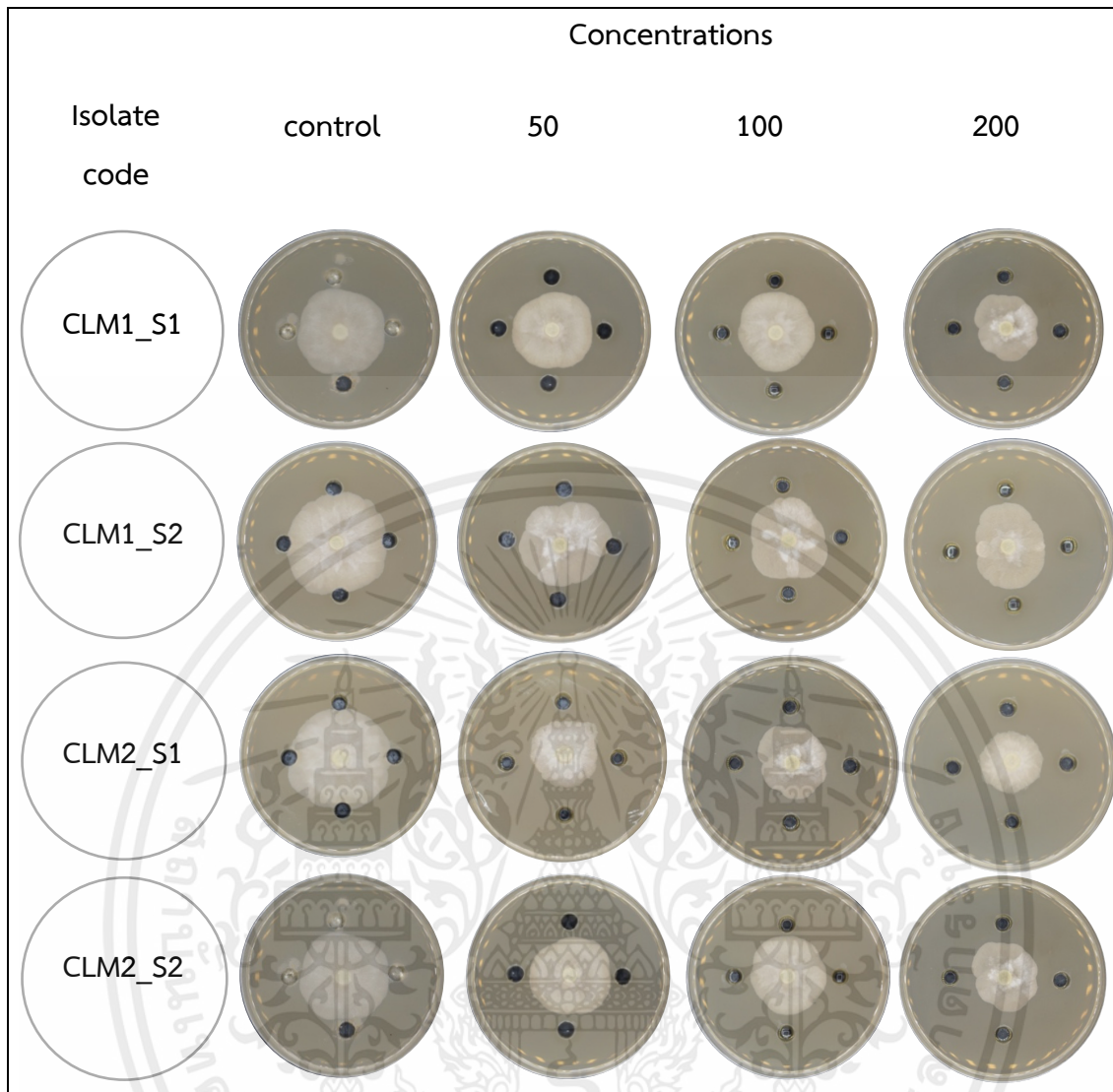


Figure 4.5 The antifungal activity of CuNPs to *Phytophthora* sp. in each isolate on clarified V8 juice agar amended with CUNPs 100 nm. at concentration 0 (control), 50, 100 and 200 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4.8 The clear zone of *Fusarium* spp.

Concentrations	Isolate code			
	FUM1_S1	FUM1_S2	FUM2_S1	FUM2_S2
control	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
50	0.58	1.71	0.77	1.39
	0.47	0.85	0.84	0.84
	0.46	0.35	0.85	0
	2.67	1.45	1.05	1.43
100	1.69	4.19	1.71	1.43
	1.48	2.76	1.20	1.48
	0.61	1.99	1.26	1.80
	0.61	1.29	1.54	1.62
200	2.03	2.85	2.65	2.59
	4.36	3.25	2.96	3.11
	2.26	3.22	2.82	4.55
	2.24	2.63	2.06	2.52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4.9 The clear zone of *Fusarium* spp.

Concentrations	Isolate code			
	FUM1_S1	FUM1_S2	FUM2_S1	FUM2_S2
0	0.00 b	0.00 c	0.00 d	0.00 c
50	1.05 ab	0.91 bc	0.88 c	1.09 bc
100	1.10 ab	1.47 b	1.43 b	2.56 ab
200	2.72 a	3.19 a	2.62 a	2.99 a
	**	**	**	**

**Statistical analysis by Statistix v.8 and compared different means by LSD at p 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

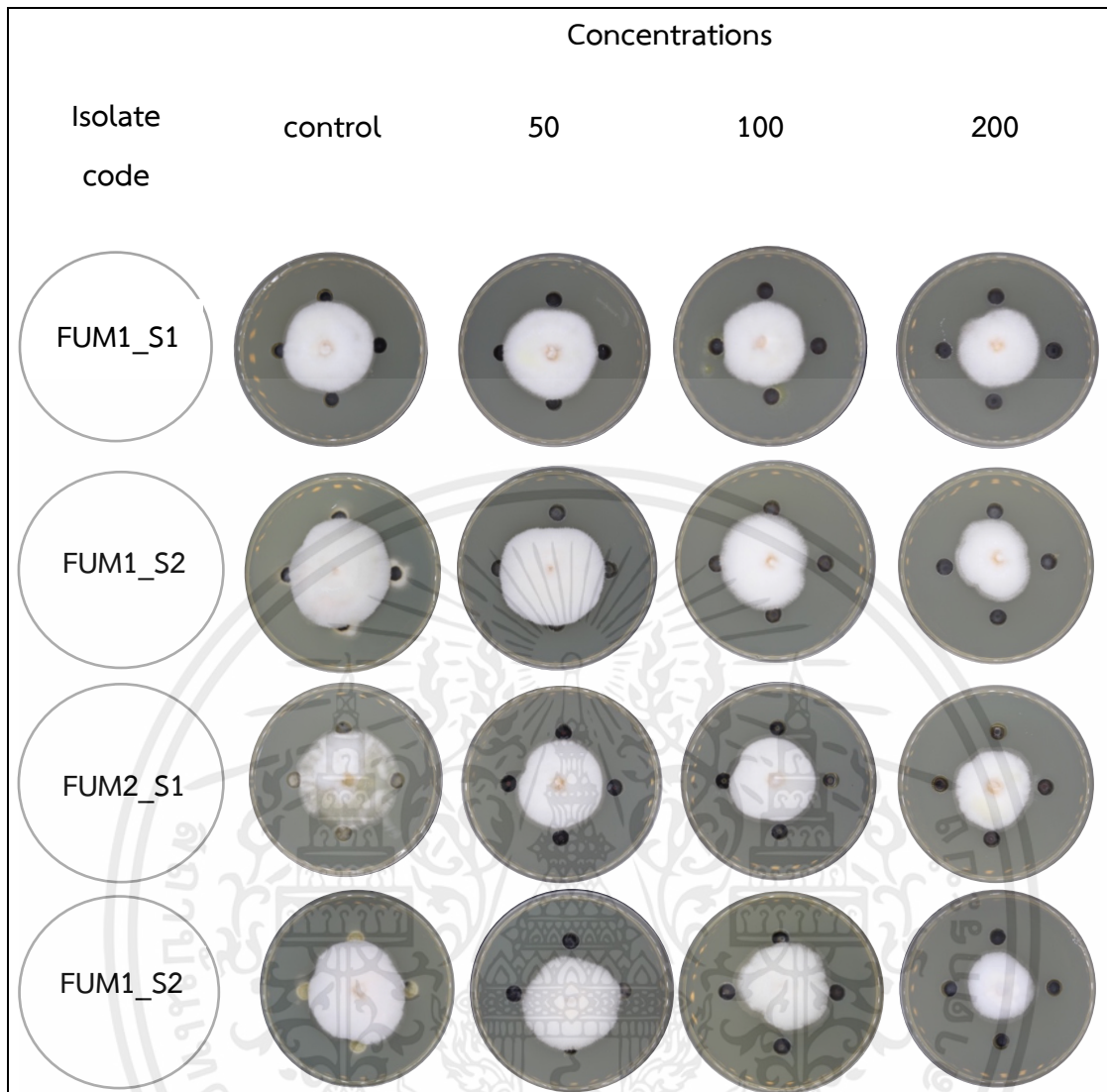


Figure 4.6 The antifungal activity of CuNPs to *Fusarium* spp. in each isolate on clarified PDA amended with CuNPs 100 nm. at concentration 0 (control), 50, 100 and 200 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การแยกและการรวบรวมเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียนในเขตพื้นที่ ตำบลรั้วรอ อำเภอกำแพง จังหวัดชุมพร ทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Tissue transplanting technique โดยใช้อาหาร V8 selective media เป็นอาหารจำเพาะสำหรับการคัดเลือกเชื้อรา *Phytophthora* spp. สามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ ได้จำนวน 4 ไอโซเลท ผลการศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40X มีลักษณะเส้นใยเป็นสีขาว ไม่มีผนังกันแตกกิ่งก้านแบบ simple sympodial และ compound sympodium บริเวณปลายเส้นใยสร้าง chlamydospore รูปร่างกลม ผนังหนา และจากจากตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์เชื้อรา *Phytophthora* spp. มีการสร้าง sporangium แบบ ovoid, pyriform และ limoniform ส่วนปลายของ sporangium มี papilla จัดจำแนกเป็น *Phytophthora palmivora* ตรงตามรายงานของ Worrall (1999), Suzui et al. (1979), Yang et al. (2017) และ ทวี (2548)

5.2 การแยกและการรวบรวมเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียนในเขตพื้นที่ ตำบลรั้วรอ อำเภอกำแพง จังหวัดชุมพร ทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Tissue transplanting technique โดยใช้อาหาร PDA สามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ ได้จำนวน 4 ไอโซเลท ผลการศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40X มีการสร้าง microconidia จำนวนมาก โดยสร้างเป็นกลุ่ม (false head) และสร้างต่อกันเป็นแบบลูกโซ่ยาวหรืออาจไม่แน่นอน microconidia มีลักษณะเป็นรูปไข่ (oval) ถึงรูปกระบอง (club-shaped) มี 1 เซลล์ ไม่มีสี macroconidia สร้างบน conidiophore แบบ mono phialide ที่แตกกิ่งก้าน และรวมกันเป็นกลุ่ม (mass) บน sporodochium รูปร่างของ macroconidia มีลักษณะโค้งเล็กน้อยจนถึงเกือบตรง ช่วงกลางสปอร์ค่อนข้างแคบยาว และผนังทั้งสองด้านขนานกัน เซลล์ที่ฐานลักษณะคล้ายเท้า (foot-shaped) หรือพระจันทร์เสี้ยว ไม่มีสี เส้นใยมีผนังกัน จัดจำแนกเป็นเชื้อรา *Fusarium* spp. ตรงตามรายงานของ อภิรัชต์ และคณะ (2552), Booth (1971) และ Gams et al. (1987)

5.3 การประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. สาเหตุโรคทุเรียน

จากการประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp. 4 ไอโซเลท และ *Fusarium* spp. 4 ไอโซเลท ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่า สารละลายอนุภาคนาโนทองแดงขนาด 100 นาโนเมตร ทุกระดับความเข้มข้น มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนทองแดงเพิ่มขึ้น และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ได้ดีกว่าเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ความเข้มข้นเดียวกันทุกไอโซเลท สอดคล้องกับรายงานของ Pham et al. (2019) ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของอนุภาคนาโนทองแดงขนาด 53 นาโนเมตรในการต้านเชื้อรา *Phytophthora capsici* และ *Fusarium oxysporum* ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 ppm พบว่า อนุภาคนาโนทองแดงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. capsici* และ *F. oxysporum* ได้ โดยสามารถยับยั้งเชื้อรา *P. capsici* ได้ทุกไอโซเลทที่ความเข้มข้น 10 ppm ใช้เวลาเพียง 1 วัน แต่สามารถยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ดีที่สุดเพียง 85 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 20 ppm โดยใช้เวลารวมถึง 7 วัน และเมื่อนำมาทดสอบหาความเข้มข้นที่ดีที่สุด พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. capsici* ได้ทุกไอโซเลทที่ความเข้มข้น 7.5 ppm ใช้เวลา 1 วัน และสามารถยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ทุกไอโซเลทที่ความเข้มข้น 30 ppm ใช้เวลา 3 วัน เห็นได้ชัดว่าอนุภาคนาโนทองแดงมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *P. capsici* ได้ดีกว่าเชื้อรา *F. oxysporum* นอกจากนี้ ผลของการการประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อราทั้ง 2 ชนิดยังไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากขนาดของอนุภาคนาโนทองแดงที่ยังไม่เล็กมากพอ และความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบยังไม่สูงมากพอ สอดคล้องกับรายงานของ Du et al. (2018) ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของอนุภาคนาโนทองแดงขนาด 4-20 นาโนเมตรในการต้านเชื้อรา *P. palmivora* ที่ความเข้มข้น 0, 10, 20 และ 30 ppm พบว่า หลังจากทำการทดสอบ 48 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 30 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ 90.18, 91.87 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เช่นเดียวกับรายงานของ Viet et al. (2016) ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของอนุภาคนาโนทองแดงขนาด 20-50 นาโนเมตรในการต้านเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ความเข้มข้น 0, 300, 380 และ 450 ppm พบว่า ที่ความเข้มข้น 450 ppm สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้ 93.98 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราของอนุภาคนาโนทองแดงขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาคด้วย ซึ่งยิ่งขนาดเล็ก ความสามารถในการต้านเชื้อราของอนุภาคนาโนทองแดงก็มีประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งรายงานของ Siddiqi and Husen (2020) ได้กล่าวถึงกลไกในการต้านเชื้อราของอนุภาคนาโนทองแดงในการเป็น Nano sensor ภายในเซลล์เชื้อรา โดยเมื่ออนุภาคนาโนทองแดงสัมผัสกับเซลล์เชื้อราจะสามารถทะลุผ่านผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เซลล์เกิดการลดแรงศักย์ไฟฟ้าเคมีลง อนุภาคนาโนทองแดงที่มีขนาดเล็กมากจะส่งผลทำให้มีพื้นผิวมากที่จะสัมผัสกับเชื้อโรค และสามารถติดอยู่บนพื้นผิวของเซลล์ได้ จากนั้นจะเข้าไปขัดขวางช่องทางเข้าของสารอาหาร ทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารอาหารไม่สามารถเข้าไปเกิดอันตรกิริยาในเซลล์ได้ และเข้าไปจับกับเซลล์ภายในเซลล์เชื้อราคือ mitochondria ทำให้เซลล์หลังเอนไซม์ที่มีชื่อว่า Caspase cascade ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่หลั่งออกมาเมื่อเซลล์กำลังจะตาย รวมถึงเข้าไปทำให้เซลล์ DNA แตกหัก หรืออาจเกิด reductive oxygen species หรือเป็นออกซิเจนปรีโรทีติเคิล ซึ่งมีความสามารถในการออกซิไดซ์ได้สูงเมื่อเจอกับโปรตีน ทำให้โครงสร้างเดิมของเซลล์เกิดความเสียหายส่งผลให้เซลล์ทำงานไม่ได้ และตายในที่สุด จากการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนทองแดงมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. สาเหตุโรคทุเรียน ซึ่งทำให้เห็นแนวทางในการแก้ปัญหาการติดต่อสารเคมีของเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียนได้ในอนาคตโดยการนำวัสดุนาโนมาประยุกต์ใช้งาน (สุปราณี, 2558) อย่างไรก็ตาม ยังคงต้องศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดงด้วยวิธีการต่าง ๆ รวมถึงวิธีการใช้ที่เหมาะสม และปลอดภัยต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากการประเมินฤทธิ์ในการต้านเชื้อราของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. สาเหตุโรคทุเรียนจำนวน 8 ไอโซเลท ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่า อนุภาคนาโนทองแดงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Fusarium* spp. ได้ทุกไอโซเลท ทั้งนี้อนุภาคนาโนทองแดงขนาด 100 นาโนเมตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทั้ง 2 ชนิดได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 200 ppm



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2562. โรคทุเรียน. (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <https://www.doa.go.th/share/attachment.php?aid=2968> 22 กุมภาพันธ์ 2565)
- กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ. 2564. แนวโน้มสินค้าทุเรียนและผลิตภัณฑ์. (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <https://api.dtn.go.th/files/v3/606ffb08ef4140a89b03bf59/download> (22 กุมภาพันธ์ 2565)
- ณัฐพุ่ม โพธิ์วรสุนทร และ ปัฐวิภา สงกุมาร. 2564. ประสิทธิภาพสารเคมีอนุภาคนาโน CuO และ ZnO ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 52(1)(พิเศษ): 101-104
- ทวี เก่าศิริ. 2543. ราเชื้อโรคทุเรียน: *Phytophthora palmivora*. หน้า 76-92. เอกสารประกอบการสัมมนา กลยุทธ์หยุดการระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- มณีรัตน์ คุณาพิทักษ์ธรรม. 2561. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนในประเทศไทย. สาขาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี.
- มานิตย์ ทองหอม. 2553. การปลูกทุเรียน. อักษรสยาม การพิมพ์. กรุงเทพมหานคร.
- ยุพิน กสินเกษมพงศ์. 2534. โรคผลเน่าดำของโกโก้ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 62 หน้า.
- รัตยา พงศ์พิสุทธา, ชัยณรงค์ รัตนกริธากุล, สันฐิติ บินคาเตอร์, กนกพร ฉัตรไชยศิริ และ พัชรี บุญเรืองรอด. 2563. การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุของโรคกิ่งแห้งของทุเรียน. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม. 48(4): 704-714.
- วีระณีย์ ทองศรี. 2560. โรคตายลามจากยอด (die-back) และโรคราสีชมพู (pink disease) ในทุเรียน. เกษตรการเกษตร. 41: 89-91.
- ศุภณีย์ วิจัยกสิกรไทย. 2564. การส่งออกทุเรียนไทย. (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <https://www.kasikornresearch.com/th/analysis/k-econ/business/Pages/Durian-z3233.aspx> (22 กุมภาพันธ์ 2565)
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญปี 2564. สำนักงานวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <https://www.oae.go.th/view/1/siteunderconstruction/TH-TH> (16 มีนาคม 2565)
- อภิรักษ์ สมฤทธิ์, ธารทิพย์ ภาสบุตร และ ทศนาพร ทศคร. 2552. การศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรคเน่ากล้วยไม้ที่ปลูกเป็นการค้า. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 294-302

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ainsworth GC, Bisby GR, Kirk PM, Bioscience C. 1971. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi by P.M. Kirk et al.; with the assistance of A. Aptroot et al. CABI, Wallingford.
- Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. The Eastern Press Limited, London.
- Erwin, D. C. and O. K. Ribeiro. 1996. Phytophthora Diseases Worldwide. APS Press, St. Paul., MN., USA. 562 p.
- Fakhar ud Din, Waqar Aman, Izhar Ullah, Omer Salman Qureshi, Omer Mustapha, Shumaila Shafique and Alam Zeb. 2017. Effective use of nanocarriers as drug delivery systems for the treatment of selected tumors. 12: 7291–7309.
- Harsh Gupta and Parag R. Gogate. 2016. Intensified removal of copper from waste water using activated watermelon based biosorbent in the presence of ultrasound. Ultrasonics Sonochemistry. 113-122.
- Ill-Min Chung, Abdul Abdul Rahuman, Sampath Marimuthu, Arivarasan Vishnu ,Kirthi, Karunanithi Anbarasan, Parthasarathy Padmini and Govindasamy Rajakumar. 2017. Green synthesis of copper nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaves extract and their antioxidant and cytotoxic activities. Department of Zoology, C. Abdul Hakeem College, Vellore, Tamil Nadu 632 509, India. 18-24.
- J. X. Wang, X. W. Sun, Y. Yang, H. Huang, Y. C. Lee, O. K. Tan and L. Vayssieres. 2006. Hydrothermally grown oriented ZnO nanorod arrays for gas sensing applications. Electronic Engineering, Nanyang Technological University, Singapore.
- L. A. Hermida-Montero, Nicolaza Pariona, Arturo I. Mtz-Enriquez, Gloria Carrión, F. Paraguay-Delgado and Greta Rosas-Saito. 2019. Aqueous-phase synthesis of nanoparticles of copper/copper oxides and their antifungal effect against *Fusarium oxysporum*. Journal of Hazardous Materials. 120850
- Lester, W.B., C.M. Liddell, and B.A. Summerell. 1988. Laboratory Manual for *Fusarium* Research Incorporating a Key and Descriptions of Common Species Found in Australia, 2nd ed. Australia: University of Sydney, Australia.
- Makvandi, P., Gu, J. ting, Zare, E. N., Ashtari, K., Moeini, A., Tay, F. R. and Niu, L., Acta. 2019. *Biomaterialia*. 51-62
- National Nanotechnology Initiative. 2021. Nonotechnology. (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <https://www.nano.gov/about-nanotechnology>. (11 มีนาคม 2565)
- Nelson, P. E., T. A. Toussoun, and W. F. O. Marasas. 1983. *Fusarium* species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ngoc-Diep Pham, Minh-Man Duong, Minh-Vien Le, Hoang Anh Hoang and Le-Kieu-Oanh Pham. 2019. Preparation and characterization of antifungal colloidal copper nanoparticles and their antifungal activity against *Fusarium oxysporum* and *Phytophthora capsici*. Faculty of Chemical Engineering, Ho Chi Minh City University of Technology, Viet Nam. 22: 786-793
- Pham Van Viet, Hai Thi Nguyen, Thi Minh Cao, and Le Van Hieu. 2016. *Fusarium* Antifungal Activities of Copper Nanoparticles Synthesized by a Chemical Reduction Method. Lavinia Balan. 7 p.
- Prachi Kanhed, Sonal Birla, Swapnil Gaikwad, Aniket Gade, Amedea B. Seabra, Olga Rubilar, Nelson Duran and Mahendra Rai. 2013. *In vitro* antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi. 115: 13-17
- Siddiqi, K. S., & Husen, A. (2020). *Biomaterials Research*, 2020, 24(1).
- Suksiri, S., P. Laipasu, K. Soyong, and S. Poeaim. 2018. Isolation and identification of *Phytophthora* sp. and *Pythium* sp. from durian orchard in Chumphon province, Thailand. *International Journal of Agricultural Technology* 14:389-402.
- Suzui, T., Kueprakone, U. and T. Kamphangridthrong. 1979. *Phytophthora* spp. isolated from some economic plants in Thailand. *Tech. Bull.Trop.Agric.Res.Cent.* 12: 32-41.
- Tsai, H.L., L.C. Huang., P.J. Ann and R.F. Liou. 2006. Detection of orchid *Phytophthora* disease by nested PCR. *Botanical Studies* 47: 379-387.
- Walter Gams, Mary E. Palm and Helgard I. Nirenberg. 1987. *Plectosporium*, a new genus for *Fusarium*, *tabacinum*, the anamorph of *Plectosphaerella cucumerina*. 397-406
- Worrall, J. J. 1999. *Structure and Dynamics of Fungal Populations*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Zentmyer, G.A. 1963. Biological control of *Phytophthora* root rot of avocado with al- falfa meal. *Phytopathol.* 53:1383-1387.

ประวัติผู้เขียน



ชื่อ-สกุล	นางสาวปนัดดา โป่งสันเทียะ
วัน/เดือน/ปี เกิด	16 กุมภาพันธ์ 2542
ที่อยู่อาศัย	526 ม.20 ต.รับร่อ อ.ท่าแซะ จ.ชุมพร 86140
ประวัติการศึกษา	อนุบาล 1-3 โรงเรียนบ้านบางไม้แก้วประชาสามัคคี อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร ประถมศึกษา 1-6 โรงเรียนบ้านบางไม้แก้วประชาสามัคคี อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร มัธยมศึกษา 1-6 โรงเรียนศรีวิทยายัย2 อำเภอเมือง จังหวัดชุมพร ปัจจุบันศึกษา ปริญญาตรี หลักสูตรเทคโนโลยีการจัดการผลิตพืชชั้นปีที่4 สถาบันเทคโนโลยีพระ จอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตอุดมศักดิ์จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้