

ฤทธิ์ต้านทานของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อเชื้อรา ๕ สกุล
สาเหตุโรคทุเรียน

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF NANO ZINC OXIDE ON FIVE GENERA
OF FUNGI CAUSING DURIAN DISEASES



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน

วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2565

KMITL PRINCE OF CHUMPHON-2022-M-02-008

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF NANO ZINC OXIDE ON FIVE GENERA
OF FUNGI CAUSING DURIAN DISEASES



SANSANEE PANTAKAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE

PRINCE OF CHUMPHON CAMPUS GRADUATE SCHOOL
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
PRINCE OF CHUMPHON CAMPUS

2022

KMITL PRINCE OF CHUMPHON-2022-M-02-008

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2022

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

PRINCE OF CHUMPHON CAMPUS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ต้านทานของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อเชื้อรา ๕ สกุล
ชื่อนักศึกษา	สาเหตุนโรคทุเรียน
รหัสประจำตัว	นางสาวศันศันย์ พันธะคาร
ปริญญา	64620026
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
พ.ศ.	พืชสวน
อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ	2565
อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษร่วม	รศ.ดร. พรประพา คงตระกูล รศ.ดร. พรรณิภา ย้วยล

บทคัดย่อ

ปัจจุบันเชื้อราหลายชนิดก่อให้เกิดโรคที่สร้างความเสียหายต่อการผลิตทุเรียน สามารถแพร่ระบาดเข้าทำลายทุกส่วนของทุเรียนในทุกระยะ สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราจึงได้รับความนิยมเพราะสะดวกและรวดเร็ว แต่กลับพบว่าส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ผลิต ผู้บริโภคและตกค้างอยู่ในธรรมชาติ จึงมีแนวทางในการศึกษาอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) ขนาด 25–50 นาโนเมตร ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา เพื่อเป็นทางเลือกในการป้องกันกำจัดเชื้อรา สำหรับการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) เก็บรวบรวม แยกเชื้อราและจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Phytophthora palmivora*, *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia* sp. สาเหตุนโรคทุเรียน 2) ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราดังกล่าว 3) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา และการติดเชือบนต้นกล้าทุเรียน แยกและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียน จำนวน 5 สกุล (11 ไอโซเลท) คือ 1) เชื้อรา *P. palmivora* (CL4_F1, CL4_S5, CL4_F10) พบโคโลนีแบบ stellate pattern และ rings ทั้ง 3 ไอโซเลท เส้นใยไม่มีผนังกัน ใสไม่มีสี แตกกิ่งก้านแบบ simple sympodial สร้าง sporangium แบบ semi-papillate รูปร่าง limoniform และ sporangium มี papillate ลักษณะเป็นแบบ ovoid และพบการสร้าง chlamydospores รูปร่างค่อนข้างกลม 2) เชื้อรา *Fusarium* sp. (CL6_FL1, CL6_FL2) พบโคโลนีฟู สีขาวครีม เส้นใยไม่มีผนังกัน สร้าง conidia 2 รูปแบบ คือ macroconidia รูปร่างคล้ายเสี้ยวพระจันทร์ และ microconidia รูปร่างทรงรี 3) เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. (CH1_LF1, CH1_LF2) โคโลนีมีลักษณะฟู ในระยะแรกเส้นใยมีสีขาว เมื่อเส้นใยแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเทา สร้าง conidia รูปร่างคล้ายลูกกรักบี้ สีน้ำตาลเข้ม 4) เชื้อรา *Phomopsis* sp. (CH1_PF1, CH1_PF2) ลักษณะโคโลนี เจริญแบบราบไปกับผิวอาหาร บริเวณรอบนอกจานอาหารเส้นใยมีสี

ชาวปนเทา ตรงกลางมีสีเหลืองเล็กน้อย สร้าง conidia 2 รูปแบบ คือ alpha conidia รูปร่างทรงรี และ beta conidia รูปร่างเรียวยาว โค้งงอเล็กน้อย 5) เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. (CL1_RL1, CL1_RL2) พบ ลักษณะโคลนี เจริญราบบนผิวอาหาร โดยในระยะแรกมีสีขาว เมื่อเส้นใยแก่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม สร้างเม็ด sclerotium เป็นกลุ่มหนาแน่น มีลักษณะเส้นใยแบบมีผนังกัน แตกแขนงตั้งฉาก ทุกไอโซเลทสามารถก่อให้เกิดโรคบนทุเรียนได้ 100% (Disease incidence; DI)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) ต่อการเจริญเติบโตและการติดเชื้อของเชื้อราทั้ง 5 สกุล 11 ไอโซเลท พบว่า ZnO NP สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 2000 µg/ml สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อราทุกไอโซเลท คือ *Phomopsis* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *P. palmivora* และ *Rhizoctonia* sp. ได้ที่ 79.77-81.28%, 63.23-81.18%, 68.83-75.06%, 57.76-69.84% และ 50.14-52.97% ตามลำดับ อีกทั้ง ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500 µg/ml สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. ได้ 100% และเชื้อรา *P. palmivora*, *Fusarium* sp. และ *Phomopsis* sp. ได้ 95.86-98.53% ตามลำดับ ขณะที่ความเข้มข้น 1000-2000 µg/ml สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา 4 สกุล (*P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp. และ *Phomopsis* sp.) ได้ 100% นอกจากนี้พบว่า ZnO NPs ที่ทุกระดับความเข้มข้น สามารถชะลอการงอกของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. และสปอร์เชื้อรา 4 สกุล และ ZnO NPs สามารถยับยั้งการติดเชื้อบนต้นกล้าทุเรียนได้ เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น จะมีระดับความรุนแรงของโรคลดลง

คำสำคัญ : โรคทุเรียน, ทดสอบความสามารถในการก่อโรค, ต้นกล้าทุเรียน

Thesis Title	Antifungal activity of nano zinc oxide on five genera of fungi causing durian diseases
Student	Miss Sansanee Pantakan
Student ID	64620026
Degree	Master of Science
Program	Horticulture
Year	2022
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Pornprapa Kongtragoul
Co-Advisor	Assoc. Prof. Dr. Pannipa Youryon

Abstract

Currently, many types of fungi are a pathogen that damages the durian and can infect all parts of the durian at all stages. Chemical fungicides are popular because they are convenient and quick to control. However, they affect the health of producers, consumers, and the environment. Therefore, there are guidelines for studying zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) with 25-50 nm that have properties to inhibit fungal growth as an alternative to preventing and eliminating such fungi. The objectives of this study were 1) to collect, isolate, and morphologically characterize *P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Phomopsis* sp., and *Rhizoctonia* sp. the causative agents of durian disease, 2) to evaluate their pathogenicity, 3) to study the efficiency of zinc oxide nanoparticles in inhibiting fungal growth, and infection on durian seedlings. The results showed that 5 genera of durian pathogenic fungi (11 isolations) were successfully isolated and identified by morphological characteristics. 1) *P. palmivora* (CL4_F1, CL4_S5, CL4_F10) were found in colonies with rings and stellate pattern, ovoid, limoniform sporangium with semi-papillate or papillate, and formation chlamydo spores. 2) *Fusarium* sp. (CL6_FL1, CL6_FL2) was found in fussy creamy white colonies, septate-hyphae, producing 2 forms of conidia as crescent-shaped macroconidia and elliptical microconidia. 3) *Lasiodiplodia* sp. (CH1_LF1, CH1_LF2) were characterized by white colonies at first, turning gray in maturity, producing conidia shaped like dark brown rugby balls. 4) *Phomopsis* sp.

(CH1_PF1, CH1_PF2) appeared colony with flat growth on the surface media and slightly yellow of the central colony, greyish white mycelium, forming 2 conidia, alpha conidia ellipsoid and beta conidia elongated with slightly bent. 5) *Rhizoctonia* sp. (CL1_RL1, CL1_RL2) were colonies on the surface media, initially white when mature mycelium turned brown to dark brown. The hypha is perpendicular to the septum. All isolates were pathogenic on durian at 100% (Disease incidence; DI).

Therefore, the efficacy of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) on growth and infection of all 5 genera fungi of 11 isolates. ZnO NPs were found to inhibit growth further with increasing concentration. However, ZnO NPs at the concentration of 2000 µg/ml could inhibit the mycelial growth of all fungi isolates; *Phomopsis* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *P. palmivora*, and *Rhizoctonia* sp. at 79.77-81.28%, 63.23-81.18%, 68.83-75.06%, 57.76-69.84%, and 50.14-52.97%, respectively. Moreover, ZnO NPs at the concentration of 500 µg/ml could inhibit the sporulation of *Lasiodiplodia* sp. at 100%. and *P. palmivora*, *Fusarium* sp., and *Phomopsis* sp., respectively, at 88.24-97.75%. Meanwhile, 1000-2000 µg/ml concentration inhibited sporulation of four fungal genera (*P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., and *Phomopsis* sp.) at 100%. The concentration increased, and the disease severity decreased. In addition, ZnO NPs at all concentrations were observed to delay the germination of *Rhizoctonia* sp. and 4 genera. Moreover, ZnO NPs could inhibit the infection on durian seedlings with higher concentrations following the lower disease severity.

Keywords: Durian diseases, Pathogenicity test, Durian seedling

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีต้องขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.พรประพา คงตระกูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. ดร. พรรณีภา ย้วยล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม และ ผศ.ดร. สรัญญา วัลยะเสวี ประธานกรรมการ ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือ ปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่ ความทุ่มเทเป็นอย่างดี ตลอดจนอบรมสั่งสอนเป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ขอขอบคุณอาจารย์ประจำหลักสูตรพืชสวนที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ และแนวทางการแก้ปัญหา ขอขอบคุณผู้ร่วมงานในห้องแลปปฏิบัติการโรคพืช ที่ให้ความร่วมมือ ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจเป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ ทำให้สำเร็จไปได้ด้วยดี

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา บุคคลในครอบครัว ที่ช่วยเหลือ สนับสนุนและเป็นกำลังใจสำคัญ ภายใต้งานทำวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี จึงใคร่ขอกราบขอบพระคุณผู้ที่กล่าวถึงและไม่ได้กล่าวถึง แต่มีส่วนเกี่ยวข้องไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

ศันศนีย์ พันธะการ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญรูปภาพ.....	XIV
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของทุเรียน.....	3
2.2 เชื้อราสาเหตุโรคทุเรียนที่สำคัญ.....	3
2.3 อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (Zinc oxide nanoparticles; ZnO NPs)	7
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	9
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	11
3.1 ศึกษาลักษณะอาการ เก็บรวบรวมและแยกเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียน 5 สกุล.....	11
3.2 ศึกษาและจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียนโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	12
3.3 การทดสอบความสามารถในการทำให้ก่อโรค (Pathogenicity test).....	13
3.4 ประเมินประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ต่อเชื้อรา 5 สกุล ในสภาพห้องปฏิบัติการ.....	14
3.5 ประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนต้นกล้าและผลทุเรียน.....	17

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	18
4.1 ศึกษาลักษณะอาการ เก็บรวบรวมและแยกเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียน 5 สกุล.....	18
4.2 ศึกษาและจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียนโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	23
4.3 ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity test).....	33
4.4 ประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ต่อเชื้อรา 5 สกุล ในสภาพห้องปฏิบัติการ.....	42
4.5 ทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนต้นกล้าและผลทุเรียน.....	85
บทที่ 5 วิจัยารณ์ผลการทดลอง.....	108
5.1 เก็บรวบรวม แยก และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา สาเหตุโรคทุเรียน 5 สกุล.....	108
5.2 การทดสอบความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity test).....	110
5.3 ประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ต่อเชื้อรา 5 สกุล.....	111
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง.....	113
บรรณานุกรม.....	114
ประวัติผู้เขียน.....	120

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่	
3.1 NPAR(PH) – V8 agar mixed Selective medium: For <i>Phytophthora</i> species.....	12
4.1 The pathogen in this study infected on different parts of the durian.....	19
4.2 Morphology characterization of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates causing stem rot and fruit rot disease of durian.....	24
4.3 Morphology characterization of <i>Fusarium</i> sp. isolates causing durian dieback disease.....	26
4.4 Morphology characterization of <i>Lasiodiplodia</i> sp. isolates causing fruit rot disease of durian.....	28
4.5 Morphology characterization of <i>Phomopsis</i> sp. isolates causing leaf spot disease of durian.....	30
4.6 Morphology characterization of <i>Rhizoctonia</i> sp. isolates causing leaf blight disease of durian.....	31
4.7 Disease incidence (DI) of CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates after inoculation on durian seedlings for 7 days.....	33
4.8 Disease severity index (DSI) of CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates after inoculation on durian seedlings for 7 days.....	33
4.9 Disease incidence (DI) of CL6_FL1 and CL6_FL2 of <i>Fusarium</i> sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.....	35
4.10 Disease severity index (DSI) of CL6_FL1 and CL6_FL2 of <i>Fusarium</i> sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.....	35
4.11 Disease incidence (DI) of CH1_LF1 and CH1_LF2 of <i>Lasiodiplodia</i> sp. isolates after inoculation on durian fruits for 7 days.....	36
4.12 Disease severity index (DSI) of CH1_LF1 and CH1_LF2 of <i>Lasiodiplodia</i> sp. isolates after inoculation on durian fruits for 7 days.....	37
4.13 Disease incidence (DI) of CH1_PF1 and CH1_PF2 of <i>Phomopsis</i> sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.....	38

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.14 Disease severity index (DSI) of CH1_PF1 and CH1_PF2 of <i>Phomopsis</i> sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.....	38
4.15 Disease incidence (DI) of CL1_RL1 and CL1_RL2 of <i>Rhizoctonia</i> sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.....	40
4.16 Disease severity index (DSI) of CL1_RL1 and CL1_RL2 of <i>Rhizoctonia</i> sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.....	40
4.17 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml on mycelial growth of <i>Phytophthora palmivora</i> CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 after incubation for 4 days.....	42
4.18 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of mycelial growth of <i>Phytophthora palmivora</i> causing durian disease.....	45
4.19 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml on mycelial growth of <i>Fusarium</i> sp. CL6_FL1 and CL6_FL2 after incubation for 5 days.	47
4.20 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of mycelial growth of <i>Fusarium</i> sp. causing durian disease.....	49
4.21 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml on mycelial growth of <i>Lasiodiplodia</i> sp. CH1_LF1 and CH1_LF2 after incubation for 3 days.....	51
4.22 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of mycelial growth of <i>Lasiodiplodia</i> sp. causing durian disease.....	53
4.23 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml on mycelial growth of <i>Phomopsis</i> sp. CH1_PF1 and CH1_PF2 after incubation for 4 days.....	55

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่	
4.24 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of mycelial growth of <i>Phomopsis</i> sp. causing durian disease.....	58
4.25 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ on mycelial growth of <i>Rhizoctonia</i> sp. CL1_RL1 and CL1_RL2 after inoculation for 2 days.....	60
4.26 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of mycelial growth of <i>Rhizoctonia</i> sp. causing durian disease.....	62
4.27 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ on sporulation of <i>Phytophthora palmivora</i> CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 after inoculation for 4 days.....	64
4.28 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of sporulation of <i>Phytophthora palmivora</i> causing durian disease.....	65
4.29 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ on sporulation of <i>Fusarium</i> sp. CL6_FL1 and CL6_FL2 after inoculation for 5 days.....	66
4.30 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of sporulation of <i>Fusarium</i> sp. causing durian disease.....	67
4.31 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ on sporulation of <i>Lasiodiplodia</i> sp. CH1_LF1 and CH1_LF2 after inoculation for 3 days.....	69
4.32 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of sporulation of <i>Fusarium</i> sp. causing durian disease.....	70

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.33 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml on sporulation of <i>Phomopsis</i> sp. CH1_PF1 and CH1_PF2 after inoculation for 4 days.....	70
4.34 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of sporulation of <i>Phomopsis</i> sp. causing durian disease.....	71
4.35 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on sporangium germination of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 on V8 agar for 3 and 6 hr. after incubation.....	73
4.36 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 on V8 agar according to incubation periods.....	74
4.37 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on macroconidia germination of <i>Fusarium</i> sp. isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.....	75
4.38 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of <i>Fusarium</i> sp. isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar according to incubation periods....	76
4.39 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on microconidia germination of <i>Fusarium</i> sp. isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.....	77
4.40 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of <i>Fusarium</i> sp. isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar according to incubation periods....	78
4.41 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on spore germination of <i>Lasiodiplodia</i> sp. isolates CH1_LF1 and CH1_LF2 on PDA agar for 4 and 8 hr. after incubation.....	79

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่	
4.42 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of <i>Lasiodiplodia</i> sp. isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar according to incubation periods....	80
4.43 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on spore germination of <i>Phomopsis</i> sp. isolates CH1_LF1 and CH1_LF2 on PDA agar for 4 and 8 hr. after incubation.....	81
4.44 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of <i>Phomopsis</i> sp. isolates CH1_LF1 and CH1_LF2 on PDA agar according to incubation periods...	82
4.45 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on mycelial germination of <i>Rhizoctonia</i> sp. isolates CL1_RL1 and CL1_RL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.....	83
4.46 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on mycelial length of <i>Rhizoctonia</i> sp. isolates CL1_RL1 and CL1_RL2 on PDA agar according to incubation periods.....	84
4.47 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian seedlings of <i>Phytophthora palmivora</i> on disease incidence (DI) after 21 days of incubation.....	85
4.48 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian seedlings of <i>Phytophthora palmivora</i> on disease severity index (DSI).....	86
4.49 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian seedlings of <i>Fusarium</i> sp. on disease incidence (DI) after 21 days of incubation.....	90
4.50 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian seedlings of <i>Fusarium</i> sp. on disease severity index (DSI).....	91
4.51 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian fruits of <i>Lasiodiplodia</i> sp. on disease incidence (DI) after 7 days of incubation.....	94
4.52 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian fruits of <i>Lasiodiplodia</i> sp. on disease severity index (DSI).....	95

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.53 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 $\mu\text{g/ml}$ on durian seedlings of <i>Phomopsis</i> sp. on disease incidence (DI) after 21 days of incubation.....	98
4.54 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 $\mu\text{g/ml}$ on durian seedlings of <i>Phomopsis</i> sp. on disease severity index (DSI).....	99
4.55 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 $\mu\text{g/ml}$ on durian seedlings of <i>Rhizoctonia</i> sp. on disease incidence (DI) after 21 days of incubation.....	102
4.56 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 $\mu\text{g/ml}$ on durian seedlings of <i>Rhizoctonia</i> sp. on disease severity index (DSI).....	103
4.57 Summary of the efficiency of zinc oxide nanoparticles on the growth of 5 fungal genera.....	106
4.58 Summary of the efficiency of zinc oxide nanoparticles on infection of 5 fungal genera.....	107

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 Zinc Oxide Crystal Structure.....	7
2.2 Schematic illustration of the antimicrobial mechanism of ZnO NPs against cells..	8
4.1 Symptoms of <i>Phytophthora</i> disease on naturally infected (a) durian stem, (b) durian fruits.....	19
4.2 Symptoms of die-back disease on naturally infected durian branches.....	19
4.3 Symptoms of fruit rot disease on naturally infected durian fruits.....	20
4.4 Symptoms of leaf spot disease on naturally infected durian leaves.....	21
4.5 Symptoms of leaf blight disease on naturally infected durian leaves.....	22
4.6 Morphological characteristics of <i>Phytophthora palmivora</i> CL4_F1 (above), CL4_S5 (middle), CL4_F10 (below), colony front (A, F, K), and behind (B, G, L) on V8 juice agar for 14 days, mycelium (C, H, M), shapes of sporangium (D, I, N), chlamydospore (E, J, O)	24
4.7 Morphological characteristics of <i>Fusarium</i> sp. CL6_FL1 (above), CL6_FL2 (below), colony front (A, F), and behind (B, G) on PDA for 14 days, mycelium (C, H), shapes of macroconidia (D, I), microconidia (E, J)	26
4.8 Morphological characteristics of <i>Lasiodiplodia</i> sp. CH1_LF1 (above), CH1_LF2 (below), colony front (A, F), and behind (B, G) on PDA for 14 days, mycelium (C, H), shapes of conidia (D, I)	28
4.9 Morphological characteristics of <i>Phomopsis</i> sp. CH1_PF1 (above), CH1_PF2 (below), colony front (A, F), and behind (B, G) on PDA for 14 days, mycelium (C, H), shapes of alpha conidia (D, I), beta conidia (E, J).....	30
4.10 Morphological characteristics of <i>Rhizoctonia</i> sp. CL1_RL1 (A, B, E, F, J), CL1_RL2 (C, D, G, H, K), colony front (A, C), behind (B, D) at 7 days grown on PDA and front (E, G), behind (F, H) at 21 days grown on PDA, mycelium (J, K), sclerotium (I, L).....	32

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.11 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL4_F1 (A-D), CL4_S5 (E-H), and CL4_F10 (C-L) of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates for 7 days.....	34
4.12 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL6_FL1 (A-D) and CL6_FL2 (E-H) of <i>Fusarium</i> sp. isolates for 21 days.....	36
4.13 Symptoms on durian fruits after inoculation with CH1_LF1 (A-D) and CH1_LF2 (E-H) of <i>Lasiodiplodia</i> sp. isolates for 7 days.....	37
4.14 Symptoms of disease caused by <i>Phomopsis</i> sp.....	39
4.15 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CH1_PF1 (A-D) and CH1_PF2 (E-H) of <i>Phomopsis</i> sp. isolates for 21 days.....	39
4.16 Symptoms of disease caused by <i>Rhizoctonia</i> sp.....	41
4.17 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL1_RL1 (A-D) and CL1_RL2 (E-H) of <i>Rhizoctonia</i> sp. isolates for 21 days.....	41
4.18 The effect of the zinc oxide nanoparticles test at various concentrations for controlling CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 isolates of <i>Phytophthora palmivora</i> on V8 agar for 4 days.....	43
4.19 Mycelial characteristics of <i>Phytophthora palmivora</i> after treated with zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml for 4 days under the compound microscope (10x).....	44
4.20 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions...	46
4.21 The effect of the zinc oxide nanoparticles test at various concentrations for controlling CL6_FL1 and CL6_FL2 isolates of <i>Fusarium</i> sp. on PDA agar for 5 days.....	48
4.22 Mycelial characteristics of <i>Fusarium</i> sp. after treated with zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml for 5 days under the compound microscope (10x).....	49

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.23 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions...	50
4.24 The effect of the zinc oxide nanoparticles test at various concentrations for controlling CH1_LF1 and CH1_LF2 isolates of <i>Lasiodiplodia</i> sp. on PDA agar for 3 days.....	52
4.25 Mycelial characteristics of <i>Lasiodiplodia</i> sp. after treated with zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ for 3 days under the compound microscope (10x)	53
4.26 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions...	54
4.27 The effect of the zinc oxide nanoparticles test at various concentrations for controlling CH1_PF1 and CH1_PF2 isolates of <i>Phomopsis</i> sp. on PDA agar for 4 days.....	56
4.28 Mycelial characteristics of <i>Phomopsis</i> sp. after treated with zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ for 3 days under the compound microscope (10x)	57
4.29 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions...	59
4.30 The effect of the zinc oxide nanoparticles test at various concentrations for controlling CL1_RL1 and CL1_RL2 isolates of <i>Rhizoctonia</i> sp. on PDA agar for 2 days.....	61
4.31 Mycelial characteristics of <i>Rhizoctonia</i> sp. after treated with zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ for 2 days under the compound microscope (10x).....	62
4.32 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions...	63

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.33 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions...	65
4.34 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions...	67
4.35 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions...	68
4.36 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions...	72
4.37 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of <i>Phytophthora palmivora</i> isolates CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 on V8 agar for 3 and 6 hr. after incubation.....	74
4.38 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of <i>Fusarium</i> sp. (macroconidia) isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.....	76
4.39 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of <i>Fusarium</i> sp. (macroconidia) isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.....	78
4.40 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on spore germination of <i>Phomopsis</i> sp. isolates CH1_PF1 and CH1_PF2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.....	80
4.41 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on spore germination of <i>Phomopsis</i> sp. isolates CH1_LF1 and CH1_LF2 on PDA agar for 4 and 8 hr. after incubation.....	82
4.42 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on mycelial germination of <i>Rhizoctonia</i> sp. isolates CL1_RL1 and CL1_RL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.....	84
4.43 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL4_F1 of <i>Phytophthora palmivora</i>	87

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.44 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL4_S5 of <i>Phytophthora palmivora</i>	88
4.45 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL4_F10 of <i>Phytophthora palmivora</i>	89
4.46 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL6_FL1 of <i>Fusarium</i> sp....	92
4.47 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL6_FL2 of <i>Fusarium</i> sp....	93
4.48 Symptoms on durian fruits after inoculation with CH1_LF1 of <i>Lasiodiplodia</i> sp....	96
4.49 Symptoms on durian fruits after inoculation with CH1_LF2 of <i>Lasiodiplodia</i> sp.....	97
4.50 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CH1_PF1 of <i>Phomopsis</i> sp.	100
4.51 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CH1_PF2 of <i>Phomopsis</i> sp..	101
4.52 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL1_RL1 of <i>Rhizoctonia</i> sp....	104
4.53 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL1_RL2 of <i>Rhizoctonia</i> sp.	105

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ทุเรียน (*Durio zibethinus* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ในขณะนี้ประเทศไทยสามารถผลิตทุเรียนได้เป็นอันดับ 1 ของโลก โดยในปี 2564 ทุเรียนของไทยมีผลผลิต 1,212,989 ตัน เพิ่มขึ้นจากปี 2563 ที่มีผลผลิต 1,116,068 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) ซึ่งเป็นผลมาจาก การขยายพื้นที่เพาะปลูก แต่กลับพบว่าเนื้อที่เพาะปลูกตลอดจนผลผลิตทุเรียนในแหล่งสำคัญๆ ของไทยลดลง มีสาเหตุหลักมาจากปัญหาทางด้านโรคพืชที่สร้างความเสียหายให้การผลิทุเรียนเป็นอย่างมาก โดยปัญหาสำคัญมาจากเชื้อราซึ่งเป็นสาเหตุของโรค แพร่ระบาดทำความเสียหายให้กับแปลงทุเรียนทั่วทุกพื้นที่ของไทยตั้งแต่อดีตและดูเหมือนจะทวีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน โดยเชื้อราที่สำคัญและรู้จักกันดี เช่น เชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. สาเหตุโรคผลเน่า เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรคใบติด และเชื้อราที่เข้าทำลายลำต้น เช่น *Fusarium* sp. และ *Phomopsis* sp. เป็นต้น (รัตติยา และคณะ, 2563) เนื่องจากเชื้อราสามารถปรับตัวเจริญเติบโตเข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี ทำให้เกิดเป็นแหล่งสะสมของเชื้อโรคพืช โดยเชื้อราสามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ส่งผลให้ผลผลิตลดลง จึงเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งของเกษตรกร (ชลิตา, 2554) ทั้งนี้ในการควบคุมโรคพืช เกษตรกรนิยมใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราเป็นวิธีการจัดการที่รวดเร็วและสะดวกต่อการใช้งาน แต่กลับพบว่าส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคและตกค้างอยู่ในธรรมชาติ (รัตน์ และณัฐพงษ์, 2561) นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงสถานการณ์ที่เชื้อราสาเหตุโรคมีความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการควบคุม เช่น สารกลุ่ม benzimidazole และ phenylamide โดยมีรายงานว่ามีความเสี่ยงต่อการดื้อยาสูง เป็นสารชนิดดูดซึม สามารถคงประสิทธิภาพอยู่ในพืชได้นาน จึงมีโอกาสน้อยที่โรคพืชจะสร้างความต้านทานต่อสาร (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2562) ปัจจุบันมีการใช้สารทดแทนสารเคมีจากการพัฒนาอีกรูปแบบหนึ่ง คือการนำวัสดุนาโนมาประยุกต์ใช้งาน โดยใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ซึ่งเป็นสารประกอบที่พบเห็นได้ในธรรมชาติ มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา รวมถึงส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและต้านทานการเกิดโรค (สุปราณี, 2558) อนุภาคนาโน ซิงค์ออกไซด์จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ เพื่อลดความเสี่ยงจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อเก็บรวบรวม แยกเชื้อรา และจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรคทุเรียน
2. เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia* sp. บนทุเรียน
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา และการติดเชือบนทุเรียน

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงขั้นตอนการเก็บรวบรวม แยกเชื้อราและการจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรคทุเรียน
2. ทราบถึงความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรคทุเรียน
3. ทราบถึงประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการยับยั้งเชื้อราและการติดเชือบนทุเรียน

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของทุเรียน

แหล่งปลูกทุเรียนสำคัญของโลกส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่ประเทศกลุ่มอาเซียน ได้แก่ ไทย เวียดนาม มาเลเซีย อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์ ซึ่งถือว่าไทยเป็นแหล่งผลิตอันดับ 1 ของโลก เป็นผู้ส่งออกทุเรียน รายใหญ่ทั้งด้านปริมาณและมูลค่า ปี 2564 การส่งออกทุเรียนและผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นจาก 653,476 ตัน มูลค่า 72,567 ล้านบาท คิดเป็นร้อยละ 38.43 ในปี 2563 เป็น 904,597 ตัน มูลค่า 115,095 ล้านบาท คิดเป็นร้อยละ 58.61 โดยแบ่งเป็นทุเรียนสด 860,532 ตัน ทุเรียนแช่แข็ง 43,245 ตัน ทุเรียนอบแห้ง 333 ตัน และทุเรียนกวน 487 ตัน ซึ่งตลาดส่งออกหลักของไทยคือประเทศจีน โดยส่งออกในรูปทุเรียนสดมากกว่า ร้อยละ 90 ของการส่งออกทั้งหมด ความต้องการบริโภคทุเรียนสดและผลิตภัณฑ์ภายในประเทศมีปริมาณ ลดลงร้อยละ 35.84 เนื่องจากทุเรียนเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคโดยเฉพาะตลาดจีน ส่งผลให้ราคาส่งออกสูงกว่าราคาในประเทศ ใจเกษตรกรเพิ่มการส่งออกประกอบกับการพัฒนาระบบการขนส่งและโลจิสติกส์ของ จีน ช่วยให้กระจายผลผลิตไปยังผู้บริโภคในมณฑลต่าง ๆ ของจีนได้ง่ายและสะดวกรวดเร็วมากยิ่งขึ้น เกษตรกรชาวสวนทุเรียนและสหกรณ์จึงเน้นการส่งออกทุเรียนมากขึ้น ทั้งนี้การบริโภคภายในประเทศขึ้นอยู่กับ ปริมาณผลผลิตที่ออกสู่ตลาดและปริมาณการส่งออก (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจ การเกษตร, 2565)

2.2 เชื้อราสาเหตุโรคทุเรียนที่สำคัญ

2.2.1 *Phytophthora* sp.

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

Kingdom Chromista

Class Oomycetes

Order Peronosporales

Family Pythiaceae

Genus *Phytophthora*

ทุเรียนที่เกิดโรครากเน่า โคนเน่า (Root and Foot Rot) จากเชื้อรา *Phytophthora* spp. มีลักษณะอาการเน่าที่โคนต้นหรือกิ่ง สังเกตเห็นผิวเปลือกของลำต้นหรือกิ่งคล้ายมีคราบน้ำเกาะติดเห็นได้ชัด ในสภาพที่ต้นทุเรียนแห้ง ในช่วงเช้าที่มีอากาศชุ่มชื้นจะมองเห็นหยดน้ำยาสีน้ำตาลแดงไหลออกมาจากรอยแผลแตกของลำต้นหรือกิ่งและจะค่อยๆ แห้งไปในช่วงกลางวันที่มีแดดจัด ทำให้เห็นเป็นคราบน้ำจับบนเปลือกของลำต้น เมื่อถากเปลือกของลำต้นบริเวณที่มีคราบน้ำยาสีน้ำตาลแดงหรือสีน้ำตาลเข้ม ส่วนอาการเน่าที่เกิดกับรากเล็กหรือรากฝอย เนื้อเยื่อรากจะเปื่อยขาดออกจากกันได้ง่าย (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2562) การเข้าทำลายของเชื้อราเกิดขึ้นจากทางรากและลูกกลมสู่โคนต้น ในสภาพดินที่มีการระบายน้ำไม่ดี มีความชื้นและอยู่ตลอดเวลาเป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต โดยจะสร้างเส้นใยสีขาว สร้างสปอร์ขึ้นจำนวนมาก เป็นแหล่งกำเนิดของ zoospore ซึ่งมีหางเคลื่อนที่ไปตามน้ำเข้าทำลายรากพืช สามารถพักตัวอยู่ในดินได้เป็นเวลานานหลายปี ในรูปแบบของ chlamydospores แพร่ระบาดติดไปกับฝนหรือกระจายไปกับกระแสลมได้ (ทวี, 2543) การควบคุมโรคควรมีการจัดการแปลงให้มีการระบายน้ำที่ดี ไม่ท่วมขัง ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยใส่ลงดิน หากจำเป็นต้องใช้สารเคมีป้องกันกำจัด แนะนำสารเคมีกลุ่มที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ เช่น เมทาแลกซิล (metalaxy) และ ฟอสฟิธิล-อะลูมิเนียม (fosetyl-aluminium) (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2562)

2.2.2 *Fusarium* sp.

เชื้อรา *Fusarium* sp. จัดจำแนกตาม Link (1809) ดังนี้

Kingdom Fungi

Class Sordariomycetes

Order Hypocreales

Family Nectriaceae

Genus *Fusarium*

เชื้อรา *Fusarium* sp. เป็นเชื้อสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรครากเน่า มีลักษณะเป็นแผลสีน้ำตาลบริเวณปลายยอด แผลแห้ง เนื้อไม้มีลักษณะย่น พบเส้นใยสีขาวหรือสีชมพูอมส้มเจริญปกคลุมที่แผลบางๆ หรือเป็นปื้น เมื่อผ่าดูบริเวณเนื้อส่วนยอดที่เป็นโรคจะเป็นแผลสีน้ำตาล กิ่งใหญ่มีลักษณะแห้ง บริเวณกลางกิ่งอาจพบเป็นแผลแห้ง ขอบแผลมีสีน้ำตาลปนแดง อาการของทุเรียนมีลักษณะใบบิดเบี้ยวบริเวณปลายยอดและเมื่อสภาพอากาศร้อนส่งผลให้เกิดลักษณะไหม้ที่บริเวณปลายหรือขอบใบ จากนั้นใบจะร่วง กิ่งแห้งและลามมายังส่วนล่างของกิ่ง หากอาการรุนแรงจะส่งผลให้ต้นทุเรียนโทรม (รัตติยา และคณะ, 2563) ในการควบคุมโรคจะต้องตัดแต่งส่วนที่เป็นโรคออก ไม่ควรทิ้งไว้ในแปลงปลูก เพราะทำให้เป็นแหล่งสะสมเชื้อสาเหตุโรคสามารถกลับมาทำลายทุเรียนได้อีกและจำเป็นที่จะต้องใส่สารเคมีป้องกันกำจัดที่เหมาะสม มีประสิทธิภาพ

เพื่อหยุดการเจริญของเชื้อราสาเหตุ เช่น แมนโคแซ็บ (mancozeb), ไอโพรไดโอน (iprodione) และโพคลอราซ (prochloraz) (รัตติยา, 2563)

2.2.3 *Lasiodiplodia* sp.

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. จัดจำแนกตาม Barnett and Hunter (1987) ดังนี้

Kingdom Fungi

Class Deuteromycetes

Order Sphaeropsidales

Family Sphaeropsidaceae

Genus *Lasiodiplodia*

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. สาเหตุของโรคทุเรียน ส่งผลให้เกิดโรคผลเน่า มีลักษณะอาการเป็นแผลสีน้ำตาลที่ผล เมื่อแผลขยายมากขึ้นพบเส้นใยสีเทาปนเขียวขึ้นฟูบริเวณแผล อาการเน่าลามไปถึงส่วนเปลือกด้านในเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงและส่วนเนื้อของทุเรียนมีลักษณะนิ่มฉ่ำน้ำ ซึ่งสามารถแพร่กระจายโดยทางลม น้ำ ดิน และใบ เข้าสู่ผลโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนที่มีความชื้นสูง เชื้อราจะเข้าทำลายตั้งแต่ระยะผลอ่อนจนกระทั่งผลแก่ แหล่งที่มาของเชื้อเกิดจากการสะสมในแปลงจากส่วนของพืชที่เป็นโรค เศษซากพืชและดินที่มีเชื้อสาเหตุโรค โดยหยดน้ำกระเด็นมาถูกหรือน้ำฝนที่ตกลงมากระทบสปอร์แล้วถูกลมพัดไป รวมถึงการสัมผัสกันระหว่างผลปกติกับผลที่เป็นโรค (สำนักงานควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2563) ในการควบคุมโรคทำได้โดยการตัดผลเน่าที่ร่วงหล่นอยู่ในบริเวณสวนไปเผาทำลายและหลังเก็บเกี่ยวตัดแต่งกิ่งแห้ง กิ่งที่เป็นโรค ทารอยแผลที่ตัดด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น ไธอะเบนดาโซล (thiabendazole) และ เบนโนมิล (benomyl) (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2562)

2.2.4 *Phomopsis* sp.

เชื้อรา *Phomopsis* sp. จัดจำแนกตาม Webster and Weber (2007) ดังนี้

Kingdom Fungi

Class Sordariomycetes

Order Diaporthales

Family Diaporthaceae

Genus *Phomopsis*

เชื้อรา *Phomopsis* sp. เข้าทำลายทุเรียน ก่อให้เกิดโรคใบจุดได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงต้นโต มีลักษณะอาการเป็นจุดสีน้ำตาล ขอบแผลมีสีเข้มปรากฏวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบกระจายอยู่บนใบและเชื้อราสาเหตุโรคที่อยู่บริเวณใบสามารถแพร่กระจายไปสู่บริเวณอื่นๆ โดยเฉพาะในส่วนของผล ซึ่งจะทำให้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดอาการผลเน่าภายหลัง นอกจากนี้เชื้อรา *Phomopsis* sp. ยังมีคุณลักษณะในการเข้าทำลายแบบเชื้อแฝง กล่าวคือ เนื้อเยื่อของพืชมีการเข้าทำลายของเชื้อ *Phomopsis* sp. แต่ยังไม่ปรากฏอาการของโรคให้เห็น โดยเชื้อราสามารถเจริญครอบคลุมภายในเนื้อเยื่อพืชและสร้างส่วนขยายพันธุ์ คือ pycnidium เป็นโครงสร้างสำหรับห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อราในระยะสืบพันธุ์บนเนื้อเยื่อใบที่ตายแล้ว เนื้อเยื่อใบที่มีการติดเชื้อเป็นจำนวนมากในแหล่งปลูก จะเป็นแหล่งของเชื้อที่แพร่กระจายเข้าสู่ในส่วนของผลได้ตลอดเวลา (วิระณีย์ และสมศิริ, 2559) จึงควรตัดแต่งใบที่เป็นโรคไปเผาทำลาย เพื่อเป็นการลดปริมาณเชื้อสาเหตุ สำหรับสารเคมีป้องกันกำจัด หากมีความจำเป็นในการใช้ เช่น เบนอมิล (benomyl) หรือ คาร์เบนดาซิม (carbendazim) (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2562)

2.2.5 *Rhizoctonia* sp.

เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. จัดจำแนกตาม Barntte and Hunter (1983) ดังนี้

Kingdom Fungi

Class Agaricomycetes

Order Cantharellales

Family Ceratobasidiaceae

Genus *Rhizoctonia*

เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. เป็นเชื้อสาเหตุของโรคใบติด ทำให้ต้นทรุดโทรม กิ่งใหญ่แห้งตาย พบมากในแหล่งปลูกที่มีความชื้นสูงและต้นทุเรียนมีทรงพุ่มแน่นทึบ เชื้อราเข้าทำลายใบอ่อนได้ดีในช่วงฤดูฝน มีลักษณะอาการเกิดที่ใบเพสลาดเป็นโรคจะมีจุดฉ่ำน้ำรูปร่างไม่แน่นอน แผลจะขยายใหญ่ขึ้นคล้ายถูกน้ำร้อนลวกเป็นสีน้ำตาลอ่อนและแผลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อใบเริ่มแก่ขึ้น อาการไหม้อาจจะเกิดที่บริเวณขอบใบด้านปลายใบ กลางใบหรือทั้งใบ ใบที่ถูกเชื้อราทำลายจะมีเส้นใยสีน้ำตาลอ่อนยึดอยู่เป็นแผงและเส้นใยของเชื้อราสามารถทำลายใบที่อยู่ติดกันได้ ซึ่งเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. สามารถแพร่กระจายโดยใบที่เป็นโรคร่วงหล่นไปตกค้างอยู่กับใบอ่อนที่อยู่ในตำแหน่งถัดลงมาและบริเวณโคนต้นทำให้เกิดแหล่งสะสมของเชื้อที่จะแพร่กระจายในช่วงฤดูฝนและช่วงที่มีความชื้นสูง (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2562) ควบคุมโรคโดยการตัดแต่งใบที่เป็นโรคนำไปเผาทั้ง หากอาการของโรคมีความรุนแรงจำเป็นต้องสารเคมี เช่น เฮกซะโคนาโซล (hexaconazole), คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (copper oxychloride) และ คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ (copper hydroxide) (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2562)

2.3 อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (Zinc oxide nanoparticles; ZnO NPs)

ซิงค์เป็นธาตุอาหารรอง มีหน้าที่หลักในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและยังใช้เป็นสารที่ใช้ในการเกษตรอย่างแพร่หลายเพื่อป้องกันและกำจัดโรคพืช โดยออกฤทธิ์ให้ผลในทางป้องกันโรคพืช (ปรีชา, 2553) จึงมีความจำเป็นต่อพืช เนื่องจากเป็นสารที่ช่วยในการทำงานของเอนไซม์ สำหรับขบวนการทางชีวเคมีของพืช (บุษบา, 2562)

ในทางทฤษฎีซิงค์ออกไซด์ (Zinc oxide; ZnO) เป็นสารประกอบทางเคมี มีโครงสร้างผลึกเป็นแบบ Hexagonal Wurtzite (Figure 2.1) อยู่ในรูปของผงแป้งสีขาว ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเมื่อถูกให้ความร้อน และกลับเป็นสีขาวตามเดิมเมื่ออุณหภูมิลดลง เนื่องจาก ZnO เป็นสารกึ่งตัวนำที่มีช่องว่างแถบพลังงานกว้างประมาณ 3.34 eV แสดงถึงสมบัติทางแสงและสมบัติทางไฟฟ้าที่ดี สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวางในหลายด้าน เช่น การแพทย์ เกษษกรรม ทันตกรรม เกษตรกรรมและอุตสาหกรรม (ฉัตร, 2560)



Figure 2.1 Zinc Oxide Crystal Structure

(Source: Desgeniers, 1998)

การประยุกต์ใช้เพื่อการเพิ่มศักยภาพ สามารถลดขนาดของโครงสร้างซิงค์ออกไซด์ให้เล็กลงจนมีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตร (Zinc oxide nanoparticles; ZnO NPs) ทำให้มีความบริสุทธิ์สูงและมีประสิทธิภาพการทำงานสูงขึ้น จากสมบัติและกลไกการทำงานที่หลากหลาย จึงถูกนำไปประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะการนำไปผสม (composite) กับวัสดุอื่น เพื่อดัดแปลงและพัฒนาคุณสมบัติเฉพาะของวัสดุนั้น (ฉัตร, 2560)

กลไกการออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อราของ ZnO NPs ตามรายงานของ Mohd et al. (2019) (Figure 2.2) มีดังนี้

1. อนุภาค ZnO NPs ปลดปล่อยอนุมูลอิสระออกซิเจน (reactive oxygen species; ROS) คือ superoxide anion radical (O_2^-), hydroxyl radical (HO) และ hydrogen peroxide (H_2O_2) ทำลายไขมันและโปรตีนของ cell membrane เกิดการสลายของเหลวภายใน cell รั่วไหล รวมทั้งเข้าสู่ภายใน cell ทำลายดีเอ็นเอโดยตรง และทำลายโปรตีนต่างๆ ในเซลล์ เชื่อตายในที่สุด
2. อนุภาค ZnO NPs ปลดปล่อย Zn^{2+} จากการสลายตัวของ ZnO NPs ทำลาย cell membrane และ เข้าสู่ cell ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ กรดอะมิโนและการเผาผลาญโปรตีนภายในเซลล์
3. อนุภาค ZnO NPs เข้าทำลาย cell membrane โดยตรง ผ่านแรงไฟฟ้าสถิตทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ และเกิดการรั่วไหลภายในเซลล์

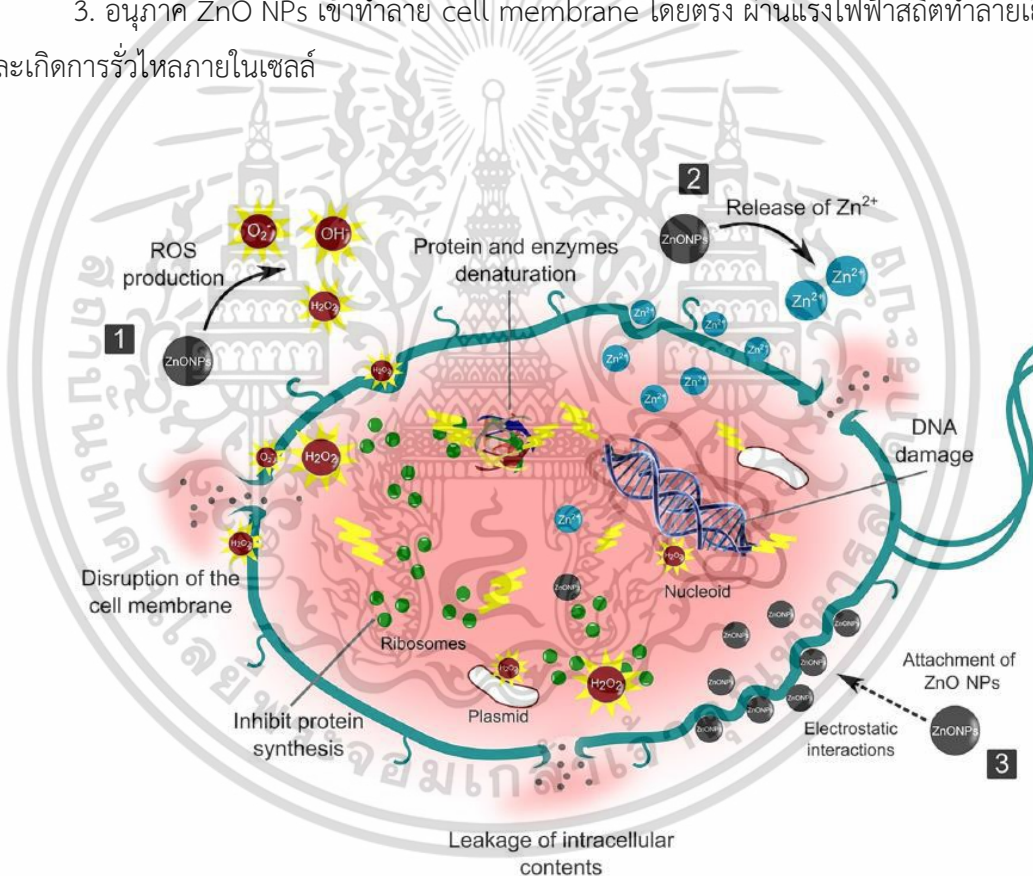


Figure 2.2 Schematic illustration of the antimicrobial mechanism of ZnO NPs against cells.

(Source: Mohd et al. 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุปราณี (2558) ศึกษาผลของการใช้สารนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการยับยั้งการเกิดโรคราแป้งของมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Oidium mangiferae* Benthet โดยกำหนดความเข้มข้นของนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ 5, 10 และ 15 g/l ทดสอบด้วยวิธี Poisoned Food Technique จากผลการทดลอง โดยวัดการเจริญของเชื้อรา เมื่อครบ 7 วัน พบว่า ความเข้มข้น 15 g/l สามารถยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่าความเข้มข้นของนาโนซิงค์ออกไซด์ 15 g/l มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรามากที่สุด คือ 78.79% ส่วนความเข้มข้นที่ 10 และ 5 g/l คือ 75.76% และ 72.19% ตามลำดับ

นิสาชล และ การะเกด (2559) ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อราของนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคพืช 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. และ *Colletotrichum* sp. ด้วยวิธี Poisoned Food Technique ผสมสารนาโนซิงค์ออกไซด์กับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ความเข้มข้น 500 ppm บันทึกผลการทดลอง หลังจาก 7 วัน พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ดีที่สุด ลักษณะเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopes) เป็นลักษณะพื้นผิวของเส้นใยที่ผิดปกติ โดยมีลักษณะย่นและบาง ขาดออกจากกัน ไม่พบการสร้างสปอร์

เบญจวรรณ และคณะ (2559) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคใบร่วงของยางพารา โดยใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ ทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ซึ่งสามารถยับยั้งได้ที่ 83.80% และ 90.09% ตามลำดับ ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายนอกเซลล์ ทำให้เส้นใยและสปอร์แรงเจียมมีรูปร่างผิดปกติ และพบว่าให้ค่าการยับยั้ง minimum inhibitory concentration (MIC) ที่ค่าความเข้มข้นตั้งแต่ 500 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ และค่า (minimum fungicide concentration) MFC ที่ความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ เป็นต้นไป

Ramy and Osama (2013) ศึกษาอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยใน *F. oxysporum* อยู่ในช่วง 19.3–77.5% ตามความเข้มข้นของ ZnO NPs เพิ่มขึ้นจาก 2–12 mg/L^{-1}

Khan and Siddiqui (2018) ศึกษาอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการจัดการเชื้อรา *Ralstonia solanacearum*, *Phomopsis vexans* และ *Meloidogyne incognita* สาเหตุโรคมะเขือยาว ทำการทดลอง 3 กรรมวิธี คือ การฉีดพ่น, รักษาเมล็ด และปลูกเชื้อลงในดิน โดยใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีที่ดีที่สุดได้แก่ วิธีการฉีดพ่น ในระดับความ

เข้มข้นที่ 200 ppm ระดับการเกิดโรคอยู่ในระดับ 1 คือ มีอาการเหี่ยว ถูกทำลาย 12.6–25% เมื่อได้รับการฉีดพ่นที่ความเข้มข้น 200 ppm ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopes) พบว่าผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรคมีความเสียหาย

Siddiqui et al. (2018) ศึกษาผลของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อเชื้อก่อโรคบางชนิด ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการเกิดปมของถั่วเลนทิล ทำการทดลองโดยการแยกเชื้อจากถั่วที่แสดงอาการของโรค ตรวจสอบและจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่ามีเชื้อสาเหตุมาจากเชื้อรา *Alternaria alternata* และ *Fusarium oxysporum* ทดสอบความสามารถในการควบคุม

Guerrero et al. (2020) ศึกษาฤทธิ์ต้านของซิงค์ออกไซด์ ต่อเส้นใย เชื้อรา *R. solani*, *Sclerotium rolfsii*, *F. oxysporum* ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 ppm พบว่าส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเส้นใย เกิดการหดตัวอย่างเห็นได้ชัด ทั้งนี้ยังพบว่าสปอร์ของเชื้อรา *S. rolfsii*, *F. oxysporum* ถูกทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโต

Ritmontree and Kongtragoul (2021) ได้ประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ขนาดอนุภาค 25-50 nm ที่ระดับความเข้มข้น 500 1000 และ 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$ ต่อเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคทุเรียน พบว่าความเข้มข้นที่สูงขึ้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการติดเชื้อเพิ่มมากขึ้น โดยความเข้มข้นที่สูงสุด คือ 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$ สามารถยับยั้งการติดเชื้อได้ 50.52% และ 43.70%

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 ศึกษาลักษณะอาการ เก็บรวบรวมและแยกเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียน 5 สกุล

ศึกษาลักษณะอาการ เก็บรวบรวมและบันทึกลักษณะอาการตัวอย่างของโรคจากเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรค โดยสังเกตลักษณะอาการโรครากเน่า โคนเน่า โรคกิ่งแห้ง โรคผลเน่า ใบจุดและใบติด

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกรายละเอียดตัวอย่างโรคทุเรียน
- ถ่ายภาพ

แยกเชื้อสาเหตุโรค โดยใช้วิธี Tissue transplanting ตัดชิ้นพืชบริเวณแผลที่พืชโดนเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุ ให้มีขนาด 0.5×0.5 cm. ฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวโดยแช่ 10% Clorox (Clorox Regular Bleach, USA) ประมาณ 3-5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 3-5 นาที ซับด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำชิ้นส่วนพืชไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ water agar (WA) (Biomark, China) หรือ V8 agar ผสม Selective media ซึ่งเป็นจำเพาะสำหรับแยกเชื้อรา *P. palmivora* ตามวิธีการของ Jeffers and Martin (1986); Ferguson and Jeffers (1999) and Sarker et al. (2020) เตรียมโดยแสดงตาม (Table 3.1) ภายในตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow clean bench) (Thermo Scientific-1300 Series A2) นำไปป้อนไว้ในตู้ป้อนเชื้อ (Incubator) (ยี่ห้อ Memmert รุ่น 30-1060) 2-3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสังเกตเห็นเส้นใยของเชื้อราที่เจริญออกมาใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. ตัดบริเวณปลายเส้นใยที่เจริญออกมาวางบนอาหาร V8 หรือ Potato dextrose agar (PDA) (Difco™, USA) สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี single spore isolate (SSI) ตามวิธีการของ Ho and Ko (1997) โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร WA เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง จากนั้นตัดชิ้นวุ้นที่มีเพียงสปอร์เดียว เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5-7 วัน และเก็บไว้ใน PDA slant สำหรับใช้ในการศึกษาต่อไป

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

Ingredient	Amount per	A.I. Concentration
	1.0 Liter	(PPM)
<u>Basal Medium</u>		
*Clarified V8 Concentrate	200 ml	
Distilled Water	800 ml	
Bacto Agar (Difco, USA)	15 g	
<u>Amendments</u>		
Nystatin (Phyto technology Laboratories©, India)		12.5
Ampicillin (Goldbio©, USA)		250
Rifamycin (Goldbio©, USA)		10
Hymexazol (TCI (shanghai) Development Co., LTD., China)		12.5
*Clarified V8 Concentrate = Buffered V8 Juice [1.0 g CaCO ₃ /100 ml V8 Juice] clarified by:		
<ul style="list-style-type: none"> • Centrifugation [10000 RPM for 20 min] & filtration [2 layers of Whatman No. 1 with vacuum], or • 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] 		
Sources: Jeffers and Martin (1986); Ferguson and Jeffers (1999) and Sarker <i>et al.</i> (2020)		

3.2 ศึกษาและจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียนโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เชื้อราบริสุทธิ์จากการแยกด้วยวิธี SSI เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 หรือ PDA เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Optika Italy รุ่น B-383) จัดจำแนกชนิดของเชื้อราโดยเปรียบเทียบลักษณะเชื้อรากับคู่มือการจัดจำแนก *Phytophthora* ตาม Erwin and Ribeiro (1996), *Fusarium* ตาม Link (1809), *Lasiodiplodia* ตาม Barnett and Hunter (1987), *Phomopsis* ตาม Webster and Weber (2007) และ *Rhizoctonia* ตาม Barntte and Hunter (1983)

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกลักษณะและสีของโคโลนี
- ถ่ายภาพลักษณะเส้นใย ลักษณะสปอร์และวัดขนาดสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.3 การทดสอบความสามารถในการทำให้ก่อโรค (Pathogenicity test)

3.3.1 การเตรียมต้นกล้าและผลทุเรียน

เตรียมต้นกล้าทุเรียนพันธุ์หมอนทองอายุ 6 เดือนที่ไม่มีบาดแผลและการเข้าทำลายของโรค เตรียมผลทุเรียนพันธุ์หมอนทอง นำมาตัดชิ้นส่วนขนาดประมาณ 8×10 cm. ล้างด้วย 10%Clorox เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 2–3 นาที

3.3.2 การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียน

เชื้อรา *P. palmivora*

เลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

เชื้อรา *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia* sp.

เลี้ยงเชื้อรา *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

3.3.3 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา

เชื้อรา *P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia* sp.

ทำ spore suspension ความเข้มข้น 1×10^5 spores/ml ฉีดพ่นลงบนต้นกล้าทุเรียนจากการเตรียมในข้อ 3.3.1 แล้วคลุมด้วยถุงพลาสติก เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำต้นกล้าทุเรียนออกจากถุง ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ ดัดแปลงวิธีการของ รุ่งทิพย์ (2557); วีระณีย์ และสมศิริ, (2559)

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp.

ทำบาดแผลบนผลทุเรียนจากการเตรียมไว้ในข้อ 3.3.1 โดยตัดหนามให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. จากนั้นทำการปลูกเชื้อลงบนบาดแผลด้วยเส้นใยเชื้อราจากการเลี้ยงเชื้อรา ในข้อ 3.3.2 โดยใช้ cork borer เจาะบริเวณขอบโคโลนี ย้ายชิ้นวุ้นลงบนบาดแผลให้สัมผัสกับเนื้อเยื่อของผลทุเรียน คลุมผลทุเรียนด้วยถุงพลาสติก เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำผลทุเรียนออกจากถุง ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ โดยดัดแปลงวิธีการของ Piasai (2021)

การบันทึกข้อมูล

- วันที่เริ่มแสดงอาการของโรค
- ประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Disease incidence: DI)

โดยใช้สูตร

$$\frac{\text{จำนวนต้นที่เกิดโรค}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$$

- ประเมินระดับความรุนแรงของโรค (Disease severity index: DSI)

มี 5 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 = ไม่แสดงอาการของโรค

ระดับ 1 = แสดงอาการของโรค 1-25%

ระดับ 2 = แสดงอาการของโรค >25-50%

ระดับ 3 = แสดงอาการของโรค >50-75%

ระดับ 4 = แสดงอาการของโรค >75-100%

โดยใช้สูตร

$$\left[\frac{\text{จำนวนต้นในแต่ละระดับความรุนแรง} \times \text{ระดับความรุนแรง}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับความรุนแรงสูงสุด}} \right] \times 100$$

3.4 ประเมินประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ต่อเชื้อรา 5 สกุล ในสภาพห้องปฏิบัติการ

3.4.1 ทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใย

ทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ด้วยวิธี Poisoned Food Technique โดยการผสม ZnO NPs ในอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 หรือ PDA ที่ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 500, 1000 และ 2000 µg/ml ตามลำดับ จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 cm. ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา ย้ายชิ้นวุ้นวางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสม ZnO NPs ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จากนั้นนำไปตรวจสอบลักษณะเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า

การบันทึกข้อมูล

- วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย

การวิเคราะห์ข้อมูล

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (Percent inhibition of mycelial growth; PIMG)

$$PIMG = \frac{C - T}{C} \times 100$$

C = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม

T = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชุดทดลอง

การประเมินประสิทธิภาพของ ZnO NPs

นำผลการทดลองมาแสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น โดยกำหนดให้ (แกน X) เป็นค่า log ของความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่ใช้ทดสอบ และให้ (แกน y) เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต จะได้ค่าความเข้มข้น นำมาหาค่า antilog จะได้ความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (Half Maximum Effective Concentration; EC₅₀) ดังสมการ

$$Y = a \ln(X) + b$$

กำหนดให้ Y = เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

X = ความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

โดยนำค่า EC₅₀ ที่คำนวณได้จากสมการดังกล่าว ประเมินประสิทธิภาพของ ZnO NPs

3.4.2 ทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการยับยั้งการสร้างสปอร์

ทำการนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp. และ *Phomopsis* sp. บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการทดสอบในข้อ 3.4.1 โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. ตัดโคโลนีของเชื้อราแต่ละความเข้มข้น แล้วย้ายขึ้นเชื้อจำนวน 10 ชิ้น ใส่ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 10 ml. โดยดัดแปลงวิธีการของ Marinho et al., 2018

การบันทึกข้อมูล

- นับความหนาแน่นของจำนวนสปอร์เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์

3.4.3 ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์และเส้นใย

ทำ spore suspensions ของเชื้อรา *P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp. และ *Phomopsis* sp. ปรับระดับความเข้มข้น 1×10^5 spores/ml ส่วนเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ทำ mycelial suspension ความเข้มข้น 1×10^5 spores/ml สำหรับหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 หรือ PDA ผสมกับ ZnO NPs ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$ ตามลำดับ จากนั้นตัดชิ้นวุ้น ขนาด 1.5x1.5 cm. โดยหยด spore suspensions และ mycelial suspension ปริมาณ 40 μl วางลงบนแผ่นสไลด์ ปิดด้วยแผ่น cover slip บ่มในกล่องขึ้นที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบความงอกและดูการงอกของสปอร์เชื้อรา *P. palmivora*, *Fusarium* sp. การงอกของเส้นใย *Rhizoctonia* sp. ที่เวลา 0, 3, 6 ชั่วโมง ส่วนสปอร์เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. และ *Phomopsis* sp. ที่เวลา 0, 4, 8 ชั่วโมง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยการนับกรรมวิธีละ 5 ซ้ำ

การบันทึกข้อมูล

- วัดความยาว germ tube ของสปอร์ และความยาวเส้นใยที่งอก
- นับจำนวนสปอร์และเส้นใยที่งอก เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอก

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกในพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร (percent inhibition of spore gemination; PISG)

$$\text{PISG} = \frac{\text{TS} - \text{SG}}{\text{TS}} \times 100$$

TS = จำนวนสปอร์ทั้งหมด

SG = จำนวนสปอร์ที่งอก

3.5 ประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนต้นกล้าและผลทุเรียน

3.5.1 ทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

ทำการปลูกเชื้อรา 5 สกุลเช่นเดียวกับวิธีการทดลองในข้อ 3.3 วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยทำการทดลอง 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ปลูกเชื้อรา (negative control) ชุดควบคุม

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อรา (positive control) ชุดควบคุม

กรรมวิธีที่ 2 ฉีดพ่น/จุ่ม ZnO NPs ในอัตราความเข้มข้น $2000 \mu\text{g/ml}^{-1}$

กรรมวิธีที่ 3 ฉีดพ่น/จุ่ม ZnO NPs ในอัตราความเข้มข้น $4000 \mu\text{g/ml}^{-1}$

กรรมวิธีที่ 4 ฉีดพ่น/จุ่ม ZnO NPs ในอัตราความเข้มข้น $8000 \mu\text{g/ml}^{-1}$

ฉีดพ่น ZnO NPs บนต้นกล้าทุเรียนจำนวน 2 ครั้ง หลังจากการฉีดพ่นเชื้อรา *P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia* sp. เป็นเวลา 7 และ 14 วัน นำข้อมูลมาเปรียบเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม

สำหรับเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. จุ่มผลทุเรียนหลังจากการปลูกเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ข้อมูลมาเปรียบเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม

การบันทึกข้อมูล

- สังเกตอาการของโรค
- ประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Disease incidence: DI)
- ประเมินระดับความรุนแรงของโรค (Disease severity index: DSI)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาลักษณะอาการ เก็บรวบรวมและแยกเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียน 5 สกุล

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียนที่คาดว่าเกิดจากเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่ก่อให้เกิดความเสียหายบนส่วนลำต้น กิ่ง ผล และใบของต้นทุเรียน ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคที่ก่อให้เกิดอาการลำต้นเน่า ผลเน่า กิ่งแห้ง ใบจุด และใบไหม้ โดยสามารถเก็บรวบรวมได้ดังแสดงในตารางที่ 4.1

Table 4.1 The pathogen in this study infected on different parts of the durian.

Part of durian	Diseases	Genus
stem	stem rot	<i>Phytophthora</i> spp.
branches	die-back	<i>Fusarium</i> sp.
fruits	fruit rot	<i>Phytophthora</i> spp., <i>Lasiodiplodia</i> sp.
leaves	leaf spot, leaf blight	<i>Phomopsis</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp.

เชื้อรา *Phytophthora palmivora*

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียนที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. ลักษณะอาการที่พบเกิดขึ้นบริเวณลำต้น เปลือกของลำต้นจะแตกและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงน้ำตาลม่วง ในสภาพอากาศชื้นจะพบเมือกเฝิ้มออกมาจากเปลือกของลำต้น เมื่อขูดเปลือกออกพบว่าเนื้อไม้ภายในเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง (Figure 4.1a) และที่บริเวณผล อาการเริ่มแรกจะเกิดจุดแผลซ้ำสีน้ำตาลปนเทา ต่อมาจุดแผลจะขยายใหญ่ ลูกกลมมากขึ้นตามการสุกของผล ลูกกลมเข้าไปถึงเนื้อด้านใน ทำให้เนื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (Figure 4.1b) ทำการแยกด้วยวิธี Tissue transplanting สามารถแยกได้จำนวน 3 ไอโซเลท คือ CL4_F1, CL4_S5 และ CL4_F10



Figure 4.1 Symptoms of *Phytophthora* disease on naturally infected (a) durian stem, (b) durian fruits.

เชื้อรา *Fusarium* sp.

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียนที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. อาการที่พบเกิดขึ้นบริเวณปลายกิ่งมีเชื้อราสีขาวเจริญปกคลุม ใบที่ติดปลายกิ่งมีลักษณะแห้ง บิดเบี้ยว โดยกิ่งจะแสดงอาการแห้งจากปลายยอดลามเข้ามายังส่วนล่างของกิ่ง ทำการแยกด้วยวิธี Tissue transplanting สามารถแยกได้จำนวน 2 ไอโซเลท คือ CL6_FL1 และ CL6_FL2



Figure 4.2 Symptoms of die back disease on naturally infected durian branches.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp.

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียนที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. พบว่ามีบาดแผลเกิดขึ้นที่ผล รอยแผลสีน้ำตาลและนูน สามารถขยายใหญ่ขึ้น โดยมีเส้นใยสีเทาฟูปกคลุมและเจริญลูกกลมอย่างรวดเร็ว ทำการแยกด้วยวิธี Tissue transplanting สามารถแยกได้จำนวน 2 ไอโซเลท คือ CH1_FL1 และ CH1_FL2



Figure 4.3 Symptoms of fruit rot disease on naturally infected durian fruits.

เชื้อรา *Phomopsis* sp.

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียนที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Phomopsis* sp. อาการเกิดขึ้นที่ใบ พบว่ามีแผลเป็นจุดขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไป รูปร่างค่อนข้างกลมหรือรี โดยตรงกลางแผลสีน้ำตาลล้อมรอบด้วยสีเขียวเหลือง ทำการแยกด้วยวิธี Tissue transplanting สามารถแยกได้จำนวน 2 ไอโซเลท คือ CH1_PF1 และ CH1_PF2



Figure 4.4 Symptoms of leaf spot disease on naturally infected durian leaves.

เชื้อรา *Rhizoctonia* sp.

จากการเก็บตัวอย่างโรคทุเรียนที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. อาการที่พบใบเพสลาดมีลักษณะเป็นจุดฉ่ำน้ำรูปร่างไม่แน่นอน ขนาดแผลจะขยายใหญ่ขึ้น เมื่อใบแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สร้างเส้นใยเชื้อรายึดใบให้ติดกัน เกิดอาการใบแห้งเป็นหย่อมๆ ทำการแยกด้วยวิธี Tissue transplanting สามารถแยกได้จำนวน 2 ไอโซเลท คือ CL1_RL1 และ CL1_RL2



Figure 4.5 Symptoms of leaf blight disease on naturally infected durian leaves.

4.2 ศึกษาและจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียนโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการเก็บรวบรวม และแยกเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียนสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือเชื้อราชั้นต่ำ และเชื้อราชั้นสูง

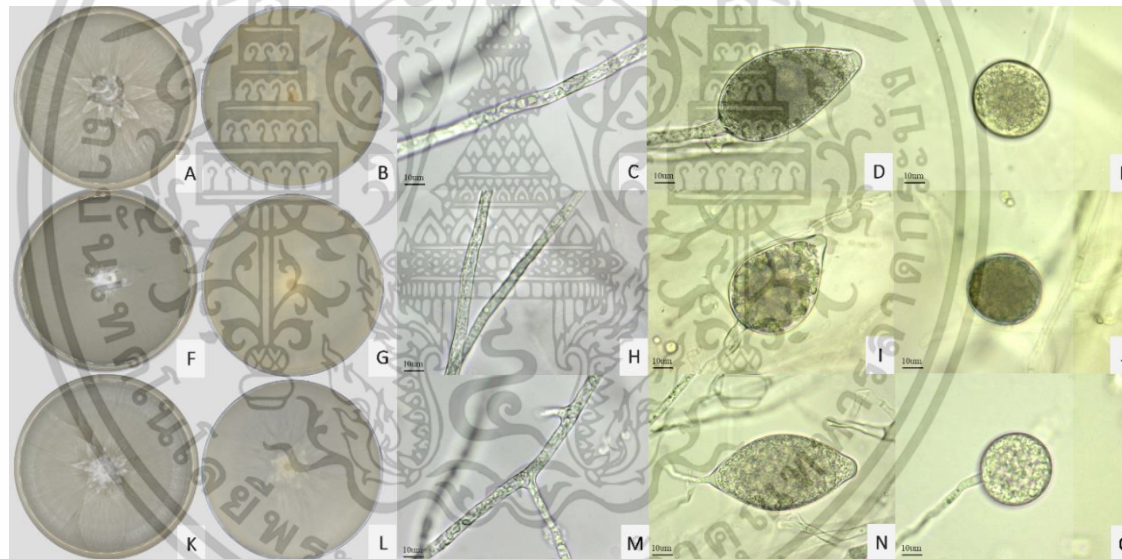
1. เชื้อราชั้นต่ำ (The lower fungi)

เชื้อรา *Phytophthora palmivora*

ทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา หลังจากการเจริญเติบโตเป็นเวลา 14 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ V8 agar ผลการศึกษารูปร่างโคโลนีของไอโซเลท CL4_F1 มีลักษณะแบบ stellate pattern เป็นแฉกคล้ายรูปดาว (Figure 4.6 A, B) อัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย 16.00 ± 0.23 mm/day (Table 4.2) มีลักษณะเส้นใยใสบแบบ non septate แตกกิ่งก้านแบบ simple sympodial สร้าง sporangium มี semi-papillate ลักษณะเป็นแบบ limoniform มีขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $70.25 \pm 2.06 \times 36.75 \pm 3.30$ μm (Table 4.2, Figure 4.6 D) และพบการสร้าง chlamydo-spore รูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $41.00 \pm 2.83 \times 39.5 \pm 2.12$ μm (Table 4.2, Figure 4.6 E) ส่วนไอโซเลท CL4_S5 มีลักษณะแบบ rings คล้ายวงแหวนเรียงกันหลาย ๆ ชั้น (Figure 4.6 F, G) อัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย 7.18 ± 0.54 mm/day (Table 4.2) พบลักษณะเส้นใยใสบแบบ non septate แตกกิ่งก้านแบบ simple sympodial สร้าง sporangium มี papillate ลักษณะเป็นแบบ ovoid มีขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $56.5 \pm 2.08 \times 37.00 \pm 2.45$ μm (Table 4.2, Figure 4.2 I) สร้าง chlamydo-spore รูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $38.5 \pm 2.12 \times 37.5 \pm 2.12$ μm (Table 4.2, Figure 4.2 J) และไอโซเลท CL4_F10 มีลักษณะแบบ stellate pattern เป็นแฉกคล้ายรูปดาว (Figure 4.6 K, L) อัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย 13.81 ± 0.24 mm/day (Table 4.2) สร้าง sporangium มี semi-papillate ลักษณะเป็นแบบ limoniform มีขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $58.75 \pm 5.06 \times 35.75 \pm 5.74$ μm (Table 4.2, Figure 4.6 N) สร้าง chlamydo-spore รูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $42.5 \pm 2.12 \times 40.5 \pm 2.12$ μm (Table 4.2, Figure 4.2 O) จากลักษณะดังกล่าวจัดจำแนกได้ว่าเป็น *P. Palmivora*

Table 4.2 Morphology characterization of *Phytophthora palmivora* isolates causing stem rot and fruit rot disease of durian.

Isolates		Growth rate (mm/day)	Mycelium characteristic	Sporangia characteristics and dimension			Chlamydospore dimension		
				Shape	Papillate	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)
CL4_F1	stellate	16.00 \pm 0.23	non septate	limoniform	semi-papillate	70.25 \pm 2.06	36.75 \pm 3.30	41.00 \pm 2.83	39.5 \pm 2.12
CL4_S5	rings	7.18 \pm 0.54	non septate	ovoid	papillate	56.5 \pm 2.08	37.00 \pm 2.45	38.5 \pm 2.12	37.5 \pm 2.12
CL4_F10	stellate	13.81 \pm 0.24	non septate	limoniform	semi-papillate	58.75 \pm 5.06	35.75 \pm 5.74	42.5 \pm 2.12	40.5 \pm 2.12

**Figure 4.6** Morphological characteristics of *Phytophthora palmivora* CL4_F1 (above), CL4_S5 (middle), CL4_F10 (below), colony front (A, F, K), and behind (B, G, L) on V8 juice agar for 14 days, mycelium (C, H, M), shapes of sporangium (D, I, N), chlamydospore (E, J, O).

2. เชื้อราชั้นสูง (The higher fungi)

เชื้อรา *Fusarium* sp.

ทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา หลังจากการเจริญเติบโตเป็นเวลา 14 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ศึกษารูปร่างโคโลนีของไอโซเลท CL6_FL1 มีลักษณะฟูจากผิวอาหาร สีขาวครีม เจริญเป็นวง (Figure 4.7 A, B) อัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย 14.53 ± 0.47 mm/day (Table 4.3) พบลักษณะเส้นใยไสแบบ septate (Figure 4.7 C) มีการสร้าง conidia 2 รูปแบบ คือ macroconidia รูปร่าง fusiform เรียวยาวคล้ายเสี้ยวพระจันทร์ มี septa แบ่งออกเป็น 4-6 เซลล์ ขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $28.75 \pm 3.86 \times 4.00 \pm 0.82$ μm (Table 4.3, Figure 4.7 D) microconidia พบมีรูปร่างทรงกระบอก มี septa บริเวณตรงกลาง แบ่งออกเป็น 2 เซลล์ ความกว้างความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $14.00 \pm 4.16 \times 3.50 \pm 0.58$ μm (Table 4.3, Figure 4.7 E) และไอโซเลท CL6_FL2 มีลักษณะฟูจากผิวอาหาร มีสีขาวครีม เจริญเป็นวง (Figure 4.7 F, G) อัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย 8.57 ± 0.07 mm/day (Table 4.3) พบลักษณะเส้นใยไสแบบ septate (Figure 4.7 H) พบ conidia 2 รูปแบบ คือ macroconidia รูปร่าง fusiform เรียวยาวคล้ายเสี้ยวพระจันทร์ มี septa แบ่งออกเป็น 4-6 เซลล์ ขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $22.25 \pm 3.30 \times 4.50 \pm 0.58$ μm (Table 4.3, Figure 4.7 I) microconidia พบมีรูปร่างทรงกระบอก มี septa บริเวณตรงกลาง แบ่งออกเป็น 2 เซลล์ ความกว้างความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $9.50 \pm 1.91 \times 3.50 \pm 1.00$ μm (Table 4.3, Figure 4.7 J) จากลักษณะดังกล่าวจัดจำแนกได้ว่าเป็น *Fusarium* sp.

Table 4.3 Morphology characterization of *Fusarium* sp. isolates causing durian dieback disease.

Isolates	Colony colour	Growth rate (mm/day)	Mycelium characteristics	Conidia dimension			
				Macroconidia		Microconidia	
				Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)
CL6_FL1	Cream- whitish	14.53 \pm 0.47	septate	28.75 \pm 3.86	4.00 \pm 0.82	14.00 \pm 4.16	3.50 \pm 0.58
CL6_FL2	Cream- whitish	8.57 \pm 0.07	septate	22.25 \pm 3.30	4.50 \pm 0.58	9.50 \pm 1.91	3.50 \pm 1.00

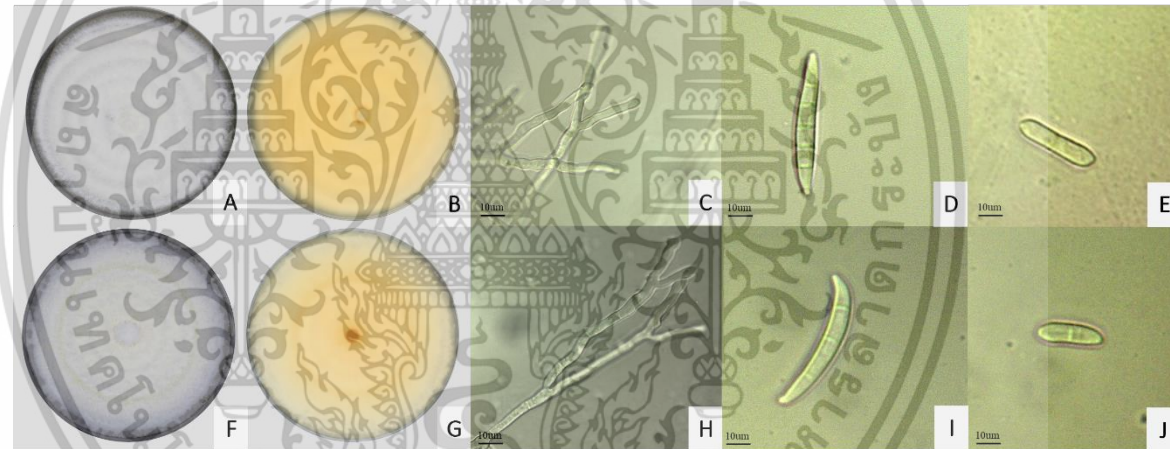


Figure 4.7 Morphological characteristics of *Fusarium* sp. CL6_FL1 (above), CL6_FL2 (below), colony front (A, F), and behind (B, G) on PDA for 14 days, mycelium (C, H), shapes of macroconidia (D, I), microconidia (E, J).

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp.

ทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ไอโซเลท CH1_LF1 หลังการเจริญเติบโตเป็นเวลา 14 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ศึกษารูปร่างโคโลนีพบว่า มีลักษณะฟู โดยในระยะแรกเส้นใยมีสีขาว แล้วค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเทาหลังจากเวลาประมาณ 7 วัน (Figure 4.8 A, B) อัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย 27.31 ± 1.05 mm/day (Table 4.4) มีลักษณะเส้นใยสีดำแบบ septate (Figure 4.8 C,) สร้าง conidia รูปร่างค่อนข้างรีจนถึงค่อนข้างกลม มี septa แบ่งออกเป็น 2 เซลล์ สีน้ำตาลเข้ม ขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $21.00 \pm 2.71 \times 12.75 \pm 0.50$ μm (Table 4.4, Figure 4.8 D) และไอโซเลท CH1_LF2 มีลักษณะฟู ระยะแรกเส้นใยมีสีขาว แล้วค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเทาหลังจากเวลาประมาณ 7 วัน (Figure 4.8 F, G) อัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย 34.40 ± 1.86 mm/day (Table 4.4) มีลักษณะเส้นใยสีดำแบบ septate (Figure 4.8 H) สร้าง conidia รูปร่างค่อนข้างรีจนถึงค่อนข้างกลม มี septa แบ่งออกเป็น 2 เซลล์ สีน้ำตาลเข้ม ขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $22.00 \pm 1.41 \times 13.50 \pm 0.58$ μm (Table 4.4, Figure 4.8 I) จากลักษณะดังกล่าวจึงจัดจำแนกได้ว่าเป็น *Lasiodiplodia* sp.

Table 4.4 Morphology characterization of *Lasiodiplodia* sp. isolates causing fruit rot disease of durian.

Isolates	Colony colour	Growth rate (mm/day)	Mycelium characteristics	Conidia dimension	
				Length (μm)	Width (μm)
CH1_LF1	gray, white	27.31 \pm 1.05	septate	21.00 \pm 2.71	12.75 \pm 0.50
CH1_LF2	gray, white	34.40 \pm 1.86	septate	22.00 \pm 1.41	13.50 \pm 0.58

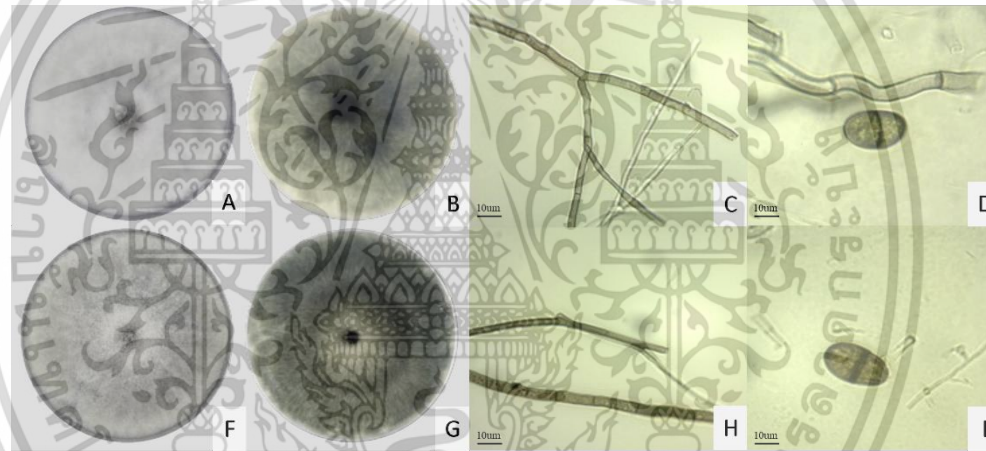


Figure 4.8 Morphological characteristics of *Lasiodiplodia* sp. CH1_LF1 (above), CH1_LF2 (below), colony front (A, F), and behind (B, G) on PDA for 14 days, mycelium (C, H), shapes of conidia (D, I).

เชื้อรา *Phomopsis* sp.

ทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา ไอโซเลท CH1_PF1 หลังการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 14 วัน ศึกษารูปร่างโคโลนี พบว่าเส้นใยเจริญแบบราบไปบนผิวอาหาร ลักษณะเป็นแฉกหลาย ๆ แฉก ซ้อนทับกัน บริเวณรอบนอกจานอาหารเส้นใยมีสีขาวปนเทา ตรงกลางมีสีเหลืองเล็กน้อย (Figure 4.9 A, B) อัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย 11.68 ± 0.46 mm/day (Table 4.5) พบลักษณะเส้นใยใสแบบ septate (Figure 4.9 C) สร้าง conidia 2 รูปแบบ ได้แก่ alpha conidia รูปร่างทรงรี ขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $9.00 \pm 0.82 \times 3.75 \pm 0.96$ μm (Table 4.5, Figure 4.9 D) beta conidia รูปร่างเรียวยาว มีขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $15.20 \pm 0.84 \times 1.60 \pm 0.55$ μm (Table 4.5, Figure 4.9 E) ส่วนไอโซเลท CH1_PF2 ศึกษารูปร่างโคโลนีพบว่าเส้นใยเจริญแบบราบไปบนผิวอาหาร ลักษณะเป็นแฉกหลาย ๆ แฉก ซ้อนทับกัน บริเวณรอบนอกจานอาหารเส้นใยมีสีขาวปนเทา ตรงกลางมีสีเหลืองเล็กน้อย (Figure 4.9 F) มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย 14.11 ± 0.63 mm/day (Table 4.5) พบลักษณะเส้นใยใสแบบ septate (Figure 4.9 H) สร้าง alpha conidia รูปร่างทรงรี ขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $8.25 \pm 0.50 \times 3.25 \pm 0.96$ μm (Table 4.5, Figure 4.9 I) beta conidia รูปร่างเรียวยาว มีขนาดความกว้าง×ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $15.20 \pm 0.84 \times 1.60 \pm 0.55$ μm (Table 4.5, Figure 4.9 J) จากลักษณะดังกล่าวจัดจำแนกได้ว่าเป็น *Phomopsis* sp.

Table 4.5 Morphology characterization of *Phomopsis* sp. isolates causing leaf spot disease of durian.

Isolates	Colony colour	Growth rate (mm/day)	Mycelium characteristics	Conidia dimension			
				Alpha conidia		Beta conidia	
				Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)
CH1_PF1	white, gray, yellow	11.68 \pm 0.46	septate	9.00 \pm 0.82	3.75 \pm 0.96	19.60 \pm 1.34	1.80 \pm 0.45
CH1_PF2	white, gray, yellow	14.11 \pm 0.63	septate	8.25 \pm 0.50	3.25 \pm 0.96	15.20 \pm 0.84	1.60 \pm 0.55

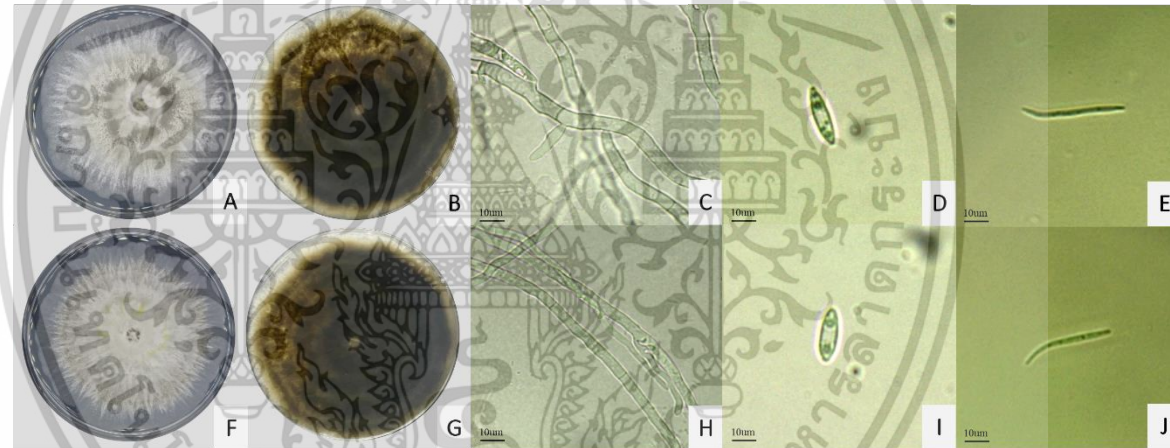


Figure 4.9 Morphological characteristics of *Phomopsis* sp. CH1_PF1 (above), CH1_PF2 (below), colony front (A, F), and behind (B, G) on PDA for 14 days, mycelium (C, H), shapes of alpha conidia (D, I), beta conidia (E, J).

เชื้อรา *Rhizoctonia* sp.

ทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา ศึกษาโคโลนีของเชื้อรา ไอโซเลท CL1_RL1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าเส้นใยเจริญแนบราไปกับผิวอาหารอย่างรวดเร็ว เต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เวลา 3 วัน โดยในระยะแรกมีสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม หลังจาก 7 วัน (Table 4.6, Figure 4.7 A, B, E, F) มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย 37.85 ± 0.98 mm/day (Table 4.6) พบเม็ด sclerotium สีน้ำตาลถึงดำ รูปร่างทรงกลมมีหยดน้ำเกาะ กระจายอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Table 4.6, Figure 4.7 I, L) และพบลักษณะเส้นใยใสบางแบบ septate แตกแขนงตั้งฉากทำมุมประมาณ 45° (Table 4.6, Figure 4.7 J) ส่วนไอโซเลท CL1_RL2 พบเส้นใยเจริญแนบราไปกับผิวอาหาร โดยในระยะแรกมีสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้มหลังจาก 7 วัน (Table 4.6, Figure 4.7 C, D, G, H) มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย 38.92 ± 1.02 mm/day (Table 4.6) พบเม็ด sclerotium สีน้ำตาลถึงดำ รูปร่างทรงกลมมีหยดน้ำเกาะ กระจายอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Table 4.6, Figure 4.7 I, L) และพบลักษณะเส้นใยใสบางแบบ septate แตกแขนงตั้งฉากทำมุมประมาณ 45° (Table 4.6, Figure 4.7 K) จากลักษณะดังกล่าวจัดจำแนกได้ว่าเป็น *Rhizoctonia* sp.

Table 4.6 Morphology characterization of *Rhizoctonia* sp. isolates causing leaf blight disease of durian.

Isolates	Colony colour		Growth rate (mm/day)	Sclerotium	Mycelium characteristics
	Before 5 days	After 7 days			
CL1_RL1	whitish	Brown-dark brown	37.85 ± 0.98	present	septate
CL1_RL2	whitish	brown-dark brown	38.92 ± 1.02	present	septate

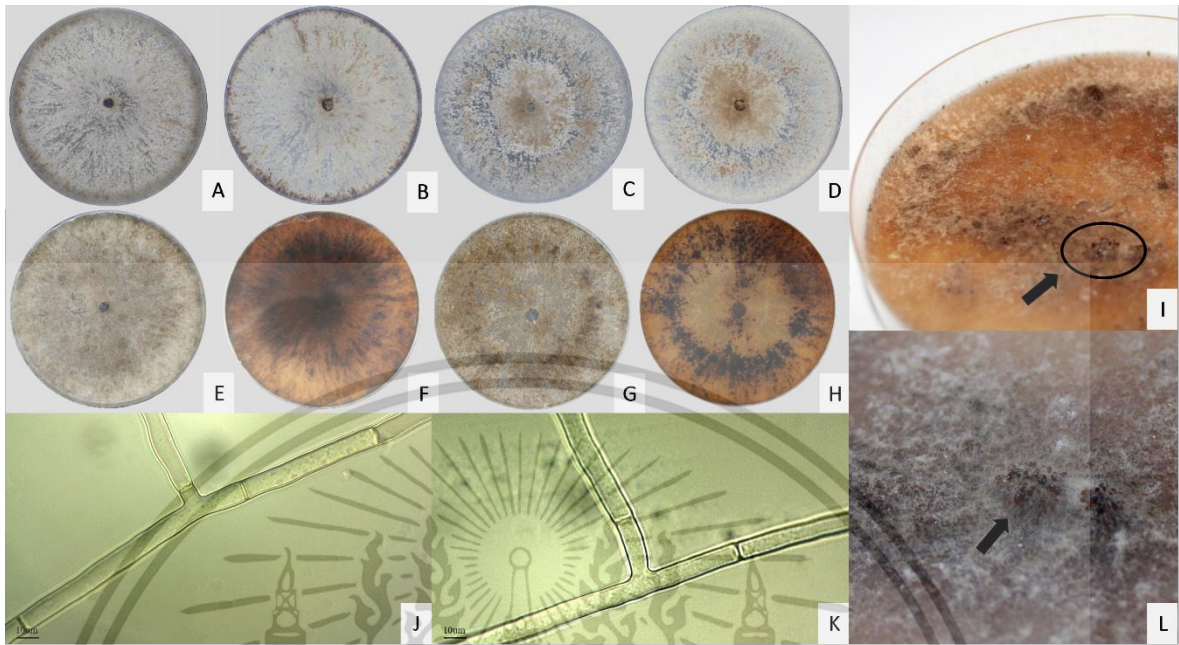


Figure 4.10 Morphological characteristics of *Rhizoctonia* sp. CL1_RL1 (A, B, E, F, J), CL1_RL2 (C, D, G, H, K), colony front (A, C), behind (B, D) at 7 days grown on PDA and front (E, G), behind (F, H) at 21 days grown on PDA, mycelium (J, K), sclerotium (I, L).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity test)

เชื้อรา *Phytophthora palmivora*

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคโดยการฉีดพ่นเชื้อ *P. palmivora* ไอโซเลท CL4_F1, CL4_S5 และ CL4_F10 ลงบนต้นกล้าทุเรียน พบว่าหลังจากการฉีดพ่นเป็นเวลา 2 วัน ไอโซเลท CL4_F1 และ CL4_F10 มีบาดแผลฉ่ำน้ำ รูปร่างไม่แน่นอน ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง หลุดร่วง ในขณะที่ไอโซเลท CL4_S5 ใบหลุดร่วงหลังจากฉีดพ่นเป็นเวลา 7 วัน (Figure 4.11) และหลังจากฉีดพ่นเป็นเวลา 7 วัน ไอโซเลท CL4_F1 และ CL4_F10 ก่อให้เกิดโรค 100% (Table 4.7) มีระดับความรุนแรง 4.00 (Table 4.8) ส่วน ไอโซเลท CL4_S5 ก่อให้เกิดโรค 75% และมีระดับความรุนแรง 2.25

Table 4.7 Disease incidence (DI) of CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 of *Phytophthora palmivora* isolates after inoculation on durian seedlings for 7 days.

Isolate code	Disease incidence (%) ^{1/}			
	0 days	3 days	5 days	7 days
CL4_F1	0	75	100	100
CL4_S5	0	50	50	75
CL4_F10	0	100	100	100

^{1/}Values are evaluated with 4 durian seedlings.

Table 4.8 Disease severity index (DSI) of CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 of *Phytophthora palmivora* isolates after inoculation on durian seedlings for 7 days.

Isolate code	Disease severity index (%) ^{1/}		
	3 days	5 days	7 days
CL4_F1	3.00ab	3.5ab	4.00a
CL4_S5	1.00b	1.75b	2.25b
CL4_F10	3.25a	4.00a	4.00a
F-test	*	*	*

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column code are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.05$

* = F-test significant at $p < 0.05$



Figure 4.11 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL4_F1 (A-D), CL4_S5 (E-H), and CL4_F10 (C-L) of *Phytophthora palmivora* isolates for 7 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Fusarium* sp.

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคโดยการฉีดพ่นเชื้อ *Fusarium* sp. ไอโซเลท CL6_FL1 และ CL6_FL2 บนต้นกล้าทุเรียน ทั้ง 2 ไอโซเลทก่อให้เกิดโรค 100% (Table 4.9) พบว่าลักษณะอาการของใบเหี่ยวแห้งและหลุดร่วง (Figure 4.12) โดยระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างทางสถิติหลังจากการฉีดพ่นเป็นเวลา 7–21 วัน ไอโซเลท CL6_FL1 มีระดับความรุนแรง 3.25–4.00 และไอโซเลท CL6_FL2 ระดับความรุนแรง 1.50–3.00 (Table 4.10)

Table 4.9 Disease incidence (DI) of CL6_FL1 and CL6_FL2 of *Fusarium* sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.

Isolate code	Disease incidence (%) ^{1/}			
	0 days	7 days	14 days	21 days
CL6_FL1	0	100	100	100
CL6_FL2	0	75	100	100

^{1/}Values are evaluated with 4 durian seedlings.

Table 4.10 Disease severity index (DSI) of CL6_FL1 and CL6_FL2 of *Fusarium* sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.

Isolate code	Disease severity index (%) ^{1/}		
	7 days	14 days	21 days
CL6_FL1	3.25	4.00b	4.00
CL6_FL2	1.50	2.50a	3.00
F-test	ns	*	ns

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column code are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.05$

ns = not significant at $p > 0.05$

* = F-test significant at $p < 0.05$



Figure 4.12 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL6_FL1 (A-D) and CL6_FL2 (E-H) of *Fusarium* sp. isolates for 21 days.

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp.

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคโดยการปลูกเชื้อ *Lasiodiplodia* sp. ไอโซเลท CH1_LF1 และ CH1_LF2 ลงบนผลทุเรียน พบว่าหลังจากการปลูกเชื้อเป็นเวลา 3–7 วัน ทั้ง 2 ไอโซเลท ก่อให้เกิดโรค 75–100% (Table 4.11) บาดแผลบนผลทุเรียนมีสีน้ำตาล ขยายวงกว้างและมีเส้นใยขึ้นปกคลุมอย่างรวดเร็ว (Figure 4.13) โดยระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กล่าวคือ หลังจากการปลูกเชื้อ ไอโซเลท CH1_LF1 มีระดับความรุนแรง 1.50–4.00 และไอโซเลท CH1_LF2 ระดับความรุนแรง 0.75–3.00 (Table 4.12)

Table 4.11 Disease incidence (DI) of CH1_LF1 and CH1_LF2 of *Lasiodiplodia* sp. isolates after inoculation on durian fruits for 7 days.

Isolate code	Disease incidence (%) ^{1/}			
	0 days	3 days	5 days	7 days
CH1_LF1	0	100	100	100
CH1_LF2	0	75	75	100

^{1/}Values are evaluated with 4 durian seedlings.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4.12 Disease severity index (DSI) of CH1_LF1 and CH1_LF2 of *Lasiodiplodia* sp. isolates after inoculation on durian fruits for 7 days.

Isolate code	Disease severity index (%) ^{1/}		
	3 days	5 days	7 days
CH1_LF1	1.50	3.75b	4.00
CH1_LF2	0.75	1.75a	3.00
F-test	ns	*	ns

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column code are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.05$

ns = not significant at $p > 0.05$

* = F-test significant at $p < 0.05$

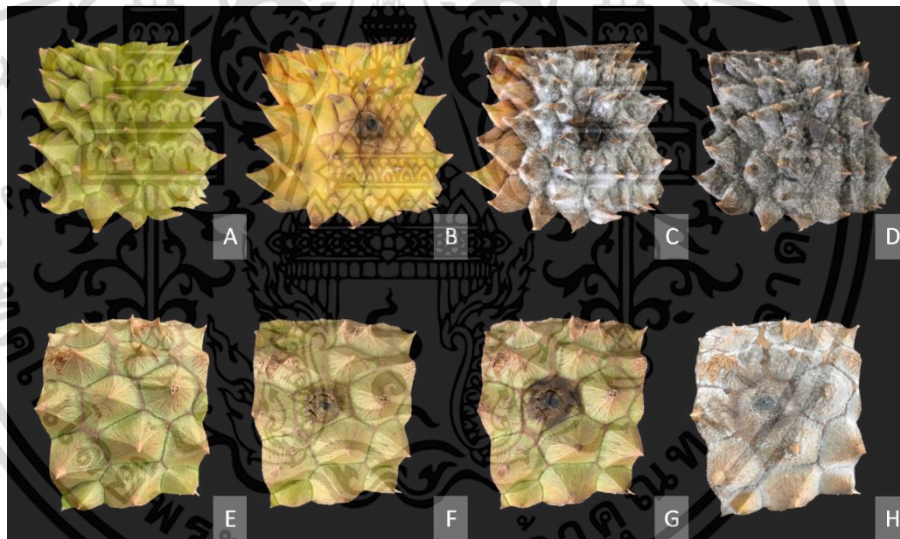


Figure 4.13 Symptoms on durian fruit after inoculation with CH1_LF1 (A-D) and CH1_LF2 (E-H) of *Lasiodiplodia* sp. isolates for 7 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Phomopsis* sp.

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคโดยการฉีดพ่นเชื้อ *Phomopsis* sp. ไอโซเลท CH1_PF1 และ CH1_PF2 ลงบนต้นกล้าทุเรียน พบว่าก่อให้เกิดโรทั้ง 2 ไอโซเลท (Table 4.13) ลักษณะอาการของโรคเกิดขึ้นที่ใบ มีแผลเป็นจุดขนาดเล็ก รูปร่างค่อนข้างกลม สีเหลือง กระจายอยู่บนใบหลังจากการฉีดพ่นเป็นเวลา 7 วัน (Figure 4.14) โดยระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กล่าวคือหลังจากการฉีดพ่นเชื้อ ไอโซเลท CH1_PF1 มีระดับความรุนแรง 1.50–2.75 และไอโซเลท CH1_PF2 ระดับความรุนแรง 1.25–2.50 (Table 4.14, Figure 4.15)

Table 4.13 Disease incidence (DI) of CH1_PF1 and CH1_PF2 of *Phomopsis* sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.

Isolate code	Disease incidence (%) ^{1/}			
	0 days	7 days	14 days	21 days
CH1_PF1	0	100	100	100
CH1_PF2	0	100	100	100

^{1/}Values are evaluated with 4 durian seedlings.

Table 4.14 Disease severity index (DSI) of CH1_PF1 and CH1_PF2 of *Phomopsis* sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.

Isolate code	Disease severity index (%) ^{1/}		
	7 days	14 days	21 days
CH1_PF1	1.50	2.25	2.75
CH1_PF2	1.25	1.75	2.50
F-test	ns	ns	ns

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column code are not significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.05$

ns = not significant at $p > 0.05$



Figure 4.14 Symptoms of disease caused by *Phomopsis* sp.



Figure 4.15 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CH1_PF1 (A-D) and CH1_PF2 (E-H) of *Phomopsis* sp. isolates for 21 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Rhizoctonia* sp.

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคโดยการฉีดพ่นเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ไอโซเลท CL1_RL1 และ CL1_RL2 บนต้นกล้าทุเรียน พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลทก่อให้เกิดโรค (Table 4.15) ลักษณะอาการเกิดขึ้นที่ใบ ในระยะแรกใบมีอาการฉ่ำน้ำ ต่อมาเมื่อใบแก่บาดแผลจากการฉ่ำน้ำจะมีลักษณะแห้งเป็นสีน้ำตาล ขยายวงกว้างขึ้น (Figure 4.16) ซึ่งระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กล่าวคือ หลังจากการฉีดพ่นเชื้อ ไอโซเลท CL1_RL1 มีระดับความรุนแรง 1.00–2.50 และไอโซเลท CL1_RL2 ระดับความรุนแรง 1.00–2.00 (Table 4.16, Figure 4.17)

Table 4.15 Disease incidence (DI) of CL1_RL1 and CL1_RL2 of *Rhizoctonia* sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.

Isolate code	Disease incidence (%) ^{1/}			
	0 days	7 days	14 days	21 days
CL1_RL1	0	75	100	100
CL1_RL2	0	75	100	100

^{1/}Values are evaluated with 4 durian seedlings.

Table 4.16 Disease severity index (DSI) of CL1_RL1 and CL1_RL2 of *Rhizoctonia* sp. isolates after inoculation on durian seedlings for 21 days.

Isolate code	Disease severity index (%) ^{1/}		
	7 days	14 days	21 days
CL1_RL1	1.00	1.50	2.50
CL1_RL2	1.00	1.75	2.00
F-test	ns	ns	ns

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column code are not significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.05$

ns = not significant at $p > 0.05$



Figure 4.16 Symptoms of disease caused by *Rhizoctonia* sp.



Figure 4.17 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL1_RL1 (A-D) and CL1_RL2 (E-H) of *Rhizoctonia* sp. isolates for 21 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อเชื้อรา 5 สกุล ในสภาพห้องปฏิบัติการ

4.4.1 ทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการเจริญเติบโตทางเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* ไอโซเลท CL4_F1, CL4_S5 และ CL4_F10 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ทั้ง 3 ไอโซเลท ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของ ZnO NPs มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ดีที่สุด คือ ความเข้มข้นที่ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ที่ 57.76%, 58.50% และ 69.84% ตามลำดับ รองลงมาที่ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งได้ที่ 50.11%, 37.23% และ 63.56% ตามลำดับ และพบวงใสรอบ ๆ โคลโคนี (Table 4.17, Figure 4.18) จากการนำไปตรวจสอบเส้นใยภาพไตกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100 เท่า พบว่าความเข้มข้น 500–2000 $\mu\text{g/ml}$ ทำให้ปลายเส้นใยเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลทมีลักษณะคดงอ สามารถแตกแขนงออกมาได้น้อยลงตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (Figure 4.19)

Table 4.17 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ on mycelial growth of *Phytophthora palmivora* CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 after incubation for 4 days.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition of mycelial growth (%) ^{1/}		
	CL4_F1	CL4_S5	CL4_F10
Control	0d	0d	0d
500	41.47c	17.00c	49.94c
1000	50.11b	37.23b	63.56b
2000	57.76a	58.50a	69.84a
F-Test	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

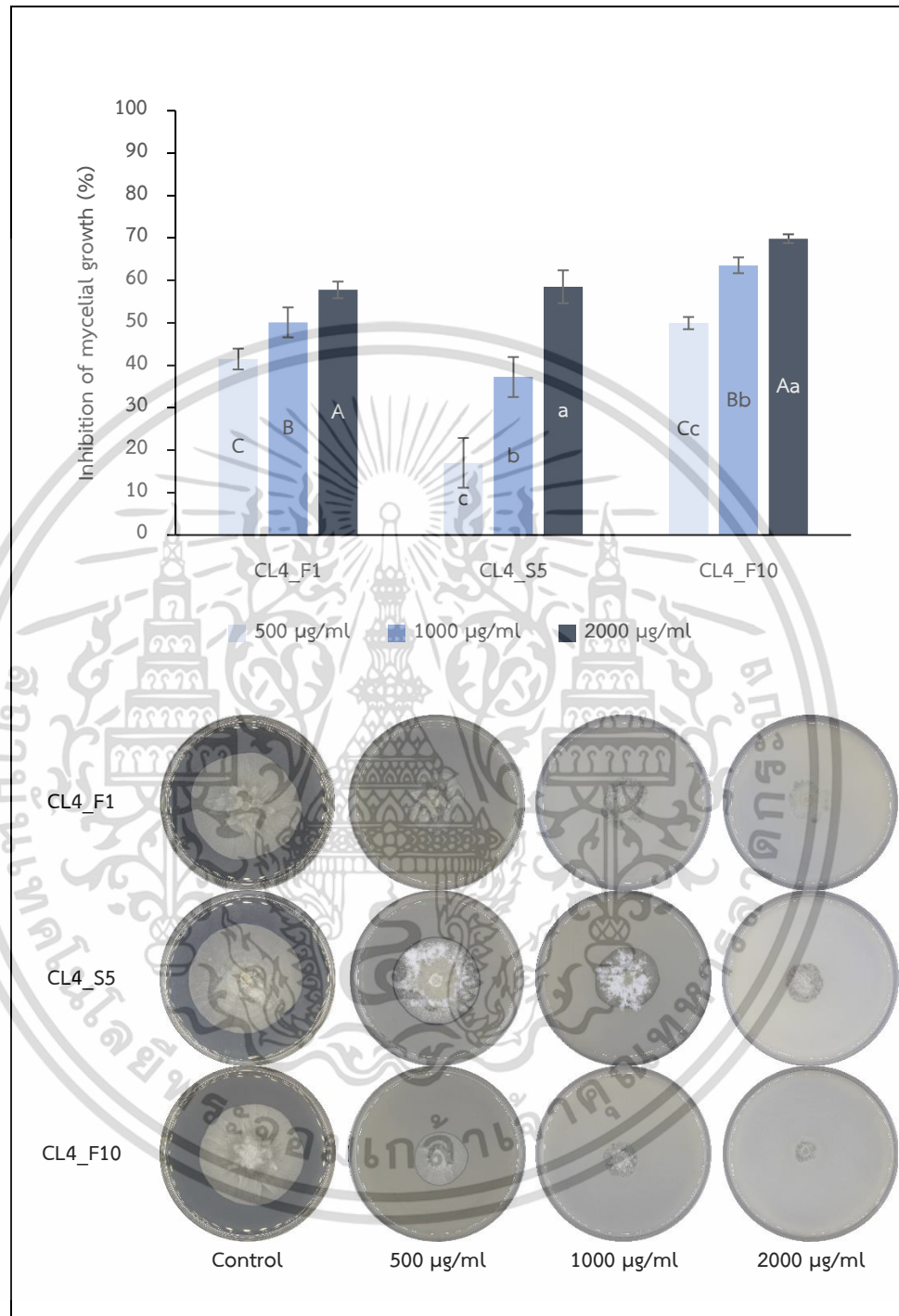


Figure 4.18 The effect of the zinc oxide nanoparticles test at various concentrations for controlling CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 isolates of *Phytophthora palmivora* on V8 agar for 4 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

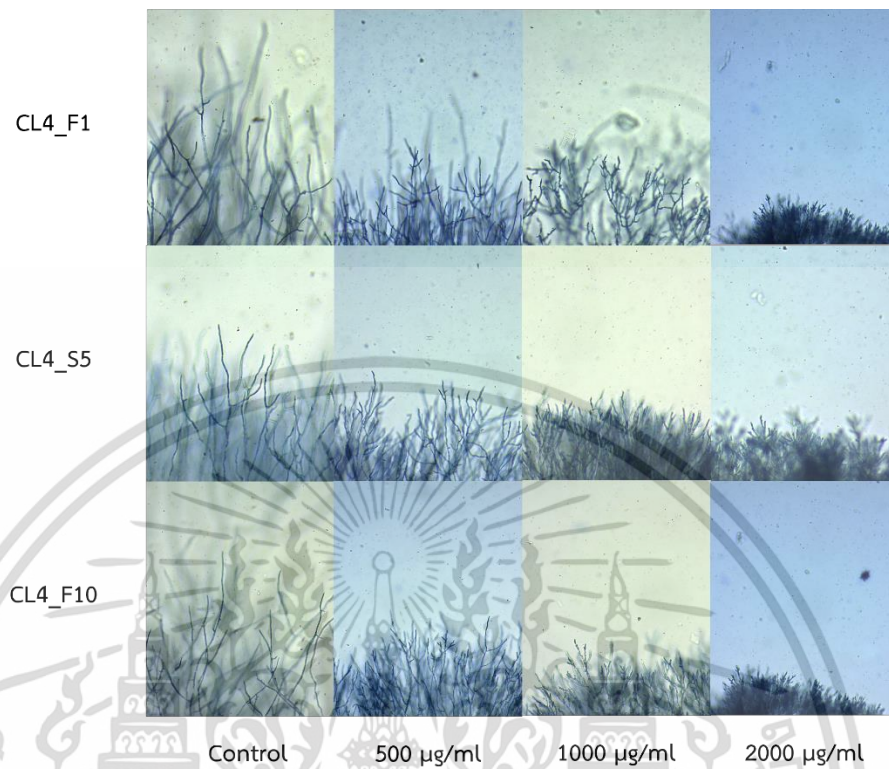


Figure 4.19 Mycelial characteristics of *Phytophthora palmivora* after treated with zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ for 4 days under the compound microscope (10x).

ทำการประเมินประสิทธิภาพของ ZnO NPs โดยนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตแสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น ลอการิทึม แกน X เป็นค่า log ของความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่ใช้ทดสอบและแกน y เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา จะได้สมการดังแสดงในตารางที่ 4.18 จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต เพื่อคำนวณความเข้มข้นของ ZnO NPs สามารถยับยั้งได้ 50% (Half Maximum Effective Concentration; EC₅₀) พบว่า เชื้อรา *P. palmivora* ไอโซเลท CL4_F1 แสดงค่าสมการ $y = 11.751\ln(x) - 31.391$ ซึ่งมีค่า R² เท่ากับ 0.99 โดยมีค่า EC₅₀ 1018.72 µg/ml ส่วนไอโซเลท CL4_S5 แสดงค่าสมการ $y = 29.936\ln(x) - 169.21$ มีค่า R² เท่ากับ 0.99 ค่า EC₅₀ 1514.16 µg/ml ในขณะที่ไอโซเลท CL4_F10 ค่าสมการ $y = 14.355\ln(x) - 38.046$ ค่า R² เท่ากับ 0.95 และมีค่า EC₅₀ <500 µg/ml (Figure 4.20)

Table 4.18 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R²), and 50% effective concentration of mycelial growth of *Phytophthora palmivora* causing durian disease.

Isolate code	Regression equation ^{1/}	R ²	EC ₅₀ (µg/ml) ^{2/}
CL4_F1	$y = 11.752\ln(x) - 31.399$	0.99	1018.81
CL4_S5	$y = 29.936\ln(x) - 169.21$	0.99	1514.16
CL4_F10	$y = 14.351\ln(x) - 38.023$	0.95	<500

^{1/}y = percentage of mycelial growth inhibition; x = fungicide concentration.

^{2/}Calculated by the concentration equation (µg/ml).

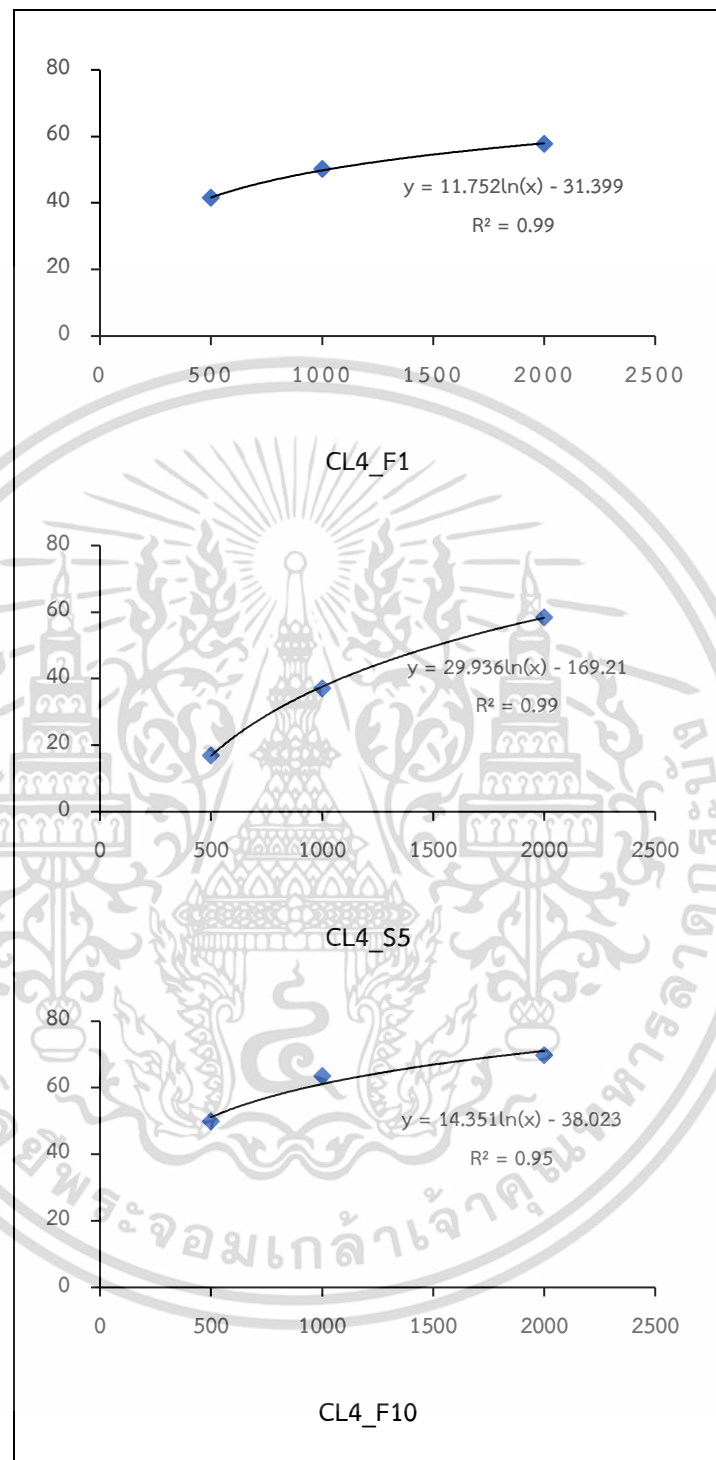


Figure 4.20 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Fusarium* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการเจริญเติบโตทางเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* sp. ไอโซเลท CL6_FL1 และ CL6_FL2 พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ทั้ง 2 ไอโซเลท ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของ ZnO NPs มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ดีที่สุด คือ ความเข้มข้นที่ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ที่ 81.18% และ 63.23% ตามลำดับ และพบวงใสบริเวณรอบ ๆ โคลินี (Table 4.19, Figure 4.21) นำไปตรวจสอบลักษณะเส้นใยภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100 เท่า พบว่าความเข้มข้น 500–2000 $\mu\text{g/ml}$ ทำให้ปลายเส้นใยของเชื้อรา ทั้ง 2 ไอโซเลท มีลักษณะคดงอ ซึ่งผิดปกติแตกต่างออกไปจากชุดควบคุม สามารถแตกแขนงออกมาได้น้อยลงตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (Figure 4.22)

Table 4.19 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ on mycelial growth of *Fusarium* sp. CL6_FL1 and CL6_FL2 after incubation for 5 days.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition of mycelial growth (%) ^{1/}	
	CL6_FL1	CL6_FL2
Control	0d	0c
500	66.20c	55.19ab
1000	74.97b	51.58b
2000	81.18a	63.23a
F-Test	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

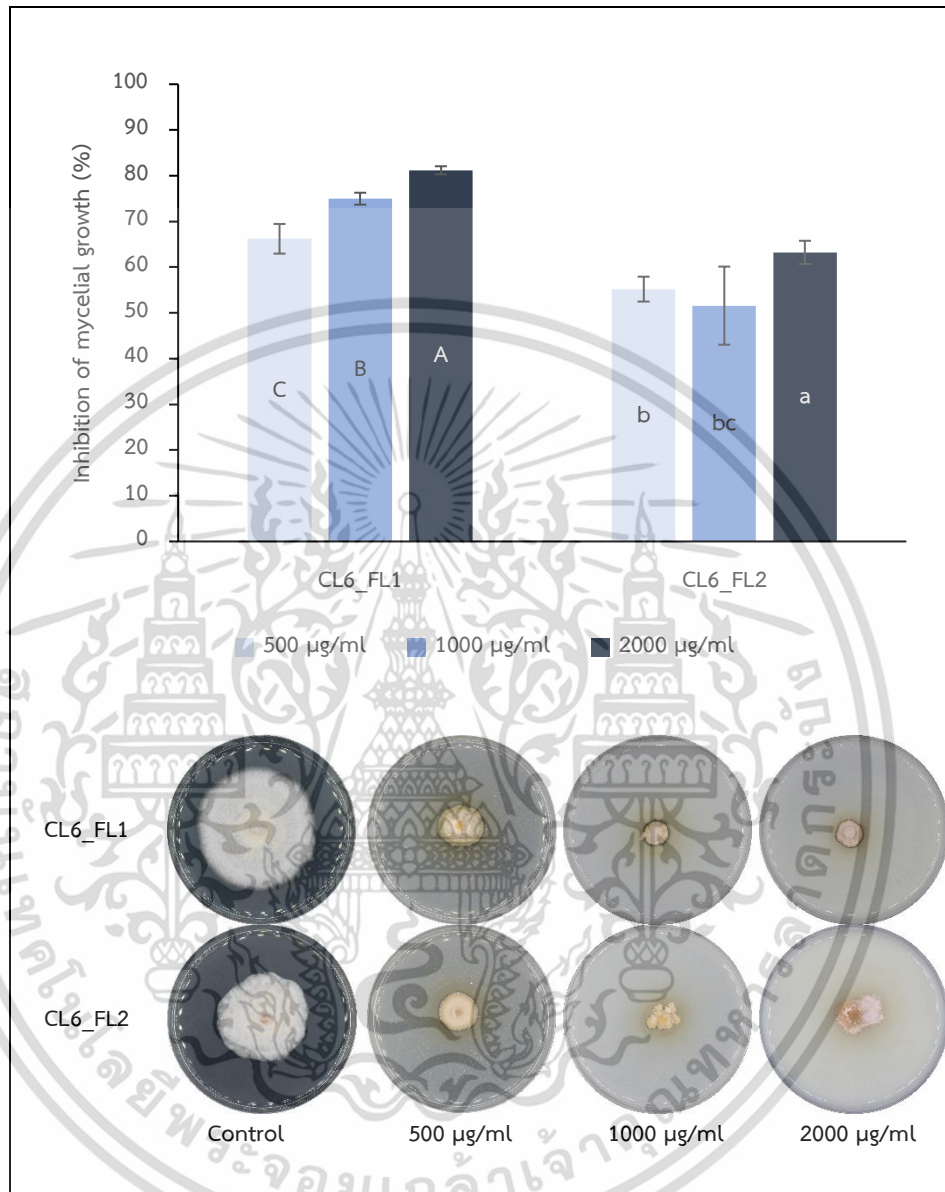


Figure 4.21 The effect of the zinc oxide nanoparticles test at various concentrations for controlling CL6_FL1 and CL6_FL2 isolates of *Fusarium* sp. on PDA agar for 5 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

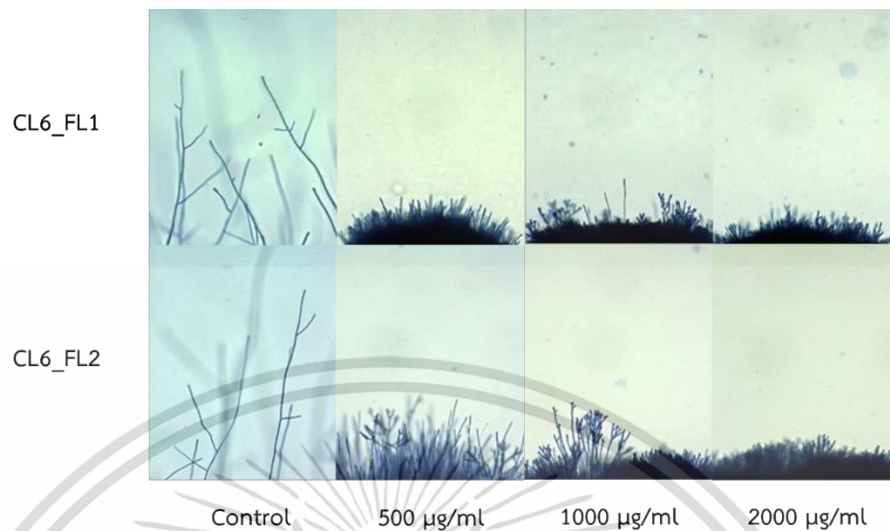


Figure 4.22 Mycelial characteristics of *Fusarium* sp. after treated with zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml for 5 days under the compound microscope (10x).

ทำการประเมินประสิทธิภาพของ ZnO NPs โดยนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตแสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น ลอการิทึม แกน X เป็นค่า log ของความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่ใช้ทดสอบ และแกน y เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา จะได้สมการดังแสดงในตารางที่ 4.20 จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต เพื่อคำนวณความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่สามารถยับยั้งได้ 50% (Half Maximum Effective Concentration; EC₅₀) พบว่า เชื้อรา *Fusarium* sp. ไอโซเลท CL6_FL1 แสดงค่าสมการ $y = 10.806\ln(x) - 0.5271$ ซึ่งมีค่า R² เท่ากับ 0.99 โดยมีค่า EC₅₀ < 500 µg/ml ส่วนไอโซเลท CL6_FL2 แสดงค่าสมการ $y = 5.7996\ln(x) + 16.604$ ซึ่งมีค่า R² เท่ากับ 0.45 มีค่า EC₅₀ < 500 µg/ml (Figure 4.23)

Table 4.20 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R²), and 50% effective concentration of mycelial growth of *Fusarium* sp. causing durian disease.

Isolate code	Regression equation ^{1/}	R ²	EC ₅₀ (µg/ml) ^{2/}
CL6_FL1	$y = 10.806\ln(x) - 0.5271$	0.99	<500
CL6_FL2	$y = 5.7996\ln(x) + 16.604$	0.45	<500

^{1/}y = percentage of mycelial growth inhibition; x = fungicide concentration.

^{2/}Calculated by the concentration equation (µg/ml).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

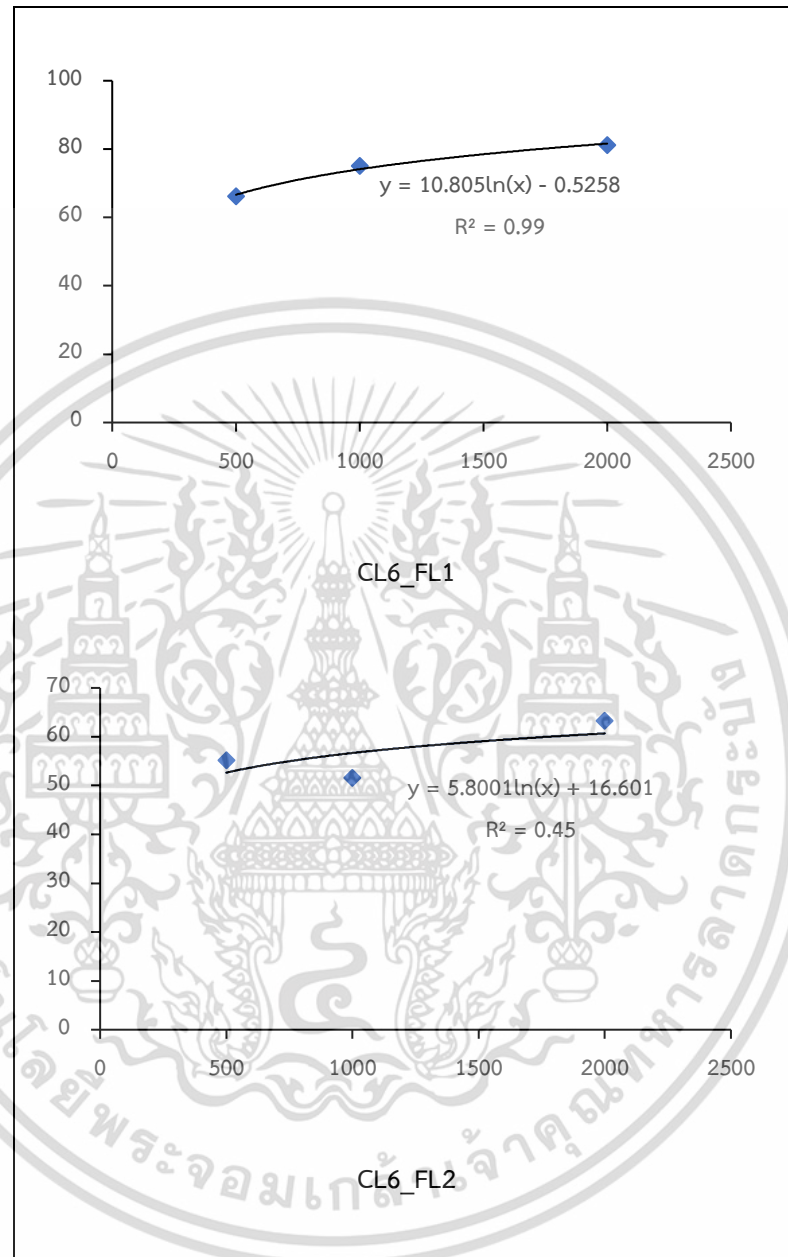


Figure 4.23 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 µg/ml ต่อการเจริญเติบโตทางเส้นใยเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. ไอโซเลท CH1_LF1 และ CH1_LF2 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ทั้ง 2 ไอโซเลท ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของ ZnO NPs มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ดีที่สุด คือ ความเข้มข้นที่ 2000 µg/ml ที่ 75.06% และ 68.83% ตามลำดับ รองลงมาที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml สามารถยับยั้งได้ที่ 66.73%, และ 53.55% ตามลำดับ และพบวงสีชมพูบริเวณรอบ ๆ โคลินี (Table 4.21, Figure 4.24) จากการนำไปตรวจสอบเส้นใยภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100 เท่า พบว่าความเข้มข้น 500–2000 µg/ml ทำให้เส้นใยของเชื้อราของทั้ง 2 ไอโซเลท สามารถแตกแขนงออกมาได้สั้นลงตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ซึ่งผิดปกติแตกต่างออกไปจากชุดควบคุม มีลักษณะหยิกงอบริเวณปลายเส้นใย โดยจะเห็นได้ชัดที่ระดับความเข้มข้น 2000 µg/ml (Figure 4.25)

Table 4.21 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml on mycelial growth of *Lasiodiplodia* sp. CH1_LF1 and CH1_LF2 after incubation for 3 days.

Concentration ZnO NPs (µg/ml)	Inhibition of mycelial growth (%) ^{1/}	
	CH1_LF1	CH1_LF2
Control	0d	0d
500	59.05c	42.20c
1000	66.73b	53.55b
2000	75.06a	68.83a
F-Test	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

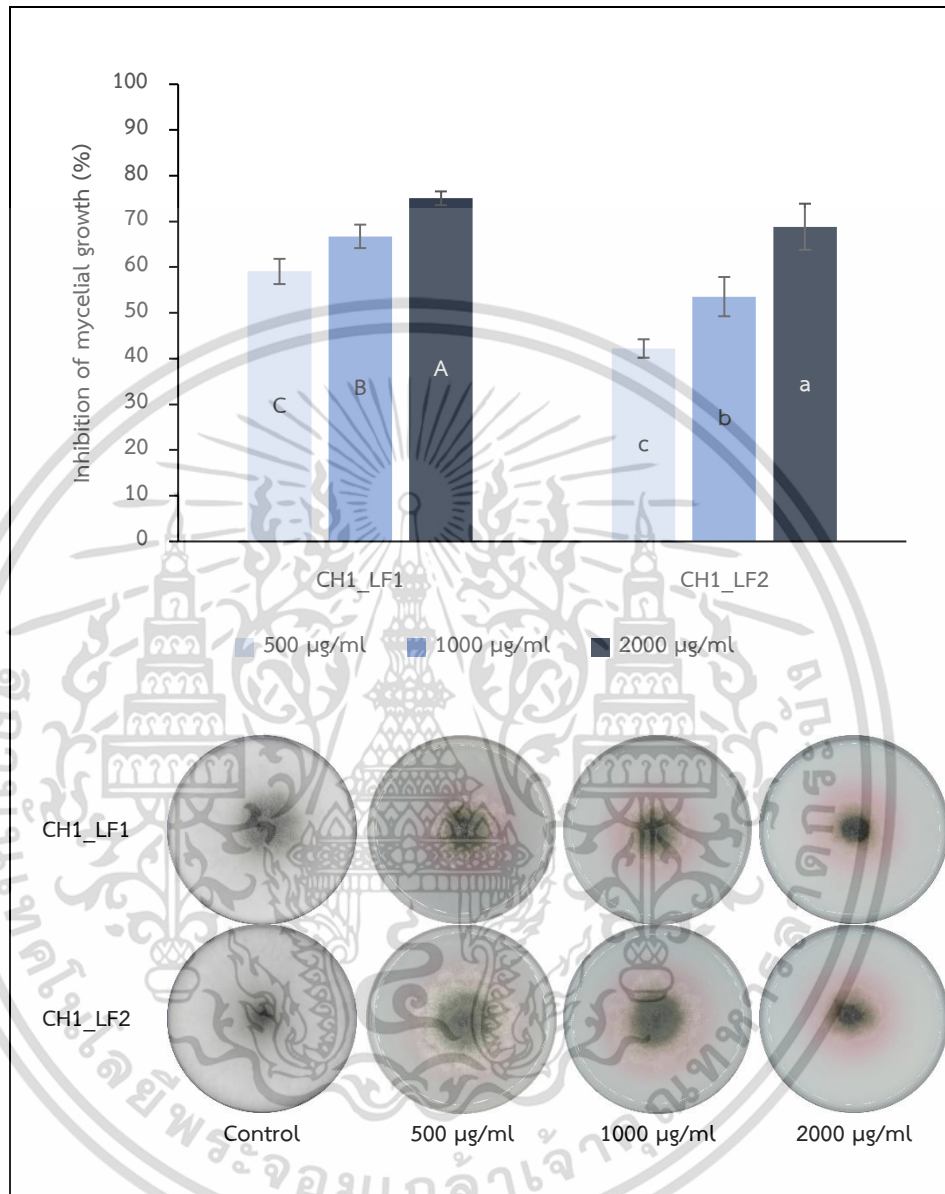


Figure 4.24 The effect of the zinc oxide nanoparticles test at various concentrations for controlling CH1_LF1 and CH1_LF2 isolates of *Lasiodiplodia* sp. on PDA agar for 3 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

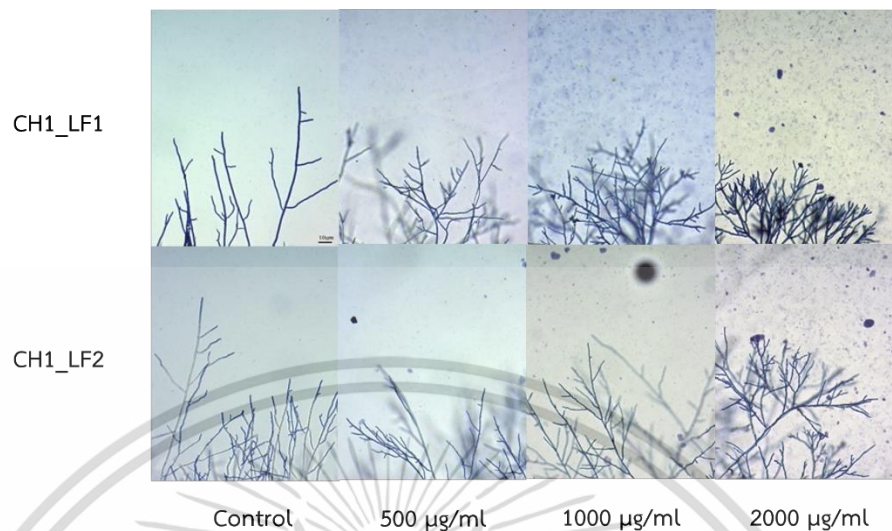


Figure 4.25 Mycelial characteristics of *Lasiodiplodia* sp. after treated with zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml for 3 days under the compound microscope (10x).

ทำการประเมินประสิทธิภาพของ ZnO NPs โดยนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตแสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น ลอการิทึม แกน X เป็นค่า log ของความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่ใช้ทดสอบ และแกน y เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา จะได้สมการดังแสดงในตารางที่ 4.22 จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต เพื่อคำนวณความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่สามารถยับยั้งได้ 50% (Half Maximum Effective Concentration; EC₅₀) พบว่า เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. ไอโซเลท CH1_LF1 แสดงค่าสมการ $y = 11.546\ln(x) - 12.81$ มีค่า R² เท่ากับ 0.99 มีค่า EC₅₀ < 500 µg/ml ในขณะที่ ไอโซเลท CH1_LF2 แสดงค่าสมการ $y = 19.21\ln(x) - 77.838$ มีค่า R² เท่ากับ 0.99 มีค่า EC₅₀ 776.47 µg/ml (Figure 4.26)

Table 4.22 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R²), and 50% effective concentration of mycelial growth of *Lasiodiplodia* sp. causing durian disease.

Isolate code	Regression equation ^{1/}	R ²	EC ₅₀ (µg/ml) ^{2/}
CH1_LF1	$y = 11.546\ln(x) - 12.81$	0.99	<500
CH1_LF2	$y = 19.21\ln(x) - 77.838$	0.99	776.47

^{1/}y = percentage of mycelial growth inhibition; x = fungicide concentration.

^{2/}Calculated by the concentration equation (µg/ml).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

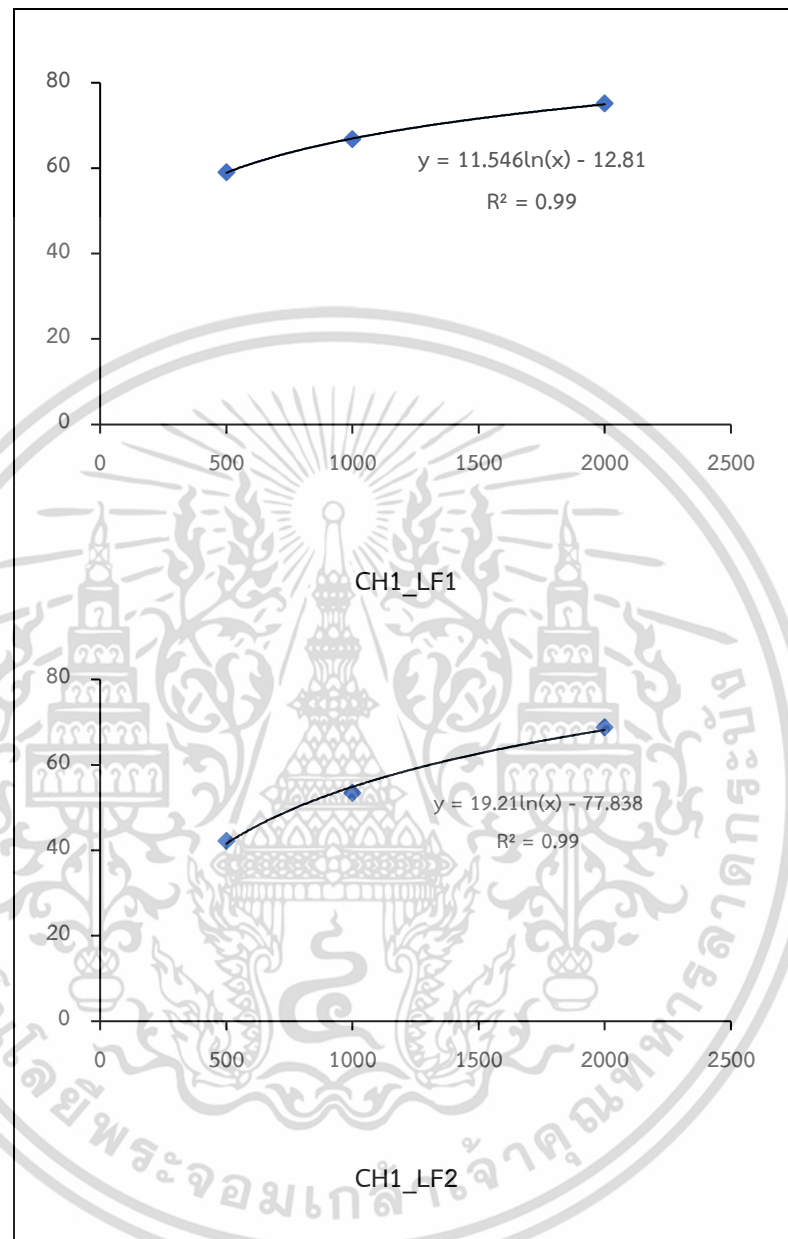


Figure 4.26 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Phomopsis* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการเจริญเติบโตทางเส้นใยเชื้อรา *Phomopsis* sp. ไอโซเลท CH1_PF1 และ CH1_PF2 พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ทั้ง 2 ไอโซเลท ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของ ZnO NPs มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ ที่ 74.71-81.28% และพบวงใสบริเวณรอบ ๆ โคลินี้ (Table 4.23, Figure 4.27) จากการนำไปตรวจสอบเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100 เท่า พบว่าความเข้มข้น 500–2000 $\mu\text{g/ml}$ ทำให้เส้นใยของเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท มีลักษณะหยิก โค้งงออย่างเห็นได้ชัด อีกทั้งยังสามารถแตกแขนงออกมาได้น้อยลงตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (Figure 4.28)

Table 4.23 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ on mycelial growth of *Phomopsis* sp. CH1_PF1 and CH1_PF2 after incubation for 4 days.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition of mycelial growth (%) ^{1/}	
	CH1_PF1	CH1_PF2
Control	0b	0b
500	74.71a	77.92a
1000	76.64a	80.49a
2000	79.77a	81.28a
F-Test	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

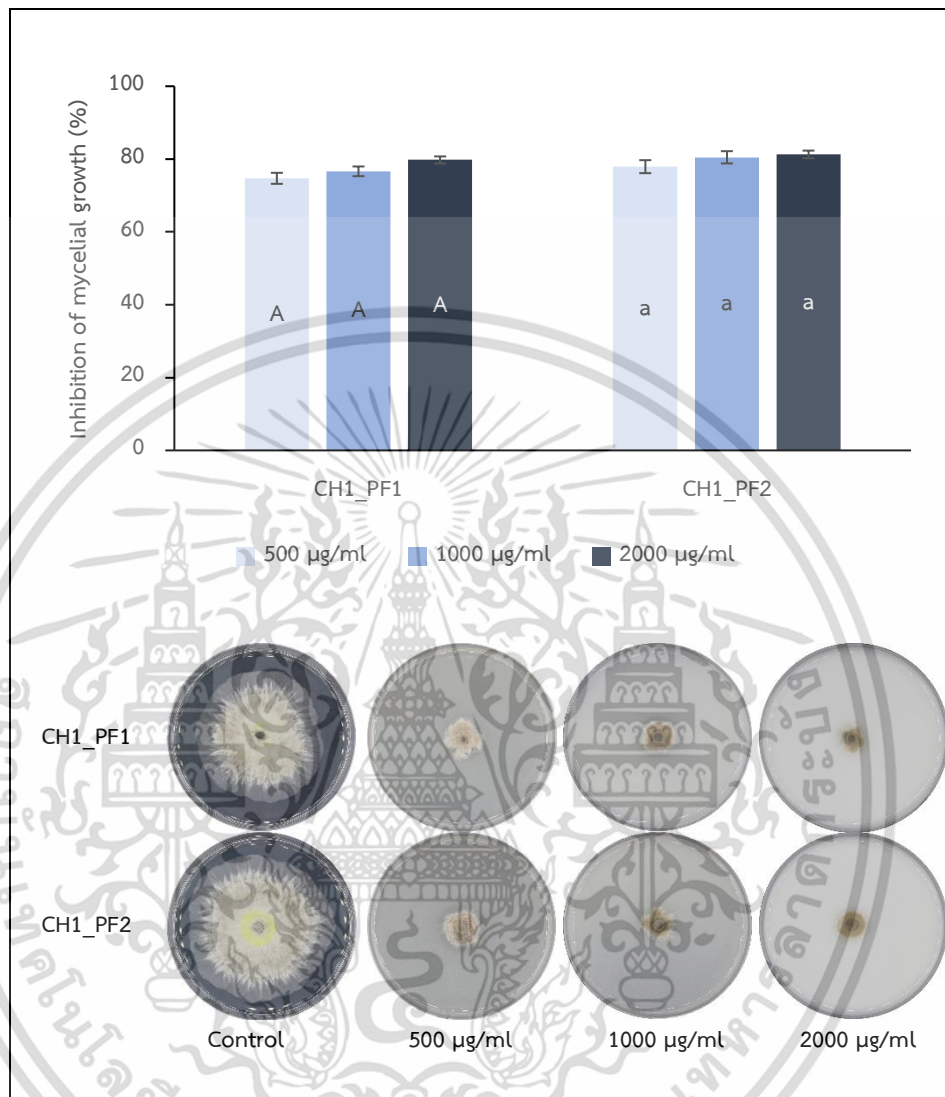


Figure 4.27 The effect of the zinc oxide nanoparticles test at various concentrations for controlling CH1_PF1 and CH1_PF2 isolates of *Phomopsis* sp. on PDA agar for 4 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

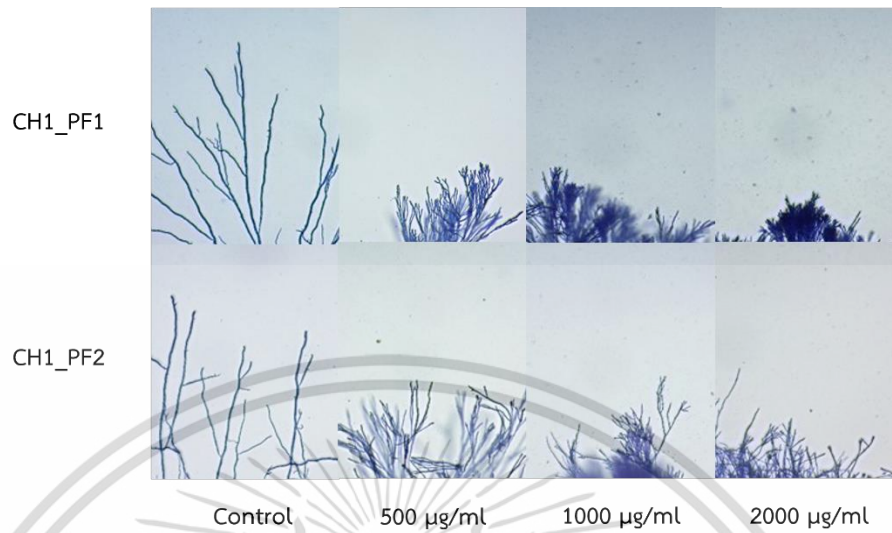


Figure 4.28 Mycelial characteristics of *Phomopsis* sp. after treated with zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml for 3 days under the compound microscope (10x).

ทำการประเมินประสิทธิภาพของ ZnO NPs โดยนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตแสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น ลอการิทึม แกน X เป็นค่า log ของความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่ใช้ทดสอบ และแกน y เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา จะได้สมการดังแสดงในตารางที่ 4.24 จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต เพื่อคำนวณความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่สามารถยับยั้งได้ 50% (Half Maximum Effective Concentration; EC₅₀) พบว่า เชื้อรา *Phomopsis* sp. ไอโซเลท CH1_PF1 แสดงค่าสมการ $y = 3.6457\ln(x) + 51.857$ ซึ่งมีค่า R² เท่ากับ 0.98 โดยมีค่า EC₅₀ < 500 µg/ml ส่วนไอโซเลท CH1_PF2 แสดงค่าสมการ $y = 2.4289\ln(x) + 63.117$ มีค่า R² เท่ากับ 0.91 และมีค่า EC₅₀ < 500 µg/ml (Figure 4.29)

Table 4.24 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R²), and 50% effective concentration of mycelial growth of *Phomopsis* sp. causing durian disease.

Isolate code	Regression equation ^{1/}	R ²	EC ₅₀ (µg/ml) ^{2/}
CH1_PF1	$y = 3.6457\ln(x) + 51.857$	0.98	<500
CH1_PF2	$y = 2.4289\ln(x) + 63.117$	0.91	<500

^{1/}y = percentage of mycelial growth inhibition; x = fungicide concentration.

^{2/}Calculated by the concentration equation (µg/ml).

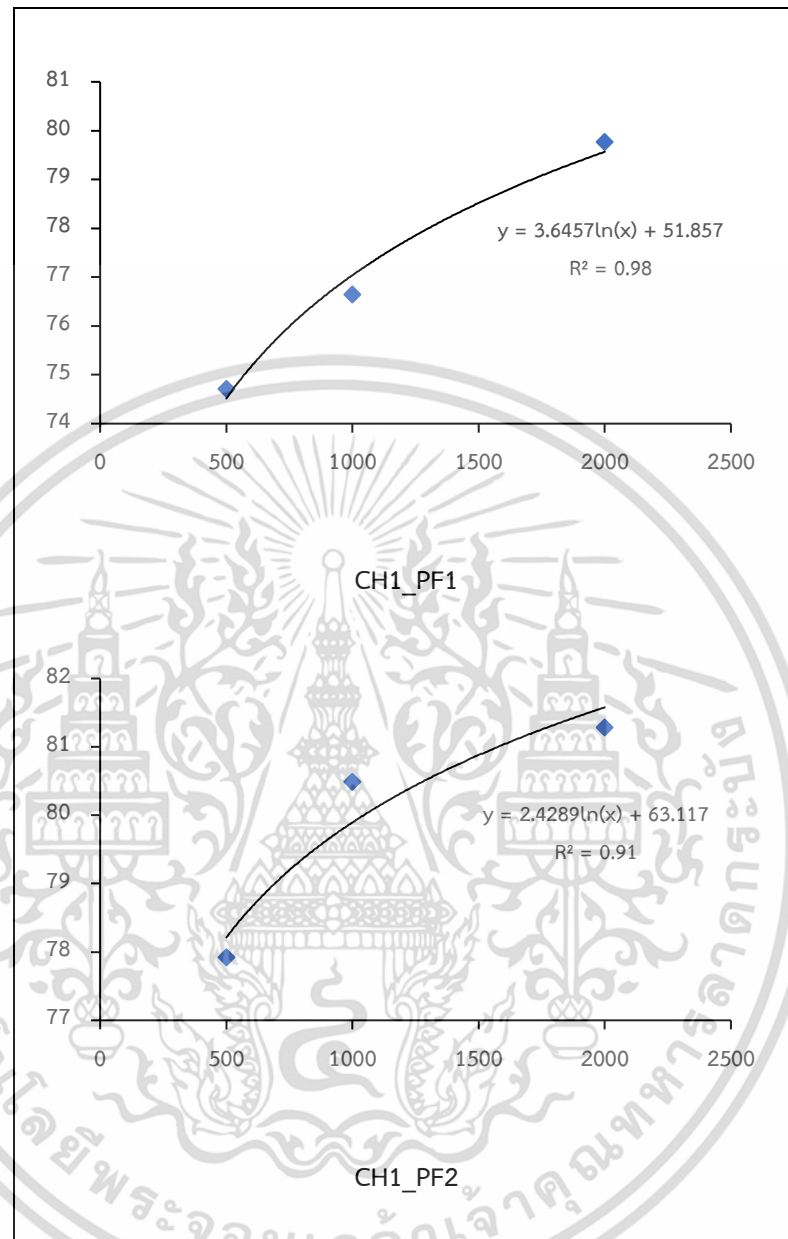


Figure 4.29 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Rhizoctonia* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 µg/ml ต่อการเจริญเติบโตทางเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ไอโซเลท CH1_PF1 และ CH1_PF2 พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ทั้ง 2 ไอโซเลท ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของ ZnO NPs มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ดีที่สุด คือ ความเข้มข้นที่ 2000 µg/ml ที่ 50.14% และ 52.97% ตามลำดับ รองลงมาที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml สามารถยับยั้งได้ ที่ 41.58%, และ 47.82% ตามลำดับ (Table 4.25, Figure 4.28) จากการนำไปตรวจสอบลักษณะเส้นใยภาพไตกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100 เท่า พบว่าความเข้มข้น 500–2000 µg/ml ทำให้เส้นใยของเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท มีลักษณะหยิก คดงอ แตกแขนงออกมาได้สั้นลงตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ซึ่งมีความผิดปกติแตกต่างออกไปจากชุดควบคุม (Figure 4.30)

Table 4.25 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml on mycelial growth of *Rhizoctonia* sp. CL1_RL1 and CL1_RL2 after inoculation for 2 days.

Concentration ZnO NPs (µg/ml)	Inhibition of mycelial growth (%) ^{1/}	
	CL1_RL1	CL1_RL2
Control	0c	0c
500	31.88b	36.71b
1000	41.58ab	47.82ab
2000	50.14a	52.97a
F-Test	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

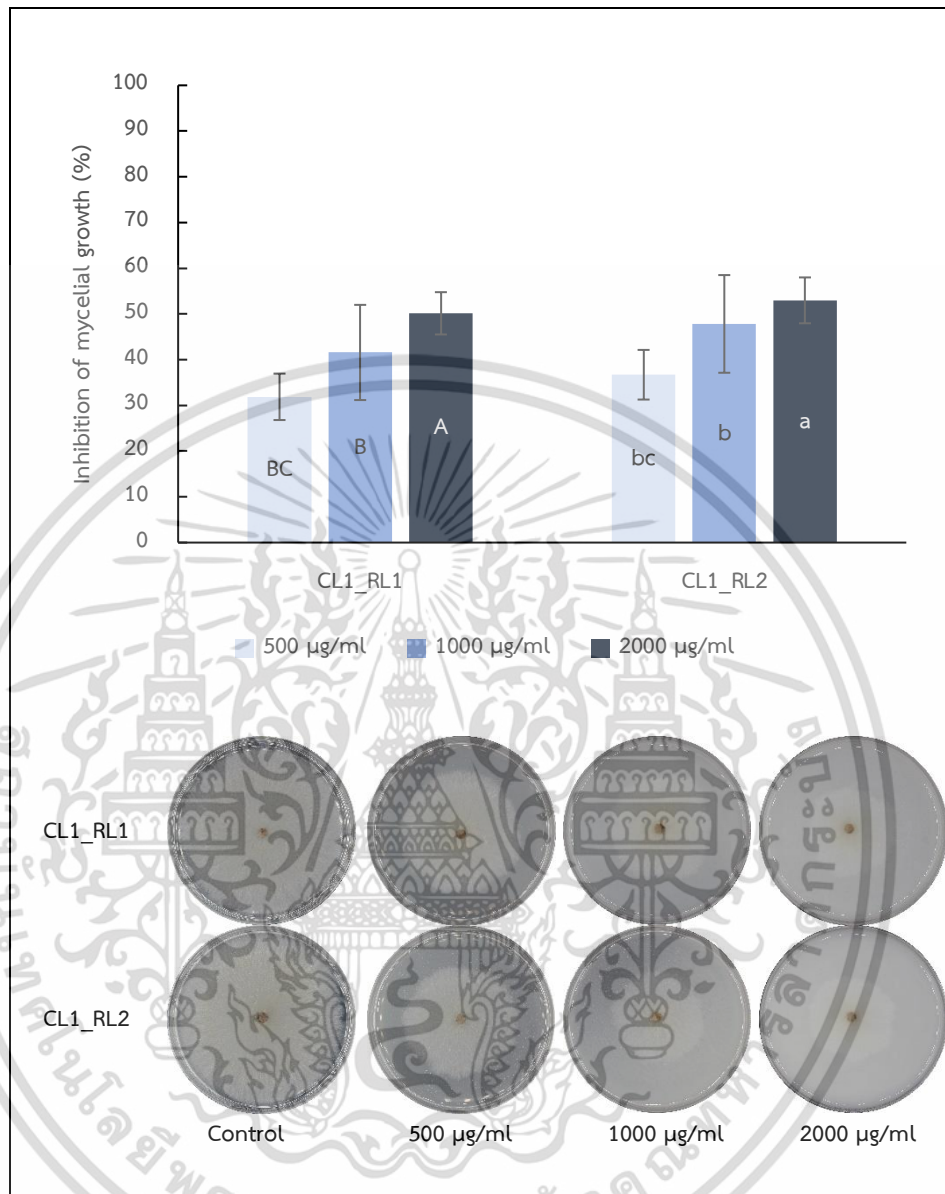


Figure 4.30 The effect of the zinc oxide nanoparticles test at various concentrations for controlling CL1_RL1 and CL1_RL2 isolates of *Rhizoctonia* sp. on PDA agar for 2 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

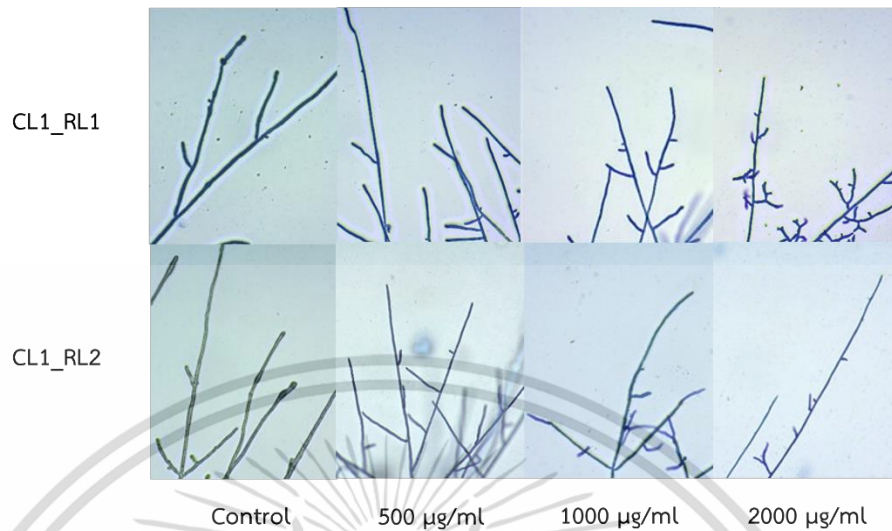


Figure 4.31 Mycelial characteristics of *Rhizoctonia* sp. after treated with zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml for 2 days under the compound microscope (10x).

ทำการประเมินประสิทธิภาพของ ZnO NPs โดยนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตแสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น ลอการิทึม แกน X เป็นค่า log ของความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่ใช้ทดสอบ และแกน y เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา จะได้สมการดังแสดงในตารางที่ 4.26 จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต เพื่อคำนวณความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่สามารถยับยั้งได้ 50% (Half Maximum Effective Concentration; EC₅₀) พบว่า เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ไอโซเลท CL1_RL1 แสดงค่าสมการ $y = 13.171\ln(x) - 49.782$ ซึ่งมีค่า R² เท่ากับ 0.99 โดยมีค่า EC₅₀ 1,950.58 µg/ml ส่วนไอโซเลท CH1_RL2 แสดงค่าสมการ $y = 11.734\ln(x) - 35.218$ และ 0.95 มีค่า EC₅₀ 1,425.79 µg/ml (Figure 4.32)

Table 4.26 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R²), and 50% effective concentration of mycelial growth of *Rhizoctonia* sp. causing durian disease.

Isolate code	Regression equation ^{1/}	R ²	EC ₅₀ (µg/ml) ^{2/}
CL1_RL1	$y = 13.171\ln(x) - 49.782$	0.99	1950.58
CL1_RL2	$y = 11.734\ln(x) - 35.218$	0.95	1425.79

^{1/}y = percentage of mycelial growth inhibition; x = fungicide concentration.

^{2/}Calculated by the concentration equation (µg/ml).

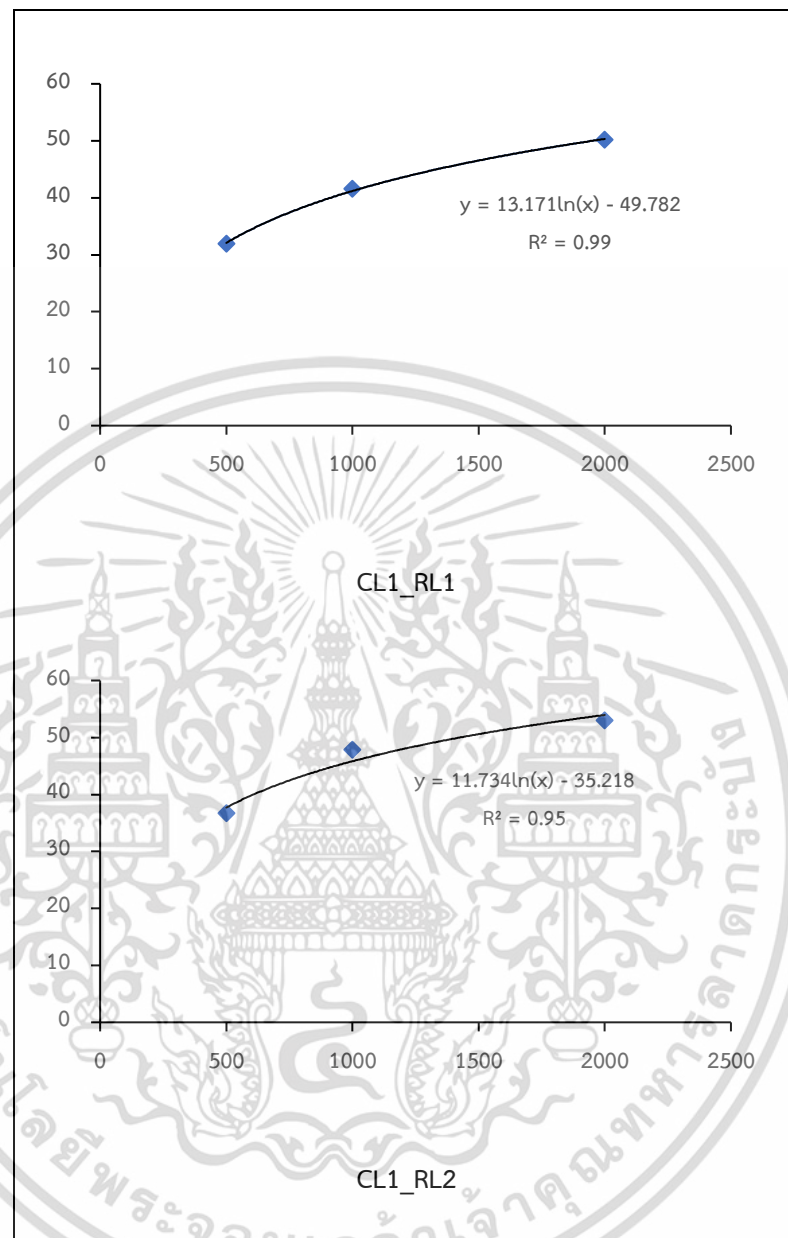


Figure 4.32 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 ทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการยับยั้งการสร้างสปอร์เชื้อรา *Phytophthora palmivora*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการสร้างสปอร์เชื้อรา *P. palmivora* ไอโซเลท CL4_F1, CL4_S5 และ CL4_F10 พบว่า สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ทั้ง 3 ไอโซเลท ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของ ZnO NPs มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ที่ 88.24–100% (Table 4.27)

Table 4.27 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ on sporulation of *Phytophthora palmivora* CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 after inoculation for 4 days.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition of sporulation (%) ^{1/}		
	CL4_F1	CL4_S5	CL4_F10
Control	0b	0b	0b
500	99.34a	88.24a	100.00a
1000	100.00a	100.00a	100.00a
2000	100.00a	100.00a	100.00a
F-Test	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

ทำการประเมินประสิทธิภาพของ ZnO NPs โดยนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์แสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น ลอการิทึม แกน X เป็นค่า \log ของความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่ใช้ทดสอบ และแกน y เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา จะได้สมการดังแสดงในตารางที่ 4.28 จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ เพื่อคำนวณความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่สามารถยับยั้งได้ 50% (Half Maximum Effective Concentration; EC_{50}) พบว่า เชื้อรา *P. palmivora* ไอโซเลท CL4_F1 แสดงค่าสมการ $y = 0.4761\ln(x) + 96.491$ ซึ่งมีค่า R^2 เท่ากับ 0.75 โดยมีค่า $EC_{50} < 500 \mu\text{g/ml}$ ส่วนไอโซเลท CL4_S5 แสดงค่าสมการ $y = 8.483\ln(x) + 37.481$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.75 ค่า $EC_{50} < 500 \mu\text{g/ml}$ ในขณะที่ไอโซเลท CL4_F10 แสดงค่า $y = 100$ ซึ่งไม่สามารถคำนวณค่า EC_{50} ได้ เนื่องจากทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 100% (Figure 4.33)

Table 4.28 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of sporulation of *Phytophthora palmivora* causing durian disease.

Isolate code	Regression equation ^{1/}	R^2	EC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) ^{2/}
CL4_F1	$y = 0.4761\ln(x) + 96.491$	0.75	<500
CL4_S5	$y = 8.483\ln(x) + 37.481$	0.75	<500
CL4_F10	$y = 100$	-	-

^{1/}y = percentage of mycelial growth inhibition; x = fungicide concentration.

^{2/}Calculated by the concentration equation ($\mu\text{g/ml}$).

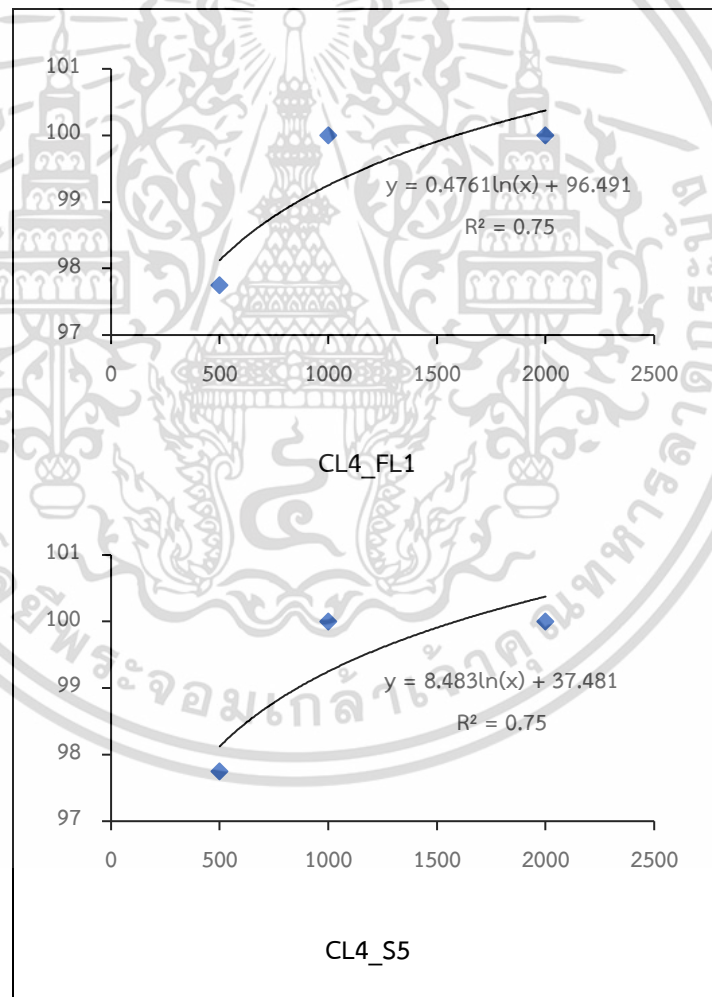


Figure 4.33 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Fusarium* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 µg/ml ต่อการสร้างสปอร์เชื้อรา *Fusarium* sp. 2 รูปแบบ คือ macroconidia และ microconidia ไอโซเลท CL6_FL1 และ CL6_FL2 พบว่า สามารถยับยั้งการสร้าง macroconidia และ microconidia ได้ทั้ง 2 ไอโซเลท ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของ ZnO NPs มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ที่ 97.76–100% (Table 4.29)

Table 4.29 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml on sporulation of *Fusarium* sp. CL6_FL1 and CL6_FL2 after inoculation for 5 days.

Concentration ZnO NPS (µg/ml)	Inhibition of sporulation (%) ^{1/}			
	Macroconidia		Microconidia	
	CL6_FL1	CL6_FL2	CL6_FL1	CL6_FL2
Control	0b	0b	0b	0b
500	98.08a	97.76a	100.00a	98.28a
1000	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a
2000	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a
F-Test	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$.

ทำการประเมินประสิทธิภาพของ ZnO NPs โดยนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์แสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น ลอการิทึม แกน X เป็นค่า log ของความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่ใช้ทดสอบ และแกน y เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา จะได้สมการดังแสดงในตารางที่ 4.30 จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ เพื่อคำนวณความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่สามารถยับยั้งได้ 50% (Half Maximum Effective Concentration; EC₅₀) พบว่า ไอโซเลท CL6_FL1 macroconidia แสดงค่าสมการ $y = 1.385\ln(x) + 89.793$ ซึ่งมีค่า R² เท่ากับ 0.75 โดยมีค่า EC₅₀ < 500 µg/ml (Figure 4.34) ส่วน microconidia แสดงค่า $y = 100$ ซึ่งไม่สามารถคำนวณค่า EC₅₀ ได้ เนื่องจากทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 100% ในขณะที่ไอโซเลท CL6_FL2 macroconidia แสดงสมการค่า $y = 1.6158\ln(x) + 88.092$ ซึ่งมีค่า R² เท่ากับ 0.75 โดยมีค่า EC₅₀ < 500 µg/ml ส่วน microconidia แสดงค่าสมการ $y = 1.2407\ln(x) + 90.856$ โดยมีค่า R² เท่ากับ 0.75 ค่า EC₅₀ < 500 µg/ml (Figure 4.35)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4.30 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of sporulation of *Fusarium* sp. causing durian disease.

Isolate code	Sporulation	Regression equation ^{1/}	R^2	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) ^{2/}
CL6_LF1	Macroconidia	$y = 1.385\ln(x) + 89.793$	0.75	<500
	Microconidia	$y = 100$	–	–
CL6_FL2	Macroconidia	$y = 1.6158\ln(x) + 88.092$	0.75	<500
	Microconidia	$y = 1.2407\ln(x) + 90.856$	0.75	<500

^{1/} y = percentage of mycelial growth inhibition; x = fungicide concentration.

^{2/}Calculated by the concentration equation ($\mu\text{g/ml}$).

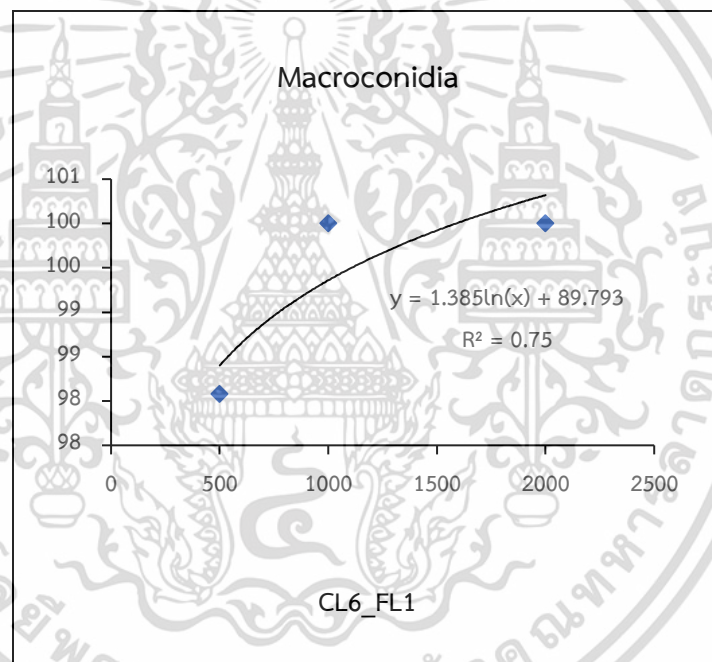


Figure 4.34 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

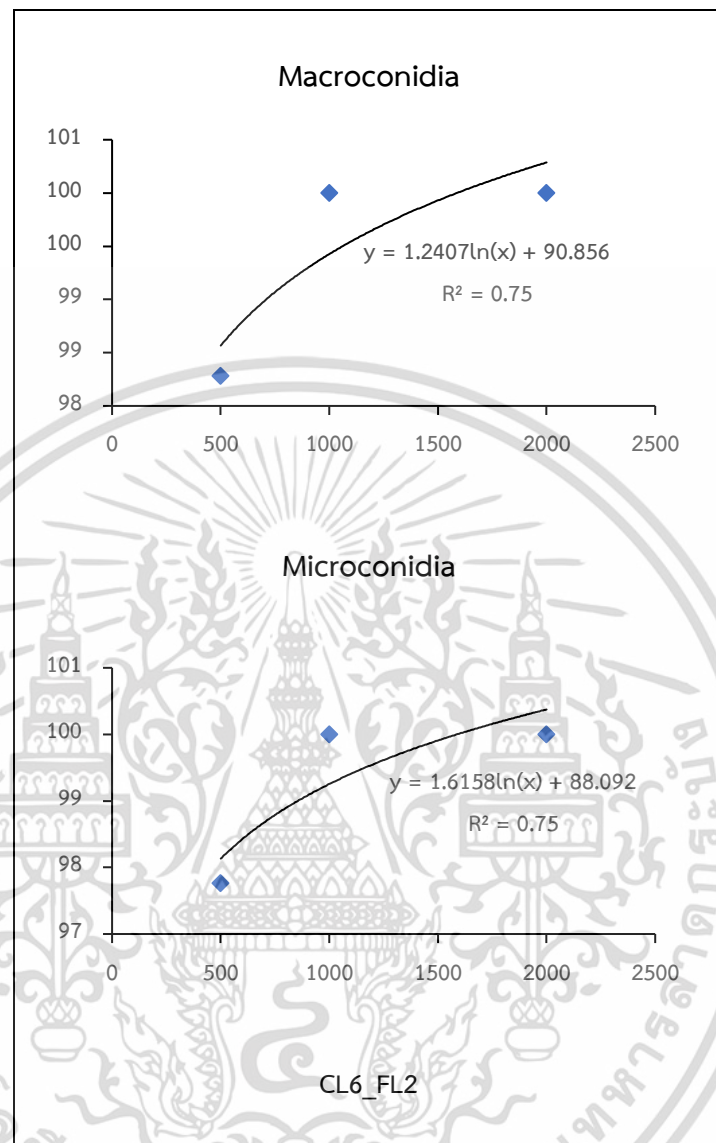


Figure 4.35 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 µg/ml ต่อการสร้างสปอร์เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. ไอโซเลท CH1_LF1 และ CH1_LF2 พบว่าสามารถยับยั้งการสปอร์ได้ทั้ง 2 ไอโซเลท ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของ ZnO NPs มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ที่ 100% (Table 4.31)

Table 4.31 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 µg/ml on sporulation of *Lasiodiplodia* sp. CH1_LF1 and CH1_LF2 after inoculation for 3 days.

Concentration ZnO NPs (µg/ml)	Inhibition of sporulation (%) ^{1/}	
	CH1_LF1	CH1_LF2
Control	0b	0b
500	100.00a	100.00a
1000	100.00a	100.00a
2000	100.00a	100.00a
F-Test	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

ทำการประเมินประสิทธิภาพของ ZnO NPs โดยนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์แสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น ลอการิทึม แกน X เป็นค่า log ของความเข้มข้นของ ZnO NPs ใช้ทดสอบ และแกน y เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา จะได้สมการดังแสดงในตารางที่ 4.32 จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ เพื่อคำนวณความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่สามารถยับยั้งได้ 50% (Half Maximum Effective Concentration; EC₅₀) พบว่าเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. ทั้ง 2 ไอโซเลท แสดงสมการค่า $y = 100$ ซึ่งไม่สามารถคำนวณค่า EC₅₀ ได้ เนื่องจากทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 100%

Table 4.32 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of sporulation of *Fusarium* sp. causing durian disease.

Isolate code	Regression equation ^{1/}	R^2	EC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) ^{2/}
CH1_LF1	$y = 100$	-	-
CH1_LF2	$y = 100$	-	-

^{1/} y = percentage of mycelial growth inhibition; x = fungicide concentration.

^{2/}Calculated by the concentration equation ($\mu\text{g/ml}$).

เชื้อรา *Phomopsis* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการสร้างสปอร์เชื้อรา *Phomopsis* sp. ไอโซเลท CH1_PF1 และ CH1_PF2 พบว่าสามารถยับยั้งการสปอร์ได้ทั้ง 2 ไอโซเลท ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของ ZnO NPs มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ที่ 96.61-100% (Table 4.33)

Table 4.33 Inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles at 500, 1000, and 2000 $\mu\text{g/ml}$ on sporulation of *Phomopsis* sp. CH1_PF1 and CH1_PF2 after inoculation for 4 days.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition of sporulation (%) ^{1/}	
	CH1_PF1	CH1_PF2
Control	0b	0b
500	97.75a	96.61a
1000	100.00a	100.00a
2000	100.00a	100.00a
F-Test	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

ทำการประเมินประสิทธิภาพของ ZnO NPs โดยนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์แสดงกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้น ลอการิทึม แกน X เป็นค่า log ของความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่ใช้ทดสอบ และแกน y เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา จะได้สมการดังแสดงในตารางที่ 4.34 จากนั้นแทนค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ เพื่อคำนวณความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่สามารถยับยั้งได้ 50% (Half Maximum Effective Concentration; EC₅₀) พบว่าเชื้อรา *Phomopsis* sp. ไอโซเลท CH1_LF1 แสดงค่าเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมการ $y = 1.623\ln(x) + 88.038$ ซึ่งมีค่า R^2 เท่ากับ 0.75 และมีค่า $EC_{50} < 500$ $\mu\text{g/ml}$ ส่วนไอโซเลท CH1_LF2 แสดงค่าสมการ $y = 2.445(x) + 81.978$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.75 และมีค่า $EC_{50} < 500$ $\mu\text{g/ml}$ (Figure 4.34)

Table 4.34 Zinc oxide nanoparticles, regression equation, coefficient of determination (R^2), and 50% effective concentration of sporulation of *Phomopsis* sp. causing durian disease.

Isolate code	Regression equation ^{1/}	R^2	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) ^{2/}
CH1_LF1	$y = 1.623\ln(x) + 88.038$	0.75	<500
CH1_LF2	$y = 2.445(x) + 81.978$	0.75	<500

^{1/}y = percentage of mycelial growth inhibition; x = fungicide concentration.

^{2/}Calculated by the concentration equation ($\mu\text{g/ml}$).

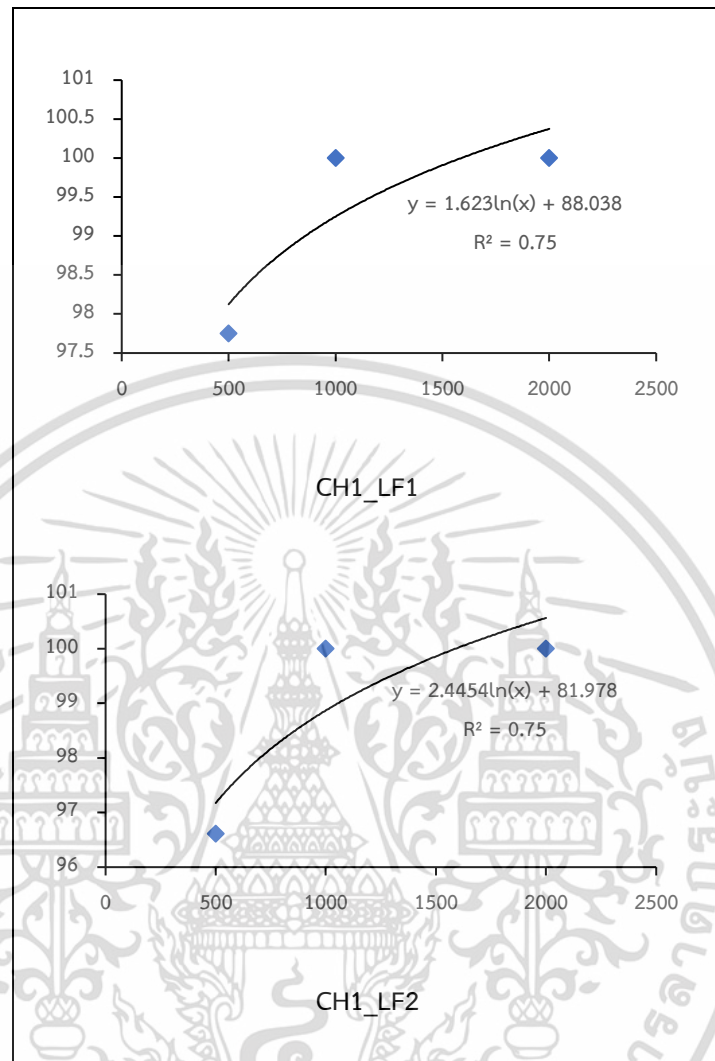


Figure 4.36 Coefficient of determination (R^2), linear regression equation, and scatter diagram showing the fitted simple regression line of Y on X under laboratory conditions.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 ทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์และเส้นใย

เชื้อรา *Phytophthora palmivora*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการยับยั้งการงอกของเชื้อรา *P. Palmivora* ไอโซเลท CL4_F1, CL4_S5 และ CL4_F10 พบว่า ในระยะเวลา 3 ชั่วโมง ความเข้มข้น 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100% รองลงมาคือ ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ที่ 77.42–83.17% ในขณะที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ความเข้มข้น 2000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดที่ 26.55-40.30% (Table 4.35) ซึ่งมีความยาวของ germ tube อยู่ในช่วง 41.75–43.75 μm (Table 4.36 ,Figure 4.37)

Table 4.35 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on sporangium germination of *Phytophthora palmivora* isolates CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 on V8 agar for 3 and 6 hr. after incubation.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition of sporangium germination (%) ^{1/}					
	3 hr.			6 hr.		
	CL4_F1	CL4_S5	CL4_F10	CL4_F1	CL4_S5	CL4_F10
Control	0.00c	0.00c	0.00c	0.00b	0.00b	0.00b
500	77.42b	83.17b	80.00b	17.48a	15.04ab	19.40ab
1000	100.00a	100.00a	100.00a	21.36a	13.27ab	28.36a
2000	100.00a	100.00a	100.00a	32.04a	26.55a	40.30a
F-Test	**	**	**	**	*	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

* = F-test significant at $p > 0.01$

Table 4.36 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of *Phytophthora palmivora* isolates CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 on V8 agar according to incubation periods.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Length of germ tube (μm) ^{1/}					
	3 hr.			6 hr.		
	CL4_F1	CL4_S5	CL4_F10	CL4_F1	CL4_S5	CL4_F10
Control	49.30d	47.60c	48.65d	117.50d	110.50d	115.00d
500	8.60c	7.50bc	9.10c	80.50c	78.75c	89.25c
1000	5.15b	4.20b	6.00b	63.00b	57.75b	66.75b
2000	0.50a	0.20a	0.35a	41.75a	43.25a	43.75a
F-Test	**	**	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$



Figure 4.37 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of *Phytophthora palmivora* isolates CL4_F1, CL4_S5, and CL4_F10 on V8 agar for 3 and 6 hr. after incubation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Fusarium* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการยับยั้งการงอกของเชื้อรา *Fusarium* sp. (macroconidia) ไอโซเลท CL6_FL1 และ CL6_FL2 พบว่า ในระยะเวลา 3 ชั่วโมง ความเข้มข้น 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100% รองลงมาคือ ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ที่ 68.62–86.21% ในขณะที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ความเข้มข้น 2000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดที่ 58.22-67.23% (Table 4.37) ซึ่งมีความยาวของ germ tube อยู่ในช่วง 11.50–14.50 μm (Table 4.38, Figure 4.38)

Table 4.37 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on macroconidia germination of *Fusarium* sp. isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition of macroconidia germination (%) ^{1/}			
	3 hr.		6 hr.	
	CL6_FL1	CL6_FL2	CL6_FL1	CL6_FL2
Control	0.00b	0.00c	0.00b	0.00c
500	86.21a	68.62b	7.14b	8.44b
1000	100.00a	100.00a	13.87ab	15.11ab
2000	100.00a	100.00a	30.25a	58.22a
F-Test	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

Table 4.38 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of *Fusarium* sp. isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar according to incubation periods.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Length of germ tube (μm) ^{1/}			
	3 hr.		6 hr.	
	CL6_FL1	CL6_FL2	CL6_FL1	CL6_FL2
Control	17.00c	14.00c	50.00d	44.75d
500	2.75bc	2.50bc	35.25c	32.75c
1000	2.25b	2.00b	28.25b	26.00b
2000	1.00a	0.75a	14.50a	11.50a
F-Test	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

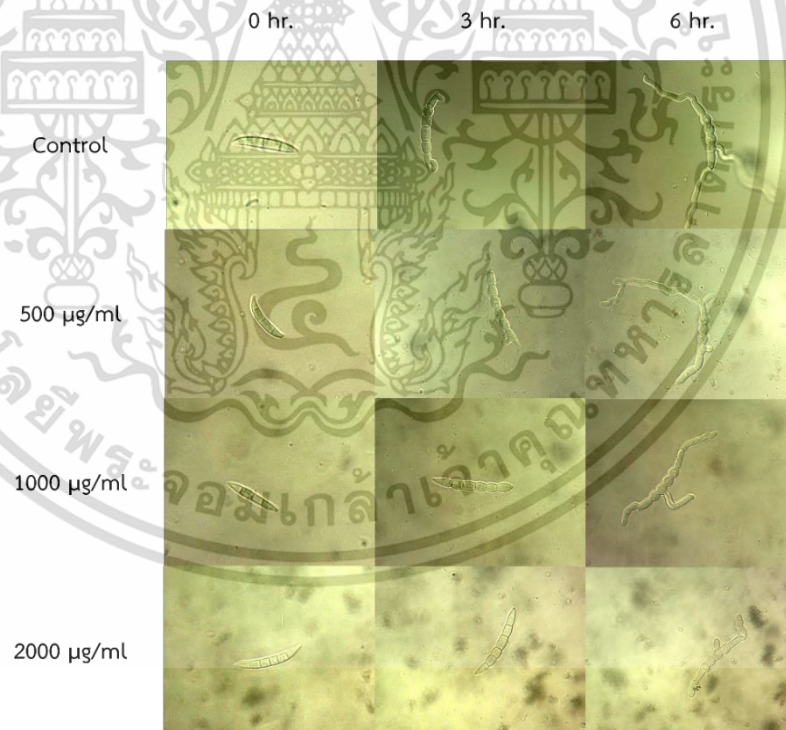


Figure 4.38 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of *Fusarium* sp. (macroconidia) isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการยับยั้งการงอกของเชื้อรา *Fusarium* sp. (microconidia) ไอโซเลท CL6_FL1 และ CL6_FL2 พบว่า ในระยะเวลา 3 ชั่วโมง ความเข้มข้น 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100% รองลงมาคือ ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ที่ 50.00–47.26% ในขณะที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ความเข้มข้น 2000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดที่ 55.67-41.18% (Table 4.39) ซึ่งมีความยาวของ germ tube อยู่ในช่วง 18.25–18.75 μm (Table 4.40 , Figure 4.39)

Table 4.39 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on microconidia germination of *Fusarium* sp. isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition of microconidia germination (%) ^{1/}			
	3 hr.		6 hr.	
	CL6_FL1	CL6_FL2	CL6_FL1	CL6_FL2
Control	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
500	47.62b	50.00b	25.49bc	25.77bc
1000	100.00a	100.00a	32.35b	45.36b
2000	100.00a	100.00a	41.18a	55.67a
F-Test	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

Table 4.40 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of *Fusarium* sp. isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar according to incubation periods.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Length of germ tube (μm) ^{1/}			
	3 hr.		6 hr.	
	CL6_FL1	CL6_FL2	CL6_FL1	CL6_FL2
Control	7.00c	5.50b	39.00d	39.25d
500	2.50bc	2.00a	29.25c	30.25c
1000	1.00b	0.50a	25.25b	23.75b
2000	0.25a	0.25a	18.75a	18.25a
F-Test	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

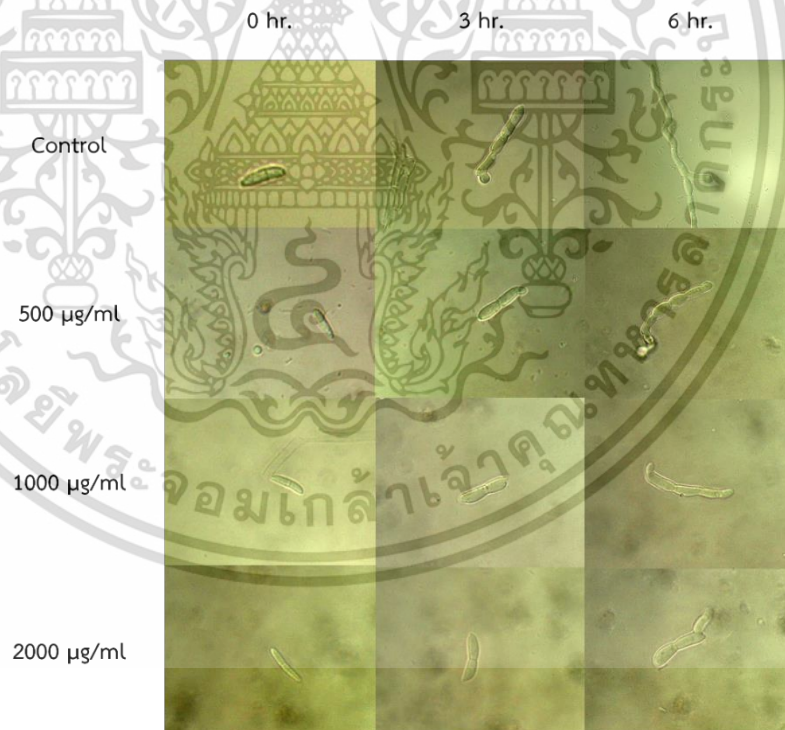


Figure 4.39 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of *Fusarium* sp. (macroconidia) isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 µg/ml ต่อการยับยั้งการงอกของเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. ไอโซเลท CH1_LF1 และ CH1_LF2 พบว่า ในระยะเวลา 4 ชั่วโมง ความเข้มข้น 1000 และ 2000 µg/ml สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100% รองลงมาคือ ความเข้มข้น 500 µg/ml ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ที่ 68.29–89.47% ในขณะที่ระยะเวลา 8 ชั่วโมง ความเข้มข้น 2000 µg/ml สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดที่ 35.44-45.21% (Table 4.41) และพบว่าความยาวของ germ tube ที่เวลา 6 ชั่วโมงมีความยาวมากเกินไปที่จะสามารถวัดได้เนื่องจากพัฒนาไปเป็นเส้นใยเชื้อราแล้ว (Table 4.42, Figure 4.40)

Table 4.41 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on spore germination of *Lasiodiplodia* sp. isolates CH1_LF1 and CH1_LF2 on PDA agar for 4 and 8 hr. after incubation.

Concentration ZnO NPS (µg/ml)	Inhibition of spore germination (%) ^{1/}			
	4 hr.		8 hr.	
	CH1_LF1	CH1_LF2	CH1_LF1	CH1_LF2
Control	0.00b	0.00b	0.00c	0.00c
500	89.47a	68.29ab	11.39b	10.96b
1000	100.00a	100.00ab	17.72a	26.03ab
2000	100.00a	100.00a	35.44a	45.21a
F-Test	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

Table 4.42 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of *Lasiodiplodia* sp. isolates CL6_FL1 and CL6_FL2 on PDA agar according to incubation periods.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Length of germ tube (μm) ^{1/}			
	4 hr.		8 hr.	
	CH1_LF1	CH1_LF2	CH1_LF1	CH1_LF2
Control	51.25b	49.00b	-	-
500	2.75a	2.00a	-	-
1000	1.75a	1.00a	-	-
2000	1.25a	1.00a	-	-
F-Test	**	**	-	-

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

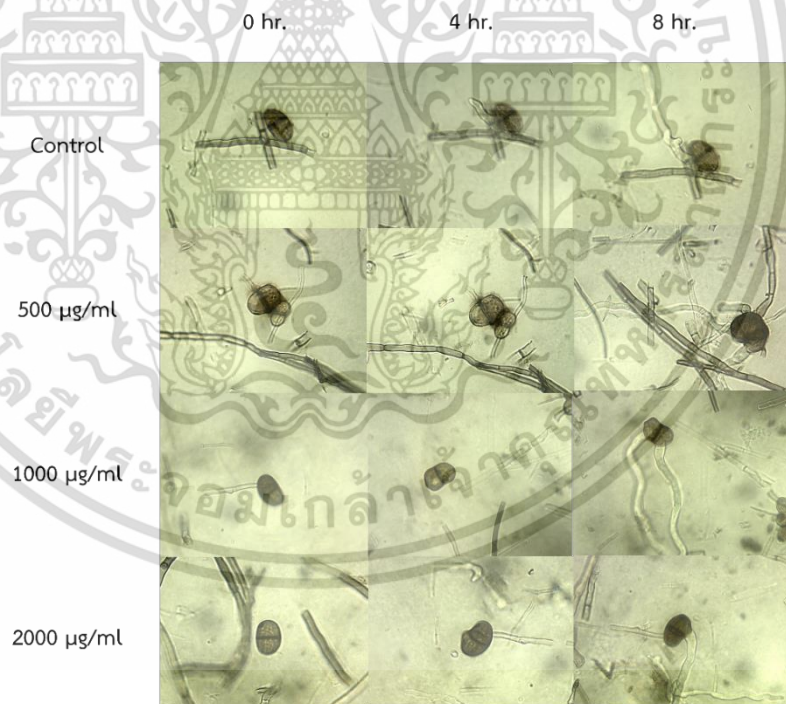


Figure 4.40 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on spore germination of *Phomopsis* sp. isolates CH1_PF1 and CH1_PF2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Phomopsis* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการยับยั้งการงอกของเชื้อรา *Phomopsis* sp. ไอโซเลท CH1_PF1 และ CH1_PF2 พบว่า ในระยะเวลา 4 ชั่วโมง ความเข้มข้น 2000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 79.64–86.08% รองลงมาคือ ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/ml}$ ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ที่ 68.99–72.46% ในขณะที่ระยะเวลา 8 ชั่วโมง ความเข้มข้น 2000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดที่ 43.67-52.78% (Table 4.43) ซึ่งมีความยาวของ germ tube อยู่ในช่วง 7.75–8.25 μm (Table 4.44, Figure 4.41)

Table 4.43 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on spore germination of *Phomopsis* sp. isolates CH1_LF1 and CH1_LF2 on PDA agar for 4 and 8 hr. after incubation.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition of spore germination (%) ^{1/}			
	3 hr.		6 hr.	
	CH1_PF1	CH1_PF2	CH1_PF1	CH1_PF2
Control	0.00c	0.00c	0.00b	0.00c
500	42.41b	33.53b	33.86a	22.92b
1000	68.99ab	72.46a	38.61a	44.10a
2000	86.08a	79.64a	43.67a	52.78a
F-Test	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

Table 4.44 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on germ tube length of *Phomopsis* sp. isolates CH1_LF1 and CH1_LF2 on PDA agar according to incubation periods.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Length of germ tube (μm) ^{1/}			
	4 hr.		8 hr.	
	CH1_PF1	CH1_PF2	CH1_PF1	CH1_PF2
Control	13.50c	13.00d	29.25d	27.50c
500	8.25b	7.25c	21.00c	19.25b
1000	4.50a	4.00b	12.50b	10.50a
2000	2.25a	1.75a	8.25a	7.75a
F-Test	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

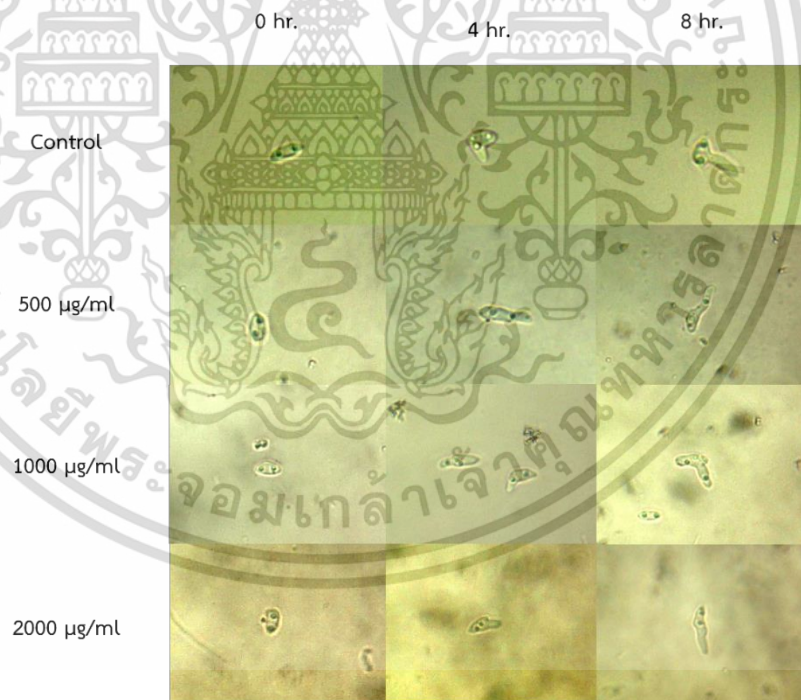


Figure 4.41 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on spore germination of *Phomopsis* sp. isolates CH1_LF1 and CH1_LF2 on PDA agar for 4 and 8 hr. after incubation.

เชื้อรา *Rhizoctonia* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 µg/ml ต่อการยับยั้งการงอกของเชื้อรา *Phomopsis* sp. ไอโซเลท CL1_RL1 และ CL1_RL2 พบว่า ในระยะเวลา 3 ชั่วโมง ความเข้มข้น 2000 µg/ml สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 94.47–98.64% รองลงมาคือ ความเข้มข้น 1000 µg/ml ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ที่ 80.54–80.65% ในขณะที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ความเข้มข้น 2000 µg/ml สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดที่ 65.72-69.04% (Table 4.45) ซึ่งมีความยาวของ germ tube อยู่ในช่วง 32.75–38.50 µm (Table 4.46, Figure 4.42)

Table 4.45 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on mycelial germination of *Rhizoctonia* sp. isolates CL1_RL1 and CL1_RL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.

Concentration ZnO NPS (µg/ml)	Inhibition of spore germination (%) ^{1/}			
	3 hr.		6 hr.	
	CL1_RL1	CL1_RL2	CL1_RL1	CL1_RL2
Control	0.00c	0.00b	0.00d	0.00c
500	23.98b	28.11b	24.56c	24.73b
1000	80.54a	80.65a	52.67b	52.30a
2000	98.64a	94.47a	69.04a	65.72a
F-Test	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$

Table 4.46 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on mycelial length of *Rhizoctonia* sp. isolates CL1_RL1 and CL1_RL2 on PDA agar according to incubation periods.

Concentration ZnO NPs ($\mu\text{g/ml}$)	Length of germ tube (μm) ^{1/}			
	3 hr.		6 hr.	
	CL1_RL1	CL1_RL2	CL1_RL1	CL1_RL2
Control	49.25d	47.25d	118.25d	89.25a
500	33.50c	32.25c	82.75c	83.00a
1000	25.75b	25.00b	57.00b	53.00a
2000	10.75a	11.00a	38.50a	32.75a
F-Test	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$.

** = F-test significant at $p < 0.01$



Figure 4.42 Efficiency of zinc oxide nanoparticles on mycelial germination of *Rhizoctonia* sp. isolates CL1_RL1 and CL1_RL2 on PDA agar for 3 and 6 hr. after incubation.

4.5 ทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนต้นกล้าและผลทุเรียน

เชื้อรา *Phytophthora palmivora*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 µg/ml ฉีดพ่นหลังจากการปลูกเชื้อ *P. palmivora* บนต้นกล้าทุเรียน ทุก ๆ 7 วัน เป็นจำนวน 3 ครั้ง พบว่าการฉีดพ่น ZnO NPs ไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ทุกไอโซเลต (Table 4.47) ทั้งนี้พบว่าการใช้ ZnO NPs มีแนวโน้มลดความรุนแรงของการเกิดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม กล่าวคือ ZnO NPs ความเข้มข้น 8000 µg/ml สามารถลดระดับความรุนแรงของเชื้อรา *P. palmivora* ได้ โดยก่อให้เกิดโรคระดับความรุนแรง 1.50–3.25 ในขณะที่ชุดควบคุมมีระดับความรุนแรง 3.75 (Table 4.48) (Figure 4.43, 4.44, 4.45)

Table 4.47 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian seedlings of *Phytophthora palmivora* on disease incidence (DI) after 21 days of incubation.

Isolate code	Concentration (µg/ml)	Disease incidence (%) ^{1/}
Control	Non-pathogen	0
	pathogen	100
CL4_F1	2000	100
	4000	100
	8000	100
CL4_S5	pathogen	100
	2000	100
	4000	100
	8000	100
CL4_F10	pathogen	100
	2000	100
	4000	100
	8000	100

^{1/}Values are evaluated with 4 durian seedlings.

Table 4.48 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian seedlings of *Phytophthora palmivora* on disease severity index (DSI).

Concentrations (µg/ml)	CL4_F1 ^{1/}			CL4_S5 ^{1/}			CL4_F10 ^{1/}		
	7 days	14 days	21 days	7 days	14 days	21 days	7 days	14 days	21 days
Non-pathogen	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
Pathogen	2.75c	3.75d	3.75c	1.50b	2.50b	3.25c	2.50c	3.25c	3.75b
2000	2.00bc	3.00cd	3.50bc	1.50b	2.50b	3.25c	2.00bc	3.50c	4.00b
4000	1.75bc	2.25bc	3.50bc	0.75ab	1.75b	2.50bc	1.00ab	2.00b	3.75b
8000	1.00ab	1.75b	2.50b	0.50ab	1.25ab	1.50b	1.00ab	1.75b	3.25b
F-test	**	**	**	*	**	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column code are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$

** = F-test significant at $p < 0.01$

* = F-test significant at $p > 0.01$

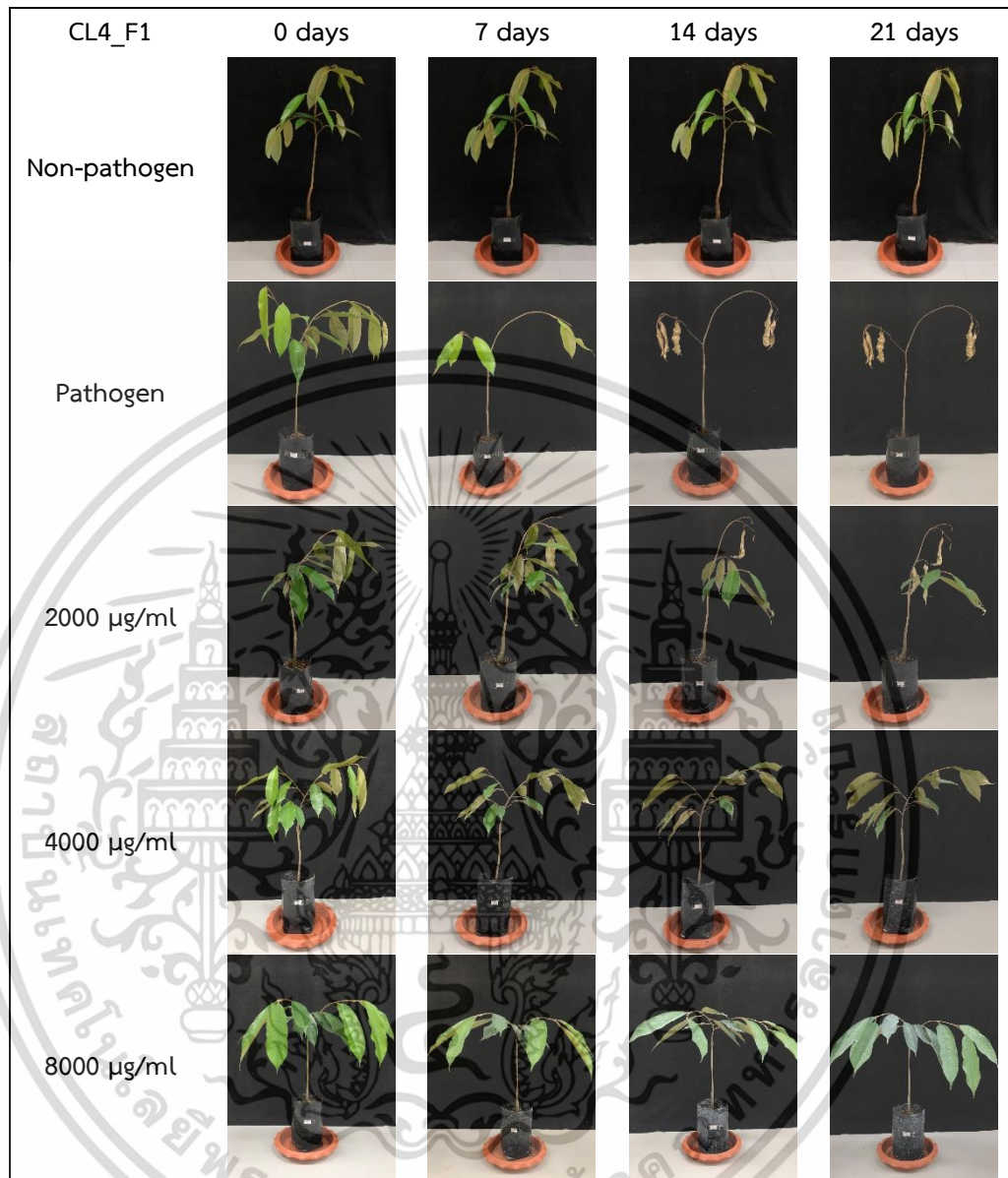


Figure 4.43 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL4_F1 of *Phytophthora palmivora*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

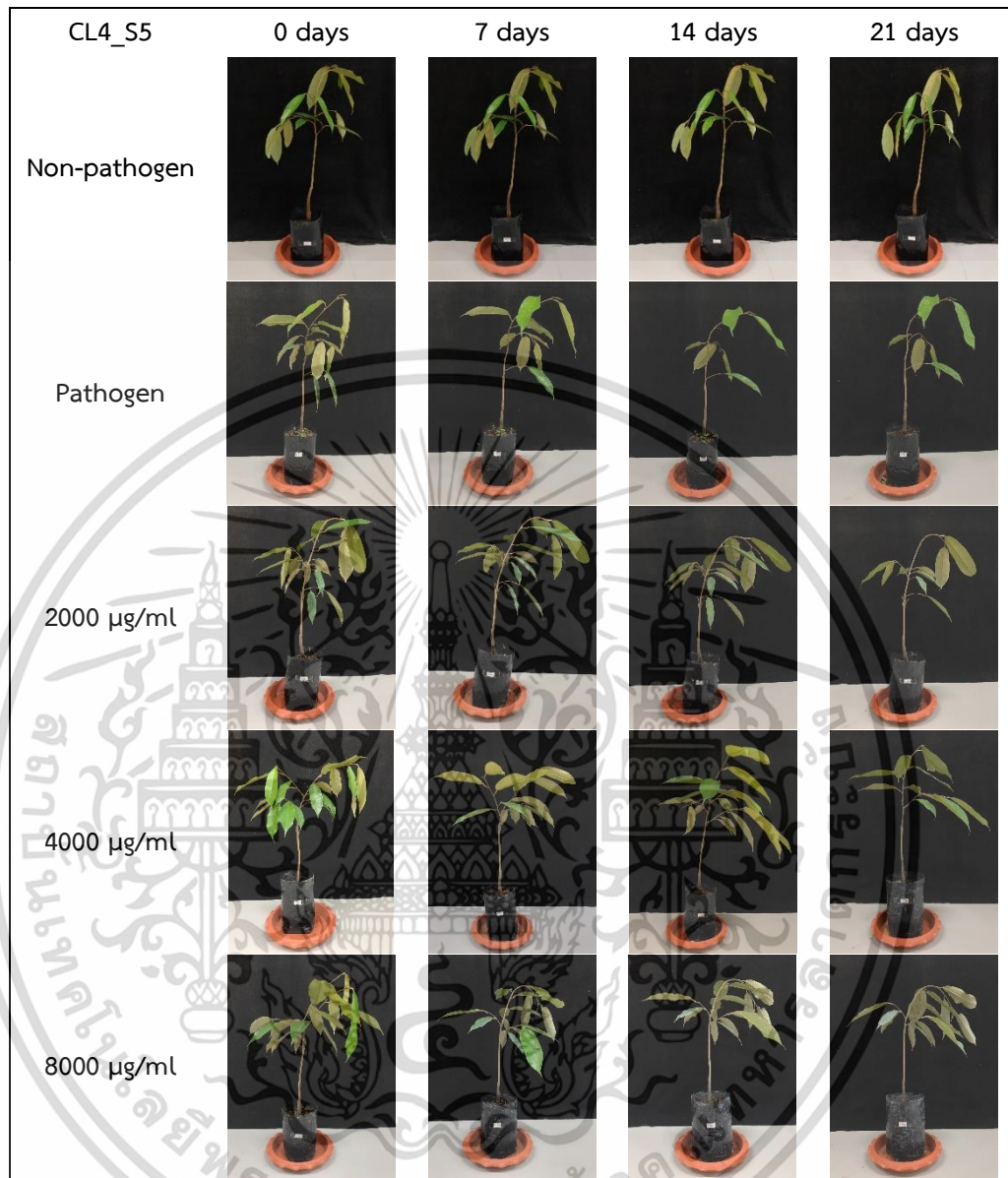


Figure 4.44 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL4_S5 of *Phytophthora palmivora*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

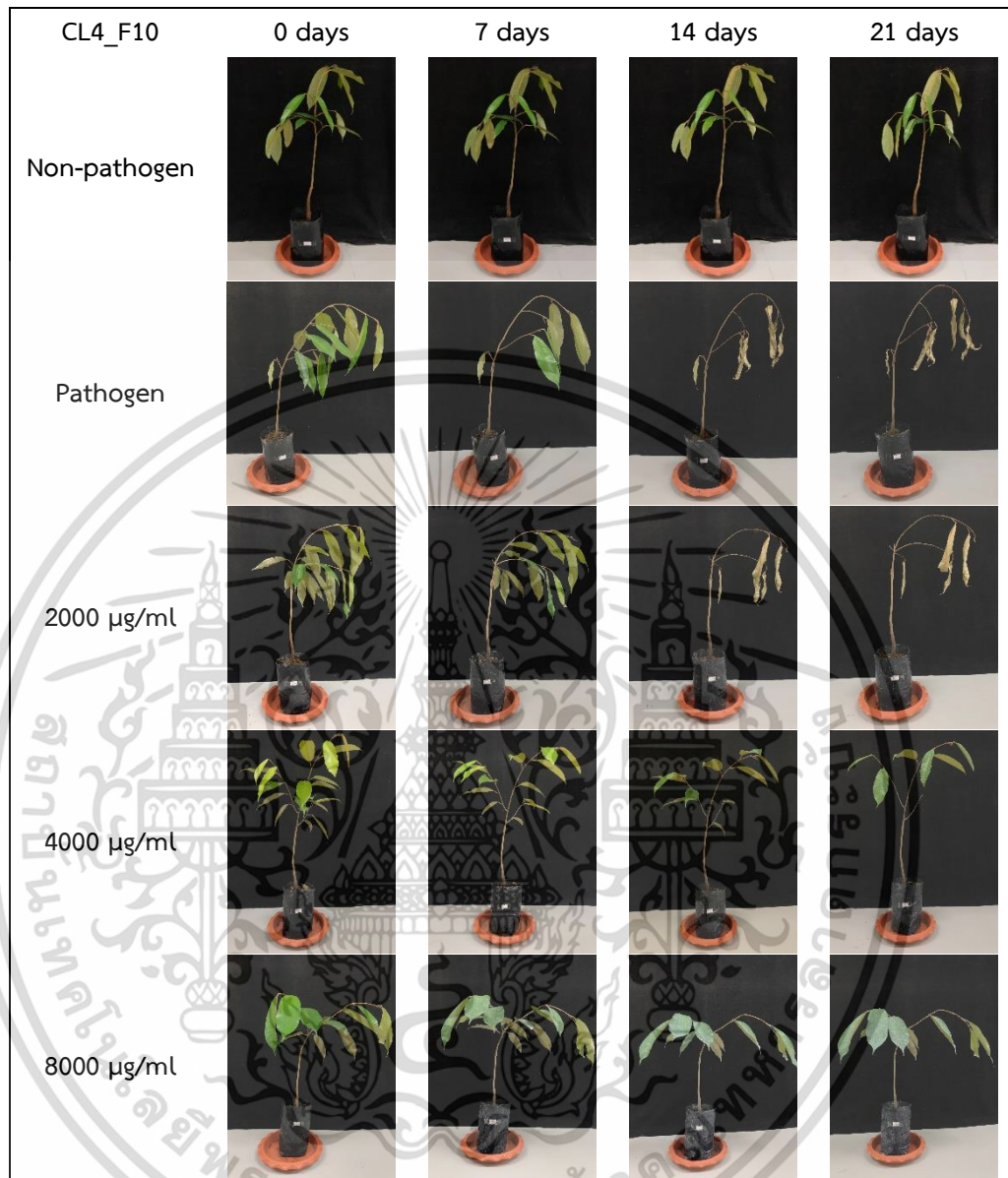


Figure 4.45 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL4_F10 of *Phytophthora palmivora*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Fusarium* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 $\mu\text{g/ml}$ ฉีดพ่นหลังจากการปลูกเชื้อ *Fusarium* sp. บนต้นกล้าทุเรียน ทุก ๆ 7 วัน เป็นจำนวน 3 ครั้ง พบว่าการฉีดพ่น ZnO NPs ไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ทุกไอโซเลท (Table 4.49) ทั้งนี้พบว่าการใช้ ZnO NPs มีแนวโน้มลดความรุนแรงของการเกิดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม กล่าวคือ ZnO NPs ความเข้มข้น 8000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถลดระดับความรุนแรงของเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ โดยก่อให้เกิดโรคระดับความรุนแรง 1.00–2.50 ในขณะที่ชุดควบคุมมีระดับความรุนแรง 2.75–3.00 (Table 4.50) (Figure 4.46, 4.47)

Table 4.49 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 $\mu\text{g/ml}$ on durian seedlings of *Fusarium* sp. on disease incidence (DI) after 21 days of incubation.

Isolate code	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Disease incidence (%) ^{1/}
Control	Non-pathogen	0
	pathogen	100
CL6_FL1	2000	100
	4000	100
	8000	75
	pathogen	100
CL6_FL2	2000	100
	4000	100
	8000	100
	pathogen	100

^{1/}Values are evaluated with 4 durian seedlings.

Table 4.50 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian seedlings of *Fusarium* sp. on disease severity index (DSI).

Concentrations (µg/ml)	CL6_FL1 ^{1/}			CL6_FL2 ^{1/}		
	7 days	14 days	21 days	7 days	14 days	21 days
Non-pathogen	0.00	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
Pathogen	1.25	1.50b	3.00c	0.75ab	1.00ab	2.75ab
2000	0.75	1.50b	2.25bc	2.50b	3.00b	3.50b
4000	0.25	1.00ab	1.75bc	1.75ab	2.50b	2.75b
8000	0.25	0.75ab	1.00ab	0.50ab	2.25ab	2.50ab
F-test	ns	*	**	*	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column code are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$

ns = not significant at $p > 0.01$

* = F-test significant at $p > 0.01$

** = F-test significant at $p < 0.01$

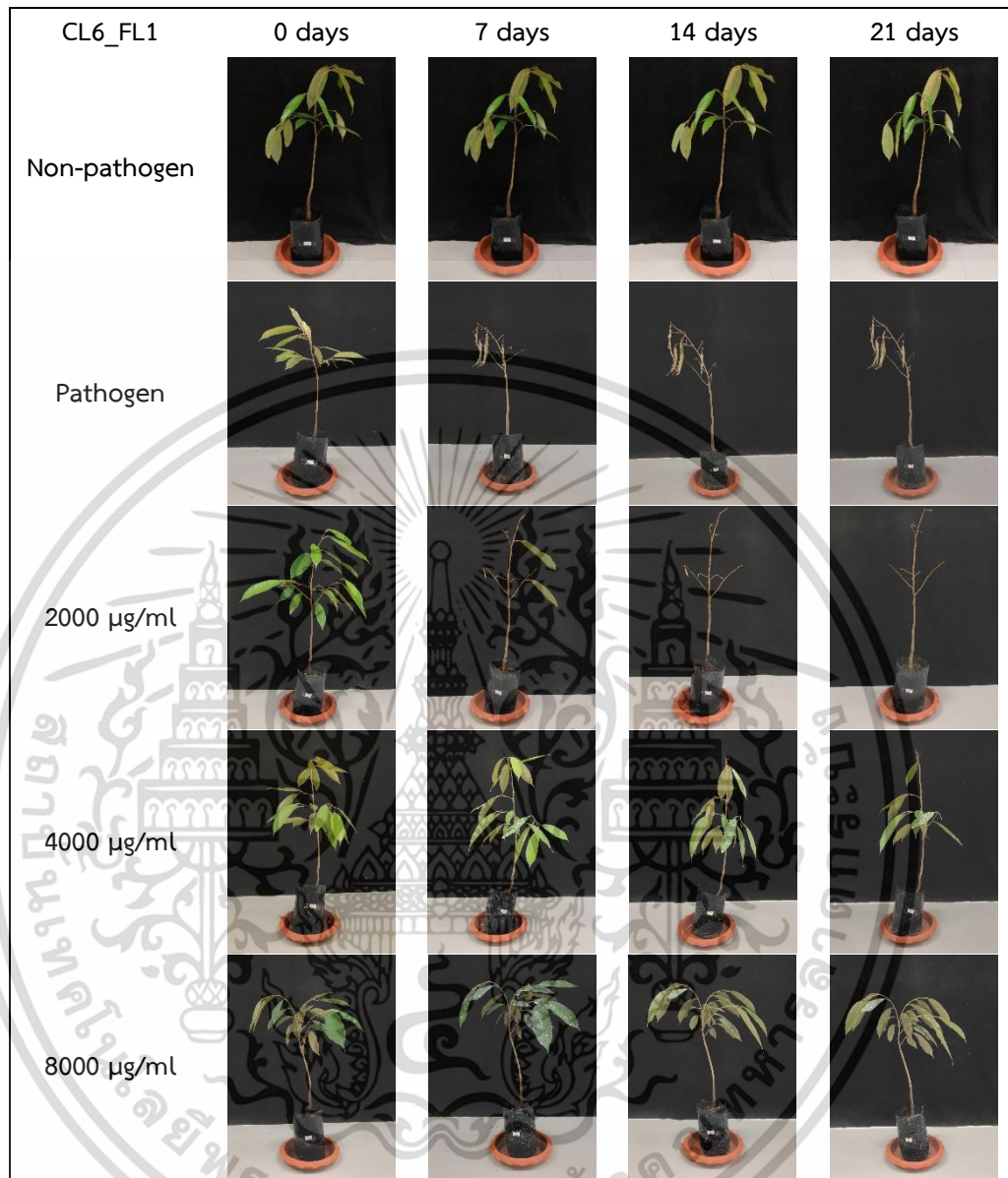


Figure 4.46 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL6_FL1 of *Fusarium* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Figure 4.47 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL6_FL2 of *Fusarium* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 $\mu\text{g/ml}$ โดยการนำผลทุเรียนจากการปลูกเชื้อ *Lasiodiplodia* sp. จุ่ม พบว่าการฉีดพ่น ZnO NPs ไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ทุกไอโซเลท (Table 4.51) ทั้งนี้พบว่าการใช้ ZnO NPs มีแนวโน้มลดความรุนแรงของการเกิดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม กล่าวคือ ZnO NPs ความเข้มข้น 8000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถลดระดับความรุนแรงของเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. ได้ โดยก่อให้เกิดโรคระดับความรุนแรง 0.25–1.00 ในขณะที่ชุดควบคุมมีระดับความรุนแรง 3.25–4.00 (Table 4.52) (Figure 4.48, 4.49)

Table 4.51 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 $\mu\text{g/ml}$ on durian fruits of *Lasiodiplodia* sp. on disease incidence (DI) after 7 days of incubation.

Isolate code	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Disease incidence (%) ^{1/}
Control	Non-pathogen	0
	pathogen	100
CH1_LF1	2000	100
	4000	100
	8000	75
	pathogen	100
CH1_LF2	2000	100
	4000	100
	8000	50

^{1/}Values are evaluated with 4 durian fruits.

Table 4.52 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian fruits of *Lasiodiplodia* sp. on disease severity index (DSI).

Concentrations (µg/ml)	CH1_LF1 ^{1/}			CH1_LF2 ^{1/}		
	3 days	5 days	7 days	3 days	5 days	7 days
Non-pathogen	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
Pathogen	2.50d	3.25c	4.00c	2.25c	3.75bc	3.25c
2000	1.75cd	2.25b	4.00c	1.75bc	4.00c	4.00c
4000	1.00bc	2.25b	3.50c	1.25b	2.75b	2.25b
8000	0.25ab	0.75a	1.00b	0.00a	0.50a	0.25a
F-test	**	**	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column code are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$

** = F-test significant at $p < 0.01$

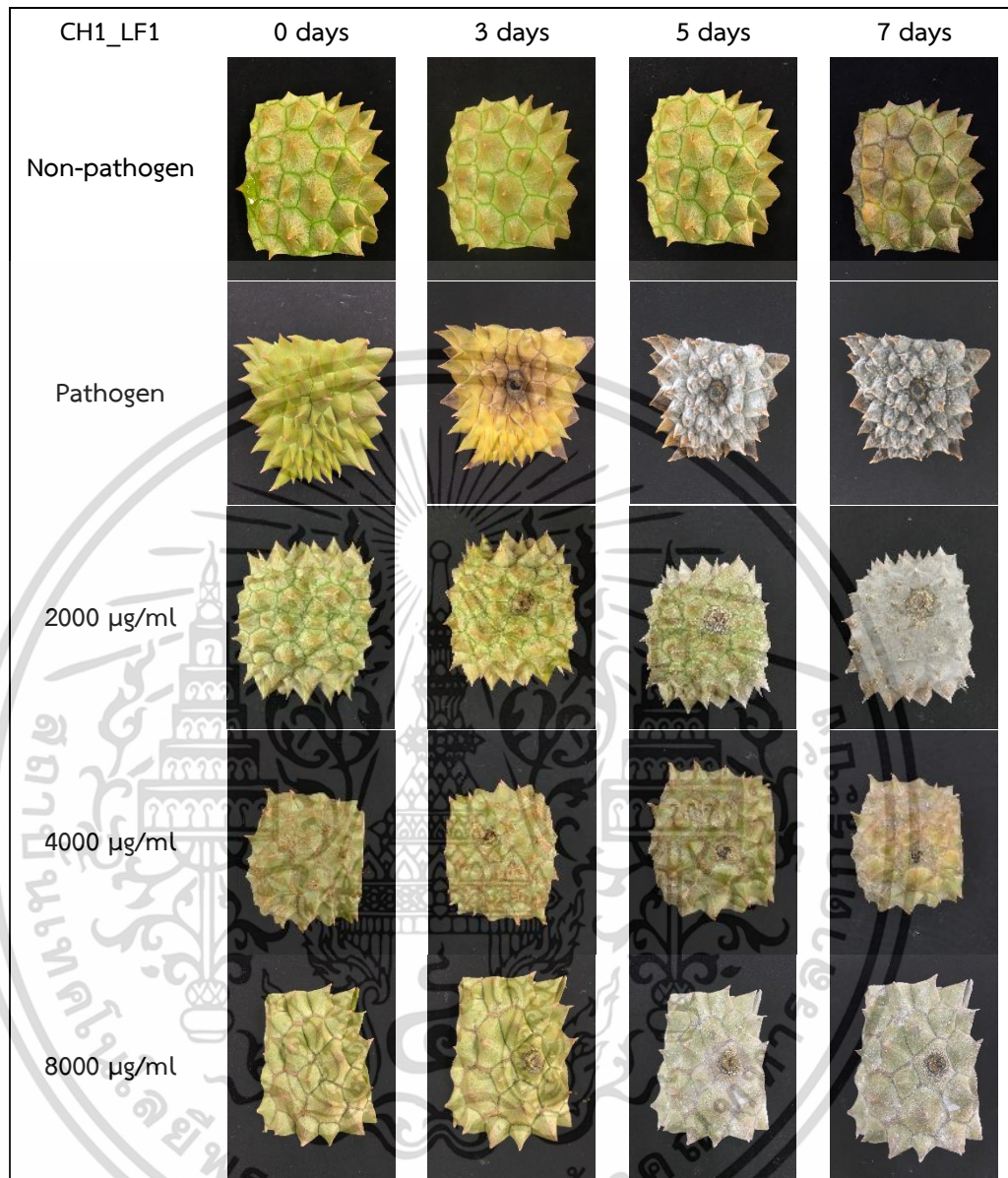


Figure 4.48 Symptoms on durian fruits after inoculation with CH1_LF1 of *Lasiodiplodia* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

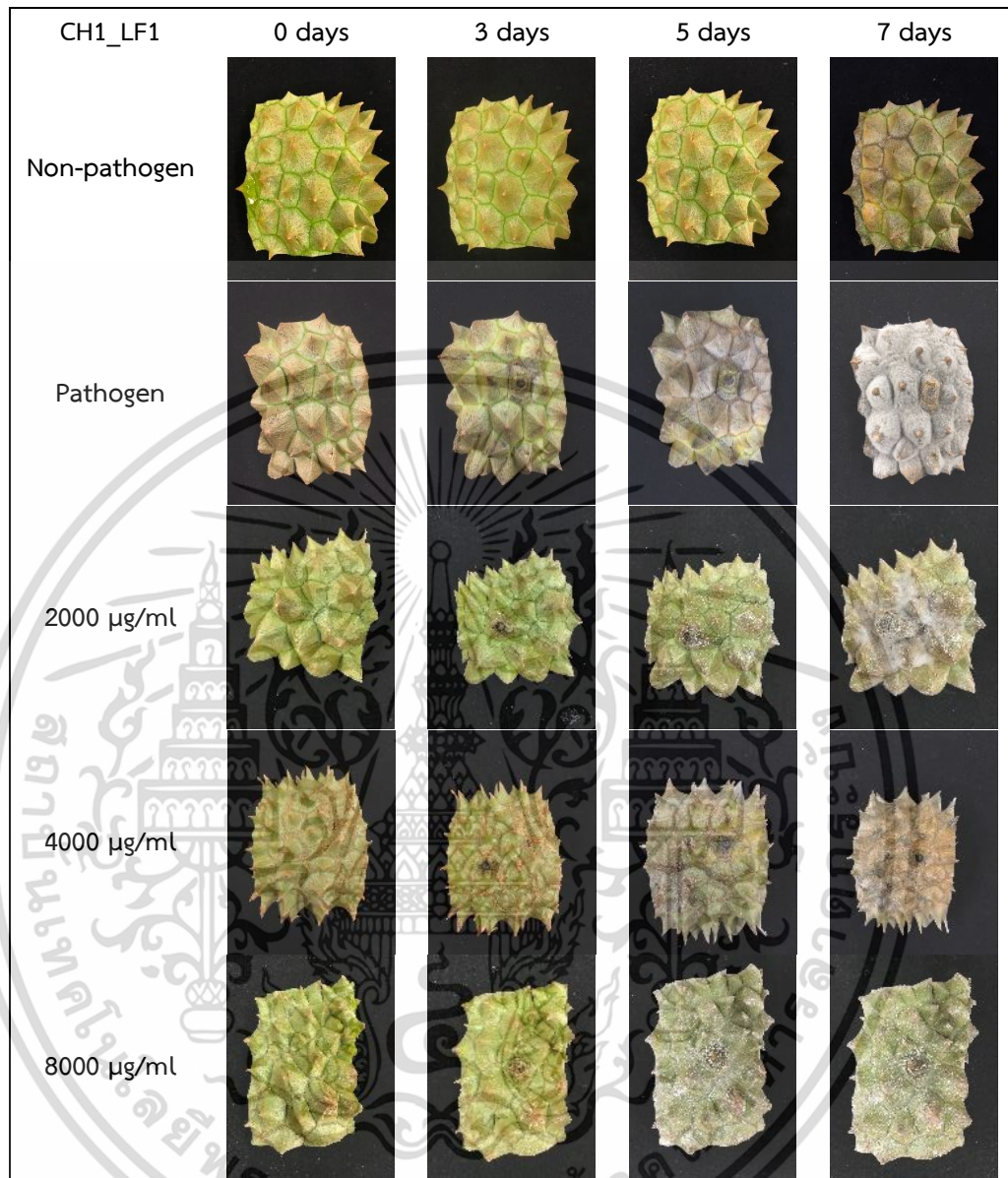


Figure 4.49 Symptoms on durian fruits after inoculation with CH1_LF2 of *Lasiodiplodia* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Phomopsis* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 µg/ml ฉีดพ่นหลังจากการปลูกเชื้อ *Phomopsis* sp. บนต้นกล้าทุเรียน ทุก ๆ 7 วัน เป็นจำนวน 3 ครั้ง พบว่าการฉีดพ่น ZnO NPs ไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ทุกไอโซเลท (Table 4.53) ทั้งนี้พบว่าการใช้ ZnO NPs มีแนวโน้มลดความรุนแรงของการเกิดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม กล่าวคือ ZnO NPs ความเข้มข้น 8000 µg/ml สามารถลดระดับความรุนแรงของเชื้อรา *Phomopsis* sp. ได้ โดยก่อให้เกิดโรคระดับความรุนแรง 1.00–1.25 ในขณะที่ชุดควบคุมมีระดับความรุนแรง 3.25–3.50 (Table 4.54) (Figure 4.50, 4.51)

Table 4.53 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian seedlings of *Phomopsis* sp. on disease incidence (DI) after 21 days of incubation.

Isolate code	Concentration (µg/ml)	Disease incidence (%) ^{1/}
Control	Non-pathogen	0
	pathogen	100
CH1_Pf1	2000	100
	4000	100
	8000	75
	pathogen	100
CH1_Pf2	2000	100
	4000	100
	8000	75
	pathogen	100

^{1/}Values are evaluated with 4 durian seedlings.

Table 4.54 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian seedlings of *Phomopsis* sp. on disease severity index (DSI).

Concentrations (µg/ml)	CH1_PF1 ^{1/}			CH1_PF2 ^{1/}		
	7 days	14 days	21 days	7 days	14 days	21 days
Non-pathogen	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
Pathogen	1.50a	2.00b	3.50b	0.75ab	2.25cd	3.25c
2000	1.50a	2.00b	3.25cd	1.75b	2.75d	3.00c
4000	1.50a	1.50ab	2.00bc	1.00ab	1.25bc	2.00bc
8000	0.50a	0.75ab	1.00ab	0.50a	0.50ab	1.25ab
F-test	**	*	**	**	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column code are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$

** = F-test significant at $p < 0.01$

* = F-test significant at $p > 0.01$



Figure 4.50 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CH1_PF1 of *Phomopsis* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

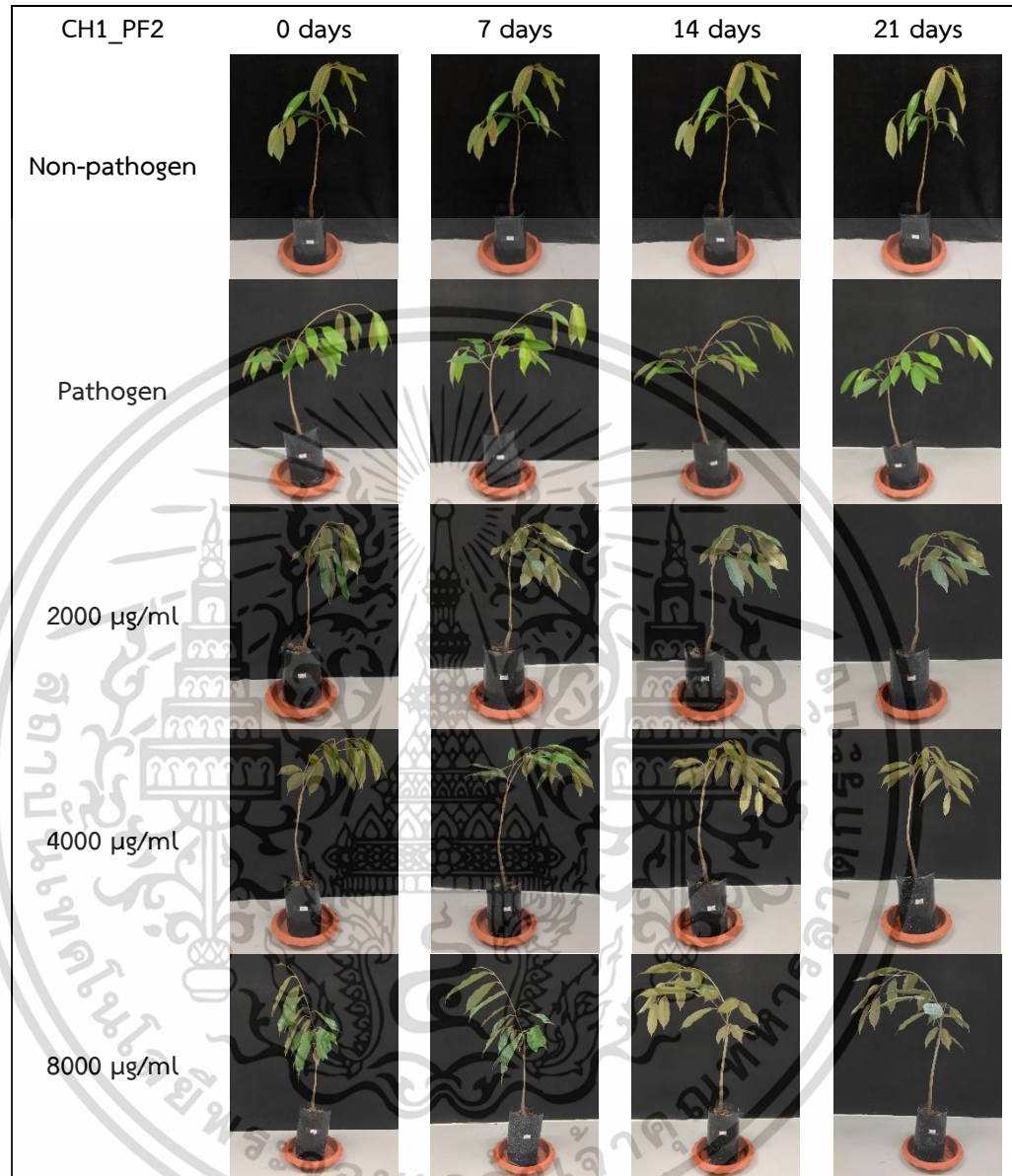


Figure 4.51 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CH1_PF2 of *Phomopsis* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Rhizoctonia* sp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 µg/ml ฉีดพ่นหลังจากการปลูกเชื้อ *Rhizoctonia* sp. บนต้นกล้าทุเรียน ทุก ๆ 7 วัน เป็นจำนวน 3 ครั้ง พบว่าการฉีดพ่น ZnO NPs ไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ทุกไอโซเลท (Table 4.55) ทั้งนี้พบว่าการใช้ ZnO NPs มีแนวโน้มลดความรุนแรงของการเกิดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม กล่าวคือ ZnO NPs ความเข้มข้น 8000 µg/ml สามารถลดระดับความรุนแรงของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ได้ โดยก่อให้เกิดโรคระดับความรุนแรง 0.75–1.25 ในขณะที่ชุดควบคุมมีระดับความรุนแรง 3.25 (Table 4.56) (Figure 4.52, 4.53)

Table 4.55 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 µg/ml on durian seedlings of *Rhizoctonia* sp. on disease incidence (DI) after 21 days of incubation.

Isolate code	Concentration (µg/ml)	Disease incidence (%) ^{1/}
Control	Non-pathogen	0
	pathogen	100
CL1_RL1	2000	100
	4000	100
	8000	50
	pathogen	100
CL1_RL2	2000	100
	4000	100
	8000	75
	pathogen	100

^{1/}Values are evaluated with 4 durian seedlings.

Table 4.56 Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles at 2000, 4000, and 8000 $\mu\text{g/ml}$ on durian seedlings of *Rhizoctonia* sp. on disease severity index (DSI).

Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)	CL1_RL1 ^{1/}			CL1_RL2 ^{1/}		
	7 days	14 days	21 days	7 days	14 days	21 days
Non-pathogen	0.00a	0.00a	0.00a	0.00	0.00a	0.00a
Pathogen	0.50ab	2.25c	3.25c	0.50	2.75b	3.25b
2000	1.00a	1.50bc	2.50bc	1.25	3.00b	3.50b
4000	0.00a	1.00abc	1.25ab	0.25	2.50b	3.00b
8000	0.00a	0.25ab	0.75a	0.25	0.75a	1.25a
F-test	*	**	**	ns	**	**

^{1/}Values expressed are means with 4 replications. The different letters in the same column code are significantly different as determined by the least significant difference test at $p < 0.01$

* = F-test significant at $p > 0.01$

** = F-test significant at $p < 0.01$

ns = not significant at $p > 0.01$

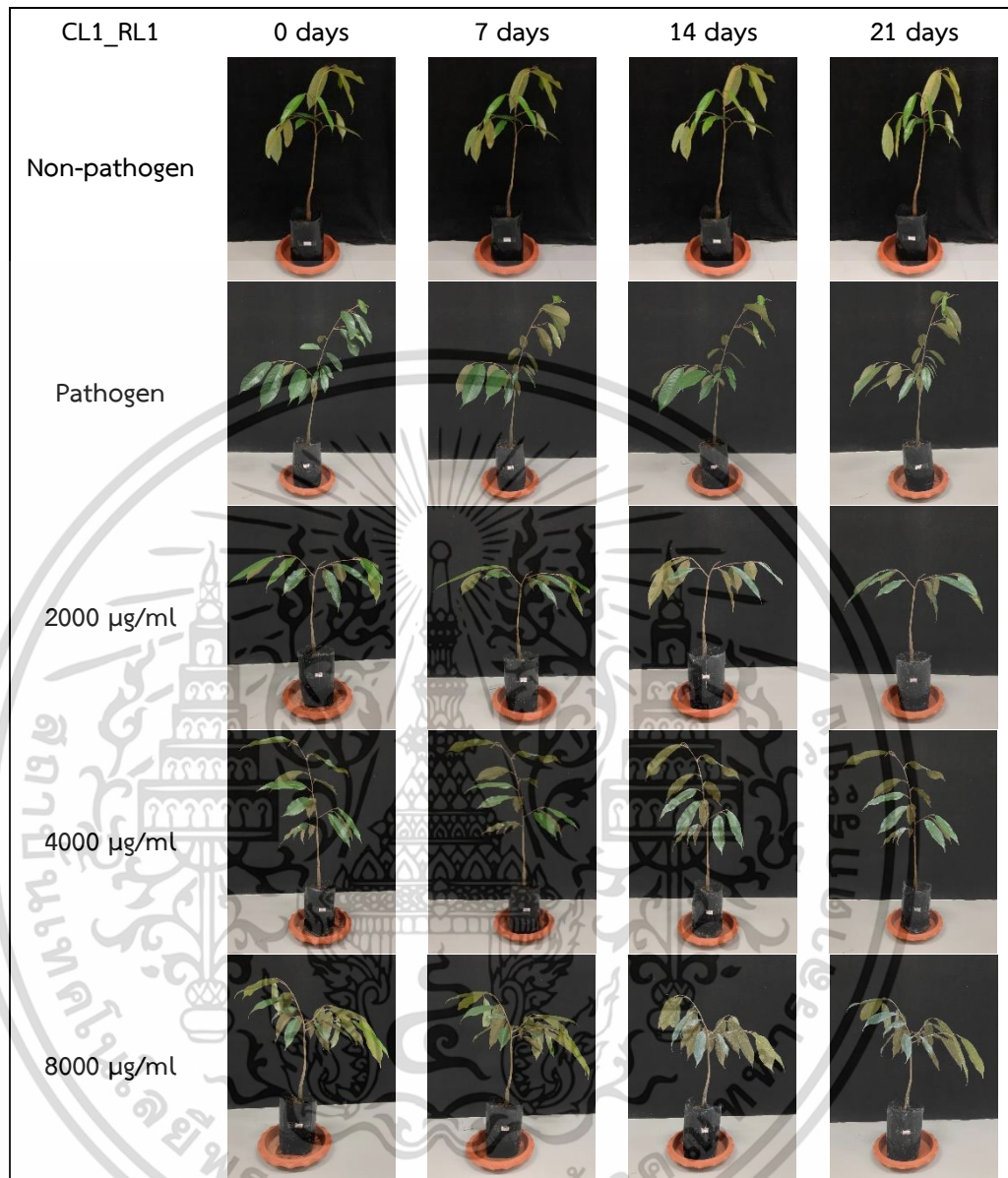


Figure 4.52 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL1_RL1 of *Rhizoctonia* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

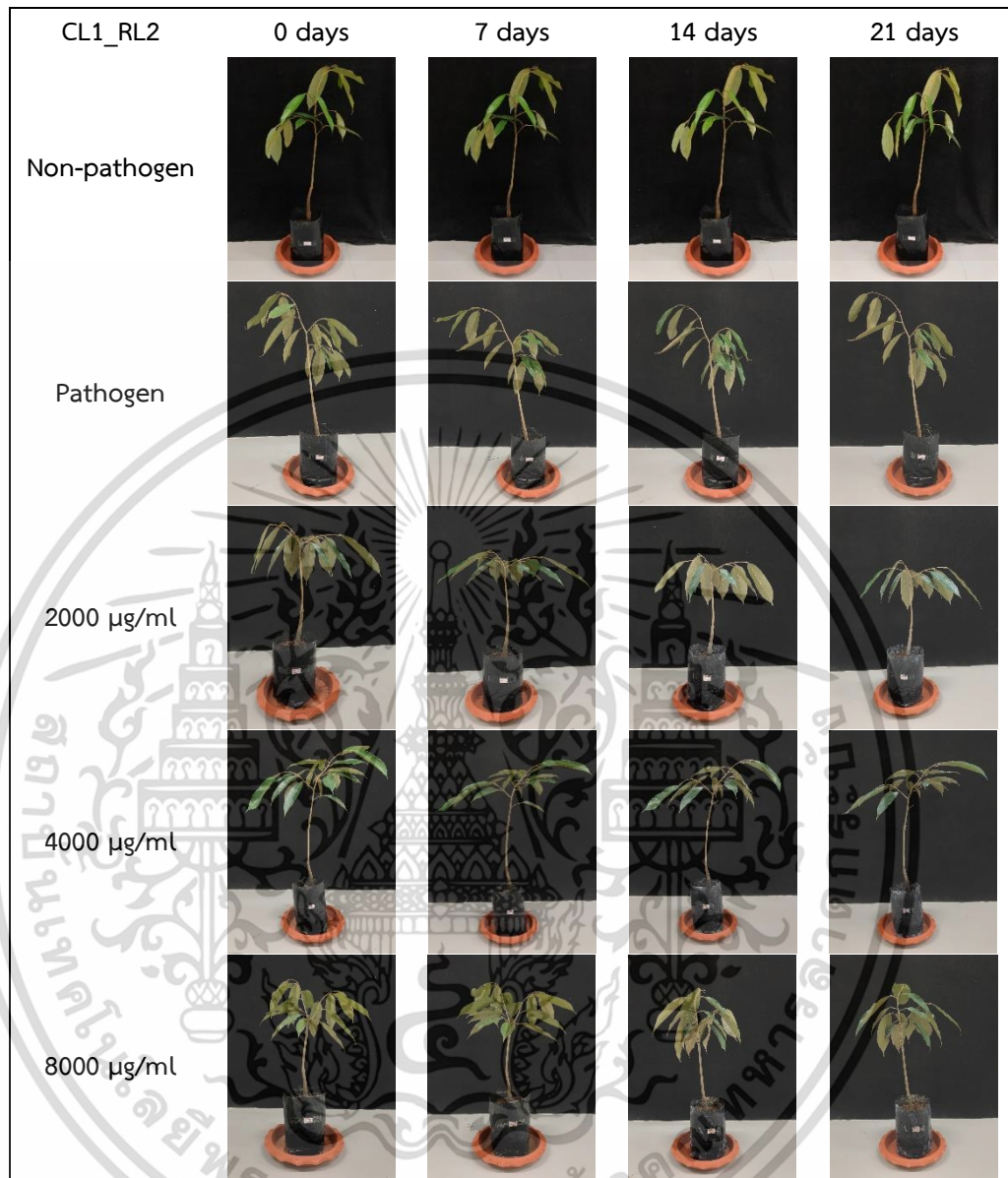


Figure 4.53 Symptoms on durian seedlings after inoculation with CL1_RL2 of *Rhizoctonia* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใย การสร้างสปอร์ และการงอกของสปอร์และเส้นใย *Rhizoctonia* sp. สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4.57

Table 4.57 Summary of the efficiency of zinc oxide nanoparticles on the growth of 5 fungal genera.

fungi	Zinc oxide nanoparticles		
	500 $\mu\text{g/ml}$	1000 $\mu\text{g/ml}$	2000 $\mu\text{g/ml}$
<i>Phytophthora palmivora</i> ^{1/}			
mycelial growth	×	×	×
sporulation	✓	✓	✓
spore germination	×	×	×
<i>Fusarium</i> sp. ^{2/}			
mycelial growth	×	×	✓
sporulation	✓	✓	✓
spore germination	×	×	×
<i>Lasiodiplodia</i> sp. ^{2/}			
mycelial growth	×	×	✓
sporulation	✓	✓	✓
spore germination	×	×	×
<i>Phomopsis</i> sp. ^{2/}			
mycelial growth	✓	✓	✓
sporulation	✓	✓	✓
spore germination	×	×	×
<i>Rhizoctonia</i> sp. ^{2/}			
mycelial growth	×	×	×
mycelial germination	×	×	×

✓ = ZnO NPs could inhibit on fungal growth at $\geq 70\%$

×

^{1/}Average from 3 isolates of each genus

^{2/}Average from 2 isolates of each genus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 µg/ml ต่อการติดเชื้อมต้นกล้าและผลทุเรียนสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4.58

Table 4.58 Summary of the efficiency of zinc oxide nanoparticles on infection of 5 fungal genera.

fungi	Zinc oxide nanoparticles		
	2000 µg/ml	4000 µg/ml	8000 µg/ml
<i>Phytophthora palmivora</i> on durian seedling ^{1/}	×	×	×
<i>Fusarium</i> sp. on durian seedling ^{2/}	×	×	✓
<i>Lasiodiplodia</i> sp. on durian fruits ^{2/}	×	×	✓
<i>Phomopsis</i> sp. on durian seedling ^{2/}	×	✓	✓
<i>Rhizoctonia</i> sp. on durian seedling ^{2/}	×	×	✓

✓ = disease severity index <2.00

×

^{1/}Average from 3 isolates of each genus

^{2/}Average from 2 isolates of each genus

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 เก็บรวบรวม แยก และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อราสาเหตุโรคทุเรียน 5 สกุล

เชื้อรา *P. palmivora*

จากการเก็บตัวอย่างทุเรียนที่เกิดโรคลำต้นเน่า ผลเน่าจากเชื้อรา *P. palmivora*. ทำการแยก โดยวิธี Tissue transplanting เพื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาสำหรับการจัดจำแนกเชื้อรา จากผลการทดลองสามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ได้จำนวน 3 ไอโซเลท (CL4_F1, CL4_S5 และ CL4_F10) ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ กำลังขยาย 400 เท่า พบลักษณะโคโลนีแบบ stellate pattern เป็นแฉกคล้ายรูปดาว และลักษณะแบบ rings คล้ายวงแหวนเรียงกันหลายชั้น มีการสร้าง sporangium แบบ limoniform, ovoid มี semi-papillate และ papillate ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Suksiri *et al.* (2018) ปัญจมา และสมศิริ (2545) ที่รายงานว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. palmivora* มีรูปร่างค่อนข้างผันแปร มีการสร้าง sporangium หลายรูปแบบ เช่น ovoid, ellipsoid, obpyriform, ovoid-obpyriform และมี papillate หรือ semi-papillate ซึ่งลักษณะดังกล่าวจัดจำแนกได้ว่าเป็น *P. palmivora* ตรงตามรายงานของ Drenth and Guest (2004) และ Xiao Yang (2014)

เชื้อรา *Fusarium sp.*

จากการเก็บตัวอย่างทุเรียนที่เกิดโรคกิ่งแห้งจากเชื้อรา *Fusarium sp.* ทำการแยกโดยวิธี Tissue transplanting เพื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาสำหรับการจัดจำแนกเชื้อรา จากผลการทดลองสามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ได้จำนวน 2 ไอโซเลท (CL6_FL1 และ CL6_FL2) พบโคโลนีสีขาวครีม ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าลักษณะเส้นใยมีการสร้าง conidia 2 รูปแบบ คือ macroconidia รูปร่างเรียวยาว มีผนังกัน 4-6 ชั้น และ microconidia รูปร่างทรงกระบอก ด้านปลายกลมมน มีผนังกัน 1 ชั้น สอดคล้องกับรายงานของ รัตยา และคณะ (2563) รายงานว่าพบการสร้างเส้นใยเชื้อราสีขาวครีม สีขาวอมเหลือง บางไอโซเลทเจริญเป็นวง พบสร้างสปอร์ macroconidia รูปร่างเรียวยาวถึงทรงกระบอก มีผนังกัน 4-6 ชั้น และ microconidia รูปร่างรูปไข่ อยู่รวมเป็นกลุ่ม และสอดคล้องกับ พรปวีณ์ และคณะ (2562) รายงานว่าพบโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium sp.* มีลักษณะสีขาวครีม สร้าง macroconidia มีลักษณะค่อนข้างสั้น โค้ง โดยมีผนังกัน 3-4 ชั้น ส่วน microconidia มีลักษณะคล้ายรูปไข่ หรือกระสวย อาจไม่มีผนังกันหรือมีผนังกัน 1 ชั้น

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp.

จากการเก็บตัวอย่างทุเรียนที่เกิดโรคผลเน่า จากเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. ทำการแยกโดยวิธี Tissue transplanting เพื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาสำหรับการจัดจำแนกเชื้อรา จากผลการทดลองสามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ได้จำนวน 2 ไอโซเลท (CH1_LF1 และ CH1_LF2) พบโคโลนีมีลักษณะฟู ในระยะแรกเส้นใยมีสีขาว เมื่อเส้นใยแก่เปลี่ยนเป็นสีเทา ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 พบเส้นใยสีเทาดำ มีผนังกัน สร้าง conidia รูปร่างค่อนข้างกลมหรือค่อนข้างรี มีผนังกัน 1 ชั้น สีน้ำตาลเข้ม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ สุทธิดา (2558) พบโคโลนีสีขาว ค่อนข้างฟู เมื่อโคโลนีแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเทาดำ conidia สร้างเม็ดสี สีน้ำตาลเข้ม และสร้างผนังกัน 1 ชั้นตรงกลาง

เชื้อรา *Phomopsis* sp.

จากการเก็บตัวอย่างทุเรียนที่เกิดโรคใบจุดจากเชื้อรา *Phomopsis* sp. ทำการแยกโดยวิธี Tissue transplanting เพื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาสำหรับการจัดจำแนกเชื้อรา จากผลการทดลองสามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ได้จำนวน 2 ไอโซเลท (CH1_PF1 และ CH1_PF2) พบโคโลนีลักษณะเส้นใยเจริญแบบราบไปบนผิวอาหาร ลักษณะเป็นแฉกหลาย ๆ แฉก ซ้อนทับกัน บริเวณรอบนอกจานอาหารเส้นใยมีสีขาวปนเทา ตรงกลางมีสีเหลือง สร้าง conidia 2 รูปแบบ ได้แก่ alpha conidia รูปร่างทรงรี และ beta conidia รูปร่างเรียวยาว สอดคล้องกับรายงานของ Vilka and Volkova (2015) พบโคโลนีลักษณะเส้นใยสีขาวอมเทา แบบราบ รูปร่างเป็นกลีบ หลังจาก 9 วัน โคโลนีแสดงถึงความแตกต่างของเม็ดสี บริเวณกึ่งกลางมีสีน้ำตาลเข้ม บริเวณขอบสีขาวอมเทา พบการสร้าง conidia 2 รูปแบบ คือ alpha conidia รูปร่างเป็นกระสวย ปลายแหลมหรือปลายมน และ beta conidia ลักษณะเรียวยาวตรงหรือโค้ง

เชื้อรา *Rhizoctonia* sp.

จากการเก็บตัวอย่างทุเรียนที่เกิดโรคใบติดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ทำการแยกโดยวิธี Tissue transplanting เพื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาสำหรับการจัดจำแนกเชื้อรา จากผลการทดลองสามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ได้จำนวน 2 ไอโซเลท (CL1_RL1 และ CL1_RL2) พบลักษณะโคโลนีเส้นใยเจริญแบบราบไปกับผิวอาหาร โดยในระยะแรกมีสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม หลังจาก 7 วัน สอดคล้องกับรายงานของ ณัฏฐิรา (2559) กล่าวว่าเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. สร้างเฉพาะเส้นใย เมื่อเส้นใยยังอ่อนไม่มีสี เมื่อเส้นใยแก่ขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแกมเหลือง มีผนังกันเซลล์เป็นระยะ เส้นใยหลักแตกแขนงเป็นมุมฉากและมุมแหลม โดยตำแหน่งที่แตกแขนงมักอยู่ใกล้ผนังกัน นอกจากนี้พบการสร้าง sclerotium เป็นทรงกลม ซึ่งเกิดขึ้นจากการพันตัวกันของเส้นใย เช่นเดียวกับ รวีวรรณ (2562) กล่าวว่าเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ไม่สร้าง asexual spore พบเส้นใยอัดรวมเป็นเม็ด sclerotia

5.2 การทดสอบความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity test)

เชื้อรา *P. palmivora*

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนต้นกล้าทุเรียน ด้วยการฉีดพ่น sporangium suspension เชื้อ *P. palmivora* ความเข้มข้น 1×10^5 sporangium/ml พบว่าทั้ง 3 ไอโซเลทก่อให้เกิดโรค หลังจากการฉีดพ่นเป็นเวลา 3-7 วัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Soyong (2010) ที่ได้ทำการฉีดพ่น sporangium suspension ความเข้มข้น 3×10^5 sporangium/ml ของเชื้อรา *P. palmivora* บนต้นทุเรียน เป็นเวลา 30 วัน พบการติดเชื้อบนใบ กิ่ง และผล ทั้งนี้ Tongon and Soyong (2022) รายงานว่าจากการฉีดพ่น sporangium suspension ความเข้มข้น 1×10^5 sporangium/ml ของเชื้อรา *P. palmivora* ก่อให้เกิดอาการรากเน่าและแห้งตายภายใน 15 วัน บนต้นกล้าทุเรียน

เชื้อรา *Fusarium* sp.

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนต้นกล้าทุเรียน ด้วยการฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อรา *Fusarium* sp. พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลท หลังจากการฉีดพ่น 7-21 วัน ก่อให้เกิดโรค มีลักษณะอาการใบเหี่ยวและหลุดร่วง เช่นเดียวกับ รัตติยาและคณะ (2563) รายงานว่าการปลูกเชื้อบนกิ่งทุเรียน ก่อให้เกิดอาการแผลสีน้ำตาลเข้ม โดยหลังจากการปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ใบของต้นทุเรียนเริ่มเปลี่ยนสีเหลืองและหลุดร่วง บริเวณกิ่งแสดงอาการแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Soleha et al. (2021) กล่าวว่า *F. oxysporum* ก่อให้เกิดโรคบนต้นกล้ากระถินเทพา พบอาการใบเหลือง ก้านเหี่ยวเฉา แห้งและร่วงหล่นจากต้นจนตายในที่สุด และสอดคล้องกับรายงานของ วราภรณ์ และคณะ (2560) ทำการก่อโรคของเชื้อรา *F. oxysporum* บนต้นมะเขือเทศ พบว่าพืชเริ่มแสดงอาการเหี่ยวหลังจากการปลูกเชื้อเวลา 10 วัน เมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน มีอาการรุนแรงมากขึ้นจนทำให้ต้นมะเขือเทศตาย

เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp.

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนผลทุเรียน โดยการปลูกเชื้อลงบนบาดแผลด้วยเส้นใย *Lasiodiplodia* sp. พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลท ก่อให้เกิดโรคหลังจาก 3 วัน บาดแผลบนผลทุเรียนมีสีน้ำตาล ขยายวงกว้างขึ้น มีเส้นใยปกคลุมลูกกลมอย่างรวดเร็ว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ รังสิมันต์ และคณะ (2564) กล่าวว่า การปลูกเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. กับผลทุเรียนหลังการเก็บเกี่ยว สามารถก่อให้เกิดแผลสีน้ำตาลถึงดำบนผลทุเรียนในระยะสุกแก่เต็มที่และพบเส้นใยสีเทาของเชื้อราขึ้นบริเวณแผล และสอดคล้องกับ สุวิตา และคณะ (2563) ทำการปลูกเชื้อบนผลมะม่วง พบว่ามะม่วงแสดงอาการแผลจุดสีน้ำตาลดำ หลังจากปลูกเชื้อ 24-48 ชั่วโมง เกิดแผลขนาดใหญ่ ขยายวงกว้างอย่างรวดเร็ว

เชื้อรา *Phomopsis* sp.

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนต้นกล้าทุเรียน ด้วยการฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อรา พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลท ก่อให้เกิดโรคหลังจากฉีดพ่นเป็นเวลา 7 วัน พบอาการเกิดขึ้นที่ใบ มี

แผลเป็นจุดขนาดเล็ก สีเหลือง รูปร่างค่อนข้างกลม สอดคล้องกับรายงานของ วีระณีย์ และสมศิริ (2559) ได้ทำการทดสอบบนใบทุเรียน บริเวณที่ปลูกเชื้อจะเกิดลักษณะจุดสีน้ำตาล ซึ่งต่อมาแผลขยายขนาดและแสดงเนื้อเยื่อแห้งตายบริเวณกลางแผลและปรากฏวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบ กระจายทั่วบนใบ และเช่นเดียวกับรายงานของ Thesiya et al. (2020) ทำการปลูกเชื้อบนมะเขือพวง พบรอยโรคลักษณะกลม ๆ สีเหลือง ล้อมรอบด้วยวงแหวนสีน้ำตาลหลังจากการปลูกเชื้อ 6 วัน และพบว่าผลเน่าเปื่อยในเวลา 15 วัน

เชื้อรา *Rhizoctonia* sp.

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนต้นกล้าทุเรียน ด้วยการฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อรา พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลทก่อให้เกิดโรคเมื่อฉีดพ่นเป็นเวลา 7 วัน โดยในระยะแรกใบทุเรียนมีแผลฉ่ำน้ำ รูปร่างไม่แน่นอน หลังจากใบแก่บาดแผลที่ฉ่ำน้ำจะแห้งเป็นสีน้ำตาล ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ กัญญารัตน์ และคณะ (2563) รายงานว่าก่อให้เกิดโรคบนต้นข้าว โดยในช่วงแรกแผลที่ปรากฏบนต้นข้าวเป็นแถบสีเขียวอมเทา มีลักษณะฉ่ำน้ำ เมื่อใบแก่ขึ้นตรงกลางแผลแห้ง ขอบแผลเป็นสีน้ำตาล

5.3 ประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อเชื้อรา 5 สกุล

ประสิทธิภาพของ ZnO NPs ในการควบคุมเชื้อรา 5 สกุล (*P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia* sp., *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia* sp.) ที่ได้จากการแยกและรวบรวม พบว่าเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเชื้อราลดลงตามอัตราความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่เพิ่มขึ้น คือ 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ เนื่องจากรายงานก่อนหน้านี้พบว่า ZnO NPs มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพอันเนื่องมาจากการเพิ่มพื้นผิวที่จำเพาะจงจากการลดขนาดของอนุภาคลงนำไปสู่การเพิ่มปฏิกิริยาที่ผิวของอนุภาค ZnO (ฉัตร, 2560) สอดคล้องกับรายงานของ Ramy and Osama (2013) ศึกษา ZnO NPs ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยใน *F. oxysporum* อยู่ในช่วง 19.3–77.5% ตามความเข้มข้นของ ZnO NPs เพิ่มขึ้นจาก 2–12 mg/l^{-1} เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Ritmontree and Kongtragoul (2021) ที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ ZnO NPs ต่อเชื้อรา *P. palmivora* พบว่าความเข้มข้นที่ 2000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยได้ 56.64-53.58% และสอดคล้องกับงานวิจัยของ เบญจวรรณ และคณะ (2559) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของ ZnO NPs ต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคใบร่วงของยางพารา ที่ระดับความเข้มข้น 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยเชื้อราได้ที่ 83.80% และ 90.09% ตามลำดับ เนื่องจากโครงสร้างภายนอกเซลล์ของเชื้อรามีการเปลี่ยนแปลง ผนังเซลล์เกิดความเสียหาย ทำให้เส้นใยและ sporangium มีรูปร่างผิดปกติ (Khan and Siddiqui, 2018) นอกจากนี้ สอดคล้องกับรายงานของ Guerrero et al. (2020) กล่าวว่า ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 ppm ส่งผลให้

เส้นใยเชื้อรา *R. solani*, *S. rolfsii* และ *F. oxysporum* มีความผิดปกติ เกิดการหดตัวเสียรูปทรงอย่างเห็นได้ชัด ทั้งนี้ยังพบว่าสปอร์ของเชื้อรา *S. rolfsii* และ *F. oxysporum* ถูกทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโต ดังรายงานของ Sawai and Yoshikawa (2004); Brayner et al. (2006) กล่าวว่า ZnO NPs ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดการรั่วไหลของไซโทพลาสซึมและในที่สุดทำให้เซลล์ตาย

ประสิทธิภาพของ ZnO NPs ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อการฉีดพ่นบนต้นกล้า หลักจากการปลูกเชื้อ *P. palmivora*, *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia* sp. และกลุ่มผลทุเรียนหลังจากการปลูกเชื้อ *Lasiodiplodia* sp., พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่มีแนวโน้มลดความรุนแรงได้ สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่าการฉีดพ่น ZnO NPs ที่ 0.1 mg/ml บนต้นถั่วเลนทิลสามารถลดอาการเหี่ยวและลดความรุนแรงของโรคใบจุดจากการปลูกเชื้อรา *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (Siddiqui et al, 2018) ทั้งนี้ Al-tememe et al. (2019) รายงานว่า ZnO NPs มีการยับยั้งเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่เพิ่มขึ้น พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 10 mg/l มีผลต่อการยับยั้ง เชื้อรา *Sclerotium sclerotiorum* และรักษาผลเน่าเปื่อยมะเขือยาวได้ดีที่สุด นอกจากนี้มีรายงานที่ ZnO NPs สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ด้วย (Navale et al, 2015)

บทที่ 6

สรุปการทดลอง

จากการเก็บรวบรวม แยก และจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา 5 สกุล ได้แก่ เชื้อรา *P. palmivora* (CL4_F1, CL4_S5, CL4_F10), เชื้อรา *Fusarium* sp. (CL6_FL1, CL6_FL2), เชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. (CH1_LF1 และ CH1_LF2), เชื้อรา *Phomopsis* sp. (CH1_PF1, CH1_PF2) และ เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. (CL1_RL1, CL1_RL2) ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคพบว่าทุกสกุล ก่อให้เกิดโรคบนทุเรียน 100% ทั้งนี้ ZnO NPs สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อราทั้ง 5 สกุลเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ZnO NPs ระดับความเข้มข้น 2000 µg/ml สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อราได้ทั้ง 5 สกุล และความเข้มข้น 500, 1000 µg/ml สามารถยับยั้งเชื้อรา *Phomopsis* sp. อีกทั้ง ZnO NPs ระดับความเข้มข้น 1000–2000 µg/ml สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา 4 สกุล ได้ 100% และระดับความเข้มข้น 500 µg/ml สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 88.24–100% และสามารถลดการติดเชื้อบนต้นกล้าและผลทุเรียนได้ โดยมีระดับความรุนแรงของโรคลดลงตามความเข้มข้นของ ZnO NPs ที่เพิ่มขึ้น

บรรณานุกรม

- กัญญารัตน์ สมเพ็ชร, พัชรวิภา ใจจักรคำ และ อรุณา เพ็ชร์ชัย. 2020. “การจัดจำแนกชนิดและการใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia* species สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว.” *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*. 51(2): 122-138.
- ฉัตร ผลนาถ. 2560. “อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับการต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค.” *วารสารฟิลิกส์*. 4(3-4): 37-47.
- ชลิตา เล็กสมบูรณ์. 2554. *โรคพืชและการวินิจฉัย*. กรุงเทพฯ : ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน
- ณัฏฐิรา สมารักษ์. 2559. “การพัฒนาพืชสมุนไพรท้องถิ่นในจังหวัดจันทบุรีเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญในพืช.” 68 หน้า. *รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์*. จันทบุรี : คณะวิทยาศาสตร์และศิลปะศาสตร์. มหาวิทยาลัยบูรพาวิทยาเขตจันทบุรี
- ทวี เก่าศิริ. 2554. *Phytophthora* ราชศัตรูพืชที่สำคัญ. [ระบบออนไลน์].
แหล่งข้อมูล : <https://www.thaigreenagro.com/phytophthora-ราชศัตรูพืชที่สำคัญ/>.
(8 สิงหาคม 2564)
- นิตาสล เทศศรี และ การะเกด เทศศรี. 2559. “ฤทธิ์การต้านเชื้อราก่อโรคพืชของนาโนซิงค์ออกไซด์.” *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 3*. ฉบับพิเศษ (III): M09/7-14.
- บุษบา ช่อนอยู่. 2562. *ธาตุซิงค์ในงานเกษตร*. [ระบบออนไลน์].
แหล่งข้อมูล : <https://www.svgroup.co.th/blog/ธาตุซิงค์ในงานเกษตร> (11 มีนาคม 2565)
- เบญจวรรณ เลหาสกุล, วสันต์ เพชรรัตน์ และ ปฎิมาพร ปลอดภัย. 2559. “ฤทธิ์ต้านเชื้อของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ต่อเชื้อสาเหตุโรคใบร่วงของยางพารา.” *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 3*. ฉบับพิเศษ (I): M09/53-58.
- ปัญจมา กวางดี๊ด และ สมศิริ แสงโชติ. 2545. “การจัดการโรคผลเน่าของทุเรียน (*Durio zibethinus* Murr.) ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butler.) Butl.” *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*. 33(6): 45-48.
- ปรีชา พุทธิปรีชาพงศ์. 2552. *สารกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย*. สำนักพิมพ์การ์นต์ โพลีเทรค, กรุงเทพฯ. 142 หน้า
- พรปวีณ์ ธิวัฒน์วรานิกุล, ภาณุวัฒน์ มูลจันทร์, วรรณวิไล อินทนู และ จินตนา อันอาดมิ่งงาม. 2019. “การจัดจำแนกชนิดและทดสอบการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคหัวและลำต้นเน่ามันสำปะหลัง.” *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*. 37(2): 239-249.

- รวีวรรณ เต็มขั้นมณี. 2562. “ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย น้ำส้มควันไม้ และเชื้อเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซาควบคุมโรคกล้าเน่าในพีช.” 69 หน้า. พระนครศรีอยุธยา : คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.
- รังสิมันต์ ธีระวงศ์ภิญโญ, สมศิริ แสงโชติ และ ปัฐวิภา สงกุมาร. 2564. เชื้อรา *Lasiodiplodia species* สาเหตุโรคผลเน่าทุเรียนในประเทศไทย. [ระบบออนไลน์].
แหล่งข้อมูล : <https://www.phtnet.org/wp-content/2021/09/Postharvest>
(16 ตุลาคม 2565)
- รัตนะ ยศเมธากุล และ ญัฐพงษ์ สิงห์ภูงา. 2561. “การใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ในการควบคุมโรคใบร่วงไฟทอปโทราของยางพาราชำถุงสายพันธุ์ RRIM600.” รายงานผลการวิจัยสาขาวิชาชีววิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์
- รัตติยา พงศ์พิสุธา, ชัยณรงค์ รัตนกริธากุล, สันธิติ บินคาเดอ์, กนกพร ฉัตรไชยศิริ และ พัชรี บุญเรืองรอด. 2563. “การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุของโรคกิ่งแห้งของทุเรียน.” วารสารแก่นเกษตร. 48(4): 703-714.
- รุ่งทิพย์ สันข์เผือก. 2557. “การศึกษาชนิดเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสมันสำปะหลัง”. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 127 หน้า.
- วารารณณ์ บุญเกิด, จีรพันธ์ ไหมยมสูงเนิน และ ญัฐภรณ์ เดชบุรีรัมย์. 2560. “การควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสภาพเรือนทดลอง”. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55. กรุงเทพฯ. 258-265 หน้า.
- วีระณีย์ ทองศรี และ สมศิริ แสงโชติ. 2559. “การเข้าทำลายแฝงของเชื้อรา *Phomopsis* sp. สาเหตุโรคใบจุดของทุเรียน (*Durio zibethinus* Murr.) พันธุ์หมอนทอง.” วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 34(1): 59-67.
- สุทธิสา ดัชชัย. 2558. “การระบุเชื้อราสาเหตุโรคต้นและรากเน่าดำของมันสำปะหลัง”. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สุปราณี พิสมัย. 2558. “ผลของสารนาโนซิงค์ออกไซด์ในการยับยั้งเชื้อราแป้งของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้.” รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.
- สุวิตา แสไพศาล, ศุภสิริ เชวงเผ่าพันธุ์ และ ขนรินทร์ ฟ้าแลบ. 2563. “การระบุชนิดเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของมะม่วงเขียวเสวยในพื้นที่การผลิตจังหวัดเลยเพื่อการส่งออก”. วารสารแก่นเกษตร. 48(6): 1360-1373.
- สำนักงานควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2559. เตือนเกษตรกรและผู้ส่งออกระวังโรคผลเน่าในทุเรียนจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae*. [ระบบออนไลน์].

- แหล่งข้อมูล: <http://www.natethip.com/news.php?id=2344>. (8 สิงหาคม 2564)
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2562. “การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชในทุเรียนที่ถูกต้องและเหมาะสม.” หน้า 41-46. เอกสารวิชาการประจำปีงบประมาณ 2562. กรมวิชาการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. สถานการณ์การผลิตทุเรียน ปี 2562. สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์การค้า. [ระบบออนไลน์].
แหล่งข้อมูล: http://www.tpsoc.moc.go.th/sites/default/files/thueriyn_240863.pdf (25 กรกฎาคม 2564)
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. “สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้มปี 2564.” สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. [ระบบออนไลน์].
แหล่งข้อมูล <http://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/journal/2564/trend2564.pdf>. (6 พฤษภาคม 2564).
- สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2564. [ระบบออนไลน์].
แหล่งข้อมูล: <http://www.oae.go.th/assets/portals/1/trend2563>. (25 กุมภาพันธ์ 2565)
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 2554. “กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.” [ระบบออนไลน์].
แหล่งข้อมูล <http://www.doa.go.th/share/attachment.php?aid=2968> (9 มีนาคม 2565)
- Al-tememe, M. Z., Abdalmoohsin, G. R., Mohammadali, T. M., Al-mosawy, M. M. and Al-masoudi, M. Z. 2019. “Molecular Diagnosis of the Fungus *Sclerotinia sclerotiorum*: A Causal Agent of White Rot Disease in *Solanum melongena* L. and its Control using zinc oxide Nanoparticles.” **Biopesticides International**. 5(1): 1-6.
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th Edition. **The American Phytopathological Society**.
- Barnette, H. L., and Hunter, B. B. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. New York: **Macmillan Publishing Company**.
- Brayner R, Ferrari-Iliou R, Brivois N, Djediat S, Benedetti MF, Fievet F. 2006. Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. **Nano Lett**. 6: 866-870
- Desgreniers, S. 1998. “High-density phases of ZnO: Structural and compressive parameters.” **Physical Review B**. 58(21): 14102-14105.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Drenth, A., and Guest, D. I. 2004. "Diversity and management of *Phytophthora* in Southeast Asia." **Australian Centre for International Agricultural Research**. 114: 238.
- Erwin, D.C. and Ribeiro, O.K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. St. Paul, Minnesota: **The American Phytopathological Society**.
- Ferguson, A.J. and Jeffers, S.N. 1999. "Detecting multiple species of *Phytophthora* in container mixes from ornamental crop nurseries." **Plant Disease**. 83(12): 1129-1136.
- Ferrucho, R. L., Cifuentes, J. M., Ceresini, P. and García-Domínguez, C. 2012. "*Rhizoctonia solani* AG-3PT is the major pathogen associated with potato stem canker and black scurf in Colombia." **Colombia Bogotá, Colombia**. 30(2): 204-213
- Guerrero, J. J. G., Songkumarn, P., Dalisay, T. U., Pangga, I. B., and Organo, N. D. 2020. "Toxicity of CuO and ZnO nanoparticles and their bulk counterparts on selected soil-borne fungi." **Agriculture and Natural Resources**. 54(3): 325-332.
- Ho, w.c. and Ko, W.H. 1997. "A simple method for obtaining single-spore isolates of fungi." **Botanical Bulletin of Academia Sinica**. 38: 41-44.
- Jeffers, S.N. and Martin, S. 1986. "Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species." **Plant Disease**. 70: 1038-1043.
- Khan, M., & Siddiqui, Z. A. (2018). Zinc oxide nanoparticles for the management of *Ralstonia solanacearum*, *Phomopsis vexans* and *Meloidogyne incognita* incited disease complex of eggplant. **Indian Phytopathology**. 71(3): 355-364.
- Khanzada, M. A., Lodhi, A. M. and Shahzad, S. 2005. "Pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Fusarium solani* on mango decline in Sindh." **Pakistan Journal of Biological Sciences**. 37: 1023-1030.
- Link, H. F. 1908. "Observationes in ordines plantarum naturales." Dissertatio I. **Magazin der Gesellschaft Naturforschenden Freunde Berlin**. Vol 3: 3-42.
- Masudulla, K. and Zaki A. Siddiqui. 2018. "Zinc oxide nanoparticles for the management of *Ralstonia solanacearum*, *Phomopsis vexans*, and *Meloidogyne incognita* incited disease complex of eggplant." **Indian Phytopathology**. 71: 355-364
- Mohamed, A., Sundram, S. and Ramachandran. V. "Pathogenicity of Malaysian *Phytophthora palmivora* on cocoa, durian, rubber and oil palm determines the threat of bud rot disease." **Plant pathology**. 69(8): 1426-1436.

- Mohd Yusof, H., Mohamad, R., Zaidan, U. H., & Rahman, A. 2019. Microbial synthesis of zinc oxide nanoparticles and their potential application as an antimicrobial agent and a feed supplement in animal industry: a review. **Journal of animal science and biotechnology**. 10(1): 1-22.
- Munirah M., Azmi A., Yong S., and Izzati, N. A. 2017. Characterization of *Lasiodiplodia theobromae* and *L. pseudotheobromae* causing fruit rot on pre-harvest mango in Malaysia. **Journal of Plant Pathology & Quarantine**. 7(2): 202-213 (2017)
- Navale, R. G., Thripuranthaka, M., Dattatray, J. L., and Sandip, S. S. 2015. “Antimicrobial Activity of ZnO Nanoparticles against Pathogenic Bacteria and Fungi.” **SciMed central**. 3(1): 1033.
- Piasai, R., Chalmers, P., Piasai, O., and Khewkhom, N. 2021. “Postharvest fungicide dips to control fruit rot of ‘Monthong’ durian (*Durio zibethinus*).” **European Journal of Plant Pathology**. 160: 325–336.
- Ramy, S. Y., and Osama, F. A. 2013. “In vitro study of the antifungal efficacy of zinc oxide nanoparticles against *Fusarium oxysporum* and *Penicillium expansum*.” **African Journal of Microbiology Research**. 7(19): 1917-1923.
- Rehab, M.E.A., Rashed, M. F., Ammar, M. I. and EL-Morsy, S. A. 2014. “Dieback and Sooty Canker of Ficus Trees in Egypt and its Control.” **Pakistan Journal of Biological Sciences**. 17(3): 364-371
- Ritmontree, S. and Kongtragoula, P. 2021. “Antifungal effect of zinc oxide nanoparticles against disease in durian caused by *Phytophthora palmivora*.” 423-429. In Proc. III Asian Horticultural Congress. Agricultural of Technology, King Mongkut’s Institute of Technology Ladkrabang Prince of Chumphon Campus.
- Sarker, S. R., McComb, J., Burgess, T. I., Hardy, and Giles E. St. J. 2020. “Antimicrobials in *Phytophthora* isolation media and the growth of *Phytophthora* species.” **Plant pathology**. 69(8): 1426-1436.
- Sawai J, Yoshikawa T 2004. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO, and ZnO) by an indirect conductimetric assay. **Journal of Applied Microbiology**. 96: 803-809.
- Siddiqui, Z. A., Khan, A., Khan, M. R. and Abd-Allah, E. 2018. “Effects of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) and some Plant Pathogens on the Growth and Nodulation
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- of Lentil (*Lens culinaris* Medik.).” **Phytopathologica et Entomologica Hungarica**. 53(2): 195–212
- Soleha, S., Muslim, A., Suwandi, S., Kadir, S., and Pratama, R. 2022. “The identification and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* causing acacia seedling wilt disease.” **Journal of Forestry Research**. 33(2): 711-719.
- Soytong, K. 2010. “Evaluation of Chaetomium - Biological Fungicide to Control *Phytophthora* Stem and Root Rot of Durian.” **Research Journal**. 3: 117-124.
- Suksiri, S., Laipasu, P., Soytong, K. and Poeaim, S. 2018. “Isolation and Identification of *Phytophthora* sp. and *Pythium* sp. from Durian Orchard in Chumphon Province, Thailand.” **International Journal of Agricultural Technology**. 14(3): 389-402.
- Thesiya, M. R., Rakholiya, K. B., and Lokesh, R. 2020. “Isolation, Cultural and Morphological Characterization of *Phomopsis vexans* (Sacc. and Syd.) Harter, causing Stem Blight and Fruit Rot of Brinjal” . **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. 9(7): 2851-2859.
- Tongon, R. and Soytong, K. 2022. “Nanoparticles Derived from Active Metabolites of *Chaetomium cupreum* CC3003 against *Phytophthora* Rot of Durian.” **International Journal of Agricultural Technology**. 1814–9596.
- Vilka, L., and Volkova, J. 2015. Morphological diversity of *Phomopsis vaccinii* isolates from cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) in Latvia. *Proc. Latvian University of Agriculture Authenticated*. 33: 8-18.
- Webster, J. and Weber, W. S. 2007. *Introduction to Fungi*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Xiao, Y. 2015. *New species and phylogeny of the genus Phytophthora*. Doctoral dissertation. Virginia Tech.

ประวัติผู้เขียน



ชื่อ-สกุล นางสาวศันศนีย์ พันธะคาร
วัน/เดือน/ปี เกิด 7 พฤษภาคม 2542
ที่อยู่อาศัย บ้านเลขที่ 25 หมู่ 10 ตำบลวิสัยเหนือ อำเภอเมือง จังหวัดชุมพร 86100
ประวัติการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์
จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้