



ผลของแผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ต่อการเจริญเติบโตของ

เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคทุเรียน

Effect of copper nanoparticle sheets on the growth of
Colletotrichum spp. causing durian disease

ณัฐพร ถิ่นวงศ์ยอด

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
(เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช)

ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษ

ผลของแผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ต่อการเจริญของ

เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรครุเรียน

Effect of copper nanoparticle sheets on the growth of *Colletotrichum*
spp. causing durian disease

ณัฐพร ถิ่นวงศ์ยอด

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
(เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช)

ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เห็นชอบ/รับรอง

P. Kongtragoul

(รศ.ดร. พรประพา คงตระกูล)

อาจารย์ที่ปรึกษา

โครงการพิเศษนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรื่อง/หัวข้อโครงการพิเศษ	: ผลของแผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ต่อการเจริญเติบโต ของเชื้อรา <i>Colletotrichum</i> spp. สาเหตุโรครุเรียน
ผู้เขียน	: นายณัฐพร ถิ่นวงศ์ยอด
ปริญญา	: วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการจัดการผลิตพืช)
ภาควิชา	: เทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษา	: รศ.ดร.พรประพา คงตระกูล

บทคัดย่อ

ทุเรียนเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ปัญหาด้านโรคส่งผลกระทบต่อผลผลิต ทุเรียน งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคใบไหม้เป็นวงของทุเรียนจากแปลงปลูกในพื้นที่ จังหวัดชุมพร เพื่อทำการ แยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี tissue transplanting และศึกษาลักษณะทาง สัณฐานวิทยา ได้เชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 6 ไอโซเลท นำไปทดสอบการยับยั้งการ เจริญเติบโตด้วยแผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ขนาด 100 นาโนเมตรขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร จำนวน 2 ไอโซเลท ที่ระดับความเข้มข้น 8.5, 17, 26, 34 และ 43 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ด้วย วิธี dual วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ พบว่ารัศมี ของเส้นใยทั้ง 2 ไอโซเลท ในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไอโซ เลท CL5_L12 มีรัศมี ของเส้นใย มีค่า 36.11 – 34.96 และ CL2_L15 มีค่า 39.12 - 37.60 พบความผิดปกติของเส้นใยที่เจริญ บนแผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ และทดสอบแผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ที่ระดับความเข้มข้น 51, 59, 68, 78 และ 85 ppm ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 4 ไอโซเลท อย่างไรก็ตามพบว่า แผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ทุกระดับความเข้มข้นมีผลต่อการยับยั้งการงอกของ สปอร์

คำสำคัญ : โรครุเรียน; การควบคุมโรคพืช; อนุภาคนาโนคอปเปอร์; *Colletotrichum* spp.

Title : Effect of copper nanoparticle sheets on the growth
of *Colletotrichum* spp. causing durian disease

Author : Mr. Nataporn Thinwongyod

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

Program : Management Technology for Plant Production

Department : Agricultural Technology

Advisor : Asst. Dr. Pornprapa Kongtragoul

Abstract

Anthracnose disease affects durian production in Thailand. In this research, durian anthracnose samples were collected from plantations in Chumphon Province. The pathogenic fungi were isolated by tissue transplanting method and morphological study. Two isolates of *Colletotrichum* spp. were obtained and tested for growth inhibition with 5 mm. diameter of copper nanoparticle sheets at concentrations of 8.5, 17, 26, 34, and 43 ppm compared with the control by a dual method. Completely Randomized Design (CRD) experiments were studied with 4 replicates. It was found that the mycelial radius of both isolates in all treatments were not statistically different. CL5_L12 isolate had a mycelial radius of 34.73 - 38.16 mm. CL2_L15 were 35.60 - 39.12 mm. However, it was found that the copper nanoparticle sheets at all concentrations had an effect on spore germination inhibition.

Keywords: durian disease; plant disease control; copper nanoparticles; *Colletotrichum* spp.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษในครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดีขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.พรประพา คงตระกูล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่สละเวลา แรงกาย แรงใจ แนะนำให้คำปรึกษาและแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น ในระหว่างการทำโครงการพิเศษ ชี้แนะถึงข้อบกพร่องในการจัดทำโครงการพิเศษ ขอขอบพระคุณ อาจารย์ประจำหลักสูตรเทคโนโลยีการจัดการผลิตพืชที่ให้ความช่วยเหลือมาตลอดและคำแนะนำ อบรม สั่งสอนข้าพเจ้ามาโดยตลอด ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ หลักสูตรเทคโนโลยีการจัดการผลิตพืชทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือเป็นกำลังใจทำให้โครงการพิเศษนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา บุคคลในครอบครัว ที่คอยสนับสนุนทั้งกำลังใจ และกำลังใจในการศึกษาและทำโครงการพิเศษจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ณัฐพร ถิ่นวงศ์ยอด

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูปภาพ	ช
บทที่1 บทนำ	1
1.1. ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2. วัตถุประสงค์	1
บทที่2 ตรวจสอบเอกสาร	2
2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจ	2
2.2 เชื้อรา <i>Colletotrichum spp.</i>	2
2.3 โรคของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i>	4
2.4 อนุภาคนาโนทองแดง (Copper nanoparticles, CuNPs)	4
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่3 อุปกรณ์และวิธีการ	8
3.1 เก็บรวบรวมและแยกเชื้อราจากตัวอย่างทุเรียนที่แสดงเชื้อสาเหตุ <i>C. gloeosporioides</i> สาเหตุโรคทุเรียน	8
3.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> สาเหตุโรคทุเรียน	9
3.3. การทดสอบการก่อโรคนับ (Pathogenicity test) ของเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> สาเหตุโรคทุเรียน	9
3.4. ประเมินประสิทธิภาพของแผ่นอนุภาคนาโนทองแดงในการควบคุมเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> สาเหตุโรคทุเรียนในสภาพห้องปฏิบัติการ	9
บทที่4 ผลการทดลอง	10
4.1 การเก็บรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> จากสาเหตุโรคทุเรียน	10
4.2 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> สาเหตุโรคทุเรียน	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

4.3. ประเมินฤทธิ์ การทดสอบการก่อโรคบนใบ (Pathogenicity test) ของเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> สาเหตุโรคทุเรียน	12
4.4 ประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคทองคำนาโนทองแดงต่อเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> . สาเหตุโรคทุเรียน	13
บทที่ 5 วิจัยรณผลการทดลอง	20
5.1 การแยกและการรวบรวมเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> สาเหตุโรคทุเรียน	21
5.2 การประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> สาเหตุโรคทุเรียน	22
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	23
เอกสารอ้างอิง	25
ประวัติผู้แต่ง	27

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.2 Morphology characterization of <i>C. gloeosporioides</i> . Colony(a), Mycelium(b), Conidia(c).	13
4.3. Effect of copper nanoparticle sheets on the mycelial growth of <i>Colletotrichum</i> spp. causing durian disease on PDA for 5 days	14
4.4 Effect of copper nanoparticle sheets on the mycelial growth of <i>Colletotrichum</i> spp. causing durian disease on PDA for 5 days	15
4.5 The Clear Zone of <i>C. gloeosporioides</i> .	16
4.6 Effect of copper nanoparticle sheets on the Clear Zone of <i>Colletotrichum</i> spp. causing durian disease on PDA for 2 days	17
4.7 Effect of copper nanoparticle sheets on the Clear Zone of <i>Colletotrichum</i> spp. causing durian disease on PDA for 2 days	18
4.8 Effect of copper nanoparticle sheets on the Clear Zone of <i>Colletotrichum</i> spp. causing durian disease on PDA for 2 days	19

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 Conidial morphology of <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolates.	3
2.2 Characteristics of Conidial morphology of <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	4
2.3 Length scale to compare NP dimensions to the size of biological materials	5
2.4 Illustration of the antifungal mechanism of CuNP nanoparticles.	6
4.1. symptoms of <i>C. gloeosporioides</i> disease on the leaf.	12



บทที่ 1

บทนำ

ทุเรียน (Durian) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Durio zibethinus* อยู่ในวงศ์ (Family) Bombacaceae ทุเรียนเป็นผลไม้เขตร้อนเป็นพืชประจำถิ่นบริเวณภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แหล่งผลิตที่สำคัญของโลก ทั้งนี้ ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตทุเรียนรายใหญ่ที่สุด รองลงมา คือ มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และเวียดนาม ประเทศที่เป็นคู่แข่งทางการค้าของประเทศไทย คือ มาเลเซีย และเวียดนาม นอกจากนี้มีการนำพันธุ์ทุเรียนจากไทยและมาเลเซียไปปลูกในประเทศออสเตรเลีย จึงเห็นได้ว่าทุเรียนเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมในการบริโภคจากประชาคมโลก (สุการดา และแวรวรี, 2564) เป็นพืชที่ได้รับความนิยมปลูกอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทย เนื่องจากปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกและผลิตทุเรียนส่งออกได้เป็นอันดับ 1 ของโลก ทำให้มีแนวโน้มในการปลูกทุเรียนเพิ่มขึ้นเป็นอาชีพหลัก ในปี 2564 มีเนื้อที่ให้ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้นจาก 1,168,154 ไร่ ผลผลิต 1,212,989 ตัน สร้างมูลค่า 138,256 ล้านบาท ผลผลิตทุเรียนส่วนใหญ่ส่งออกไปยังต่างประเทศ โดยส่งออกผลสดประมาณร้อยละ 95 ของการส่งออกทั้งหมด ตลาดสำคัญ ได้แก่ จีน ฮองกง และเวียดนาม ซึ่งการส่งออกรวมเพิ่มขึ้นจากปีที่ผ่านมาเนื่องจากความต้องการทางการตลาด (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565)

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ก่อให้เกิด โรคใบจุด ใบไหม้ หรือโรคแอนแทรคโนส (Leaf Spot/Leaf Blight/Anthracnose) เป็นโรคที่เกิดในช่วงใบอ่อนหรือช่วงที่พืชอ่อนแอ เช่น ในสภาพที่พืชขาดน้ำในฤดูแล้ง โดยเฉพาะในช่วงติดผลของทุเรียน เกิดจุดแผลสีน้ำตาลบนใบหากรุนแรง (วิหวัธ, 2560) ชาวสวนทุเรียนส่วนใหญ่ ใช้สารเคมีในการกำจัดและควบคุมเชื้อราชนิดนี้ ปัจจุบันมีการใช้สารทดแทนสารเคมี โดยมีการพัฒนารูปแบบหนึ่ง โดยการนำวัสดุนาโนมาประยุกต์ใช้ ซึ่งอนุภาคนาโนมีขนาดเล็ก อยู่ในช่วง 10-100 นาโนเมตร มีคุณสมบัติทางเคมี และทางกายภาพที่พิเศษที่แตกต่างออกไปจากอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ เนื่องจากขนาดอนุภาคที่เล็กส่งผลให้มีพื้นที่ ผิวสัมผัสที่สูงจึงสามารถเกิดปฏิกิริยาที่พื้นผิวได้ดี (Wang et al., 2006) หนึ่งในอนุภาคนาโนที่ใช้งานได้หลายสาขา คืออนุภาคนาโนทองแดง เนื่องจากมีต้นทุนในการสังเคราะห์ที่ต่ำ และมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อรา (Chung et al., 2017)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อแยกและจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคทุเรียน
2. ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคทุเรียน
3. เพื่อทำการศึกษาผลของแผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ตามการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของทุเรียน

สถานการณ์การผลิตทุเรียนของไทย และการบริโภคภายในประเทศในปี 2564 ไทยมีเนื้อที่ให้ผล 854,986 ไร่ เพิ่มขึ้นจากปี 2563 ร้อยละ 7.20 มีผลผลิต 1,201,458 ตัน เพิ่มขึ้นจากปี 2563 ร้อยละ 7.66 และมีผลผลิตต่อไร่ 1,405 กิโลกรัม/ไร่ เพิ่มขึ้นจากปี 2563 ร้อยละ 0.43 เนื่องจากทุเรียนที่ปลูกในปี 2559 ของแหล่งผลิตที่สำคัญทางภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้เริ่มเก็บเกี่ยวและให้ผลผลิตได้ ยกเว้นภาคเหนือที่ประสบภัยแล้งในช่วงต้นปี 2563 ทำให้ทุเรียนยืนต้นตาย สำหรับผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้น เนื่องจากในช่วงปลายปี 2563 มีฝนตกอย่างต่อเนื่อง ต้นทุเรียนได้รับน้ำเพียงพอ ต้นสมบูรณ์พร้อมสำหรับการออกดอกสามารถออกดอกและติดผลดีกว่าปีที่แล้ว ประกอบกับราคาทุเรียนที่เกษตรกรขายได้อยู่ในเกณฑ์ดีอย่างต่อเนื่อง เกษตรกรจึงให้การบำรุงดูแลดีขึ้น ส่งผลให้ต้นทุเรียนสมบูรณ์ให้ผลผลิตได้มากขึ้น ภาพรวมผลผลิตทั้งประเทศจึงเพิ่มขึ้นด้วย แหล่งเพาะปลูกทุเรียนที่สำคัญของไทย ได้แก่ จังหวัดชุมพร จันทบุรี ระยอง นครศรีธรรมราช และ ยะลา (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) การบริโภคภายในประเทศ ระหว่างปี 2560 - 2564 ความต้องการบริโภคภายในประเทศเพิ่มขึ้นจาก 147,290 ตัน ในปี 2560 เป็น 291,429 ตัน ในปี 2564 หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 22.73 ต่อปี ซึ่งการบริโภคส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปทุเรียนผลสด โดยในปี 2564 มีการบริโภคทุเรียนภายในประเทศ 291,429 ตัน ลดลงจากปี 2563 ร้อยละ 35.84 เนื่องจากทุเรียนเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคในต่างประเทศ โดยเฉพาะตลาดจีน ส่งผลให้ราคาส่งออกสูงกว่าราคาในประเทศ จึงใจให้เกษตรกรเพิ่มการส่งออก ประกอบกับเส้นทางการขนส่งไปยังจีนในปัจจุบันมีทั้งทางเรือจากท่าเรือแหลมฉบัง ทางบกจากเส้นทาง R9 เส้นทาง R3A และเส้นทาง R12 รวมทั้งทางเครื่องบิน และมีการจำหน่ายผ่านระบบสั่งซื้อล่วงหน้า (Pre-Order platform) ภายใต้ความร่วมมือระหว่างกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กระทรวงพาณิชย์ บริษัทเอกชน และสหกรณ์ผลไม้ อาทิ สหกรณ์เมืองชล จังหวัดจันทบุรี ทั้งนี้ ในปี 2565 คาดว่าความต้องการบริโภคภายในประเทศจะเพิ่มขึ้นจากปี 2564 ร้อยละ 12.08 ซึ่งเป็นผลจากปริมาณผลผลิตที่คาดว่าจะเพิ่มขึ้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565)

2.2 เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

เชื้อราสกุล *Colletotrichum* พบแพร่กระจายอยู่ทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน ดำรงชีวิตแบบ saprophyte และ parasite จัดเป็นราที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็นสาเหตุของโรคพืชทางเศรษฐกิจหลายชนิด สามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช ส่งผลให้ปริมาณและคุณภาพลดลง ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดภายในและภายนอกประเทศ ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งของการส่งออกไม้ผลไปยังต่างประเทศ ปัจจุบันพบว่ารา *Colletotrichum* มีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนมากกว่า 20 species บนพืชที่อาศัยต่างกัน ส่วนใหญ่ทำให้เกิดโรคใบจุดหรือโรคแอนแทรคโนส ได้มีการรายงาน 2 species ซึ่งในบางครั้งเป็นราดิน (soil-borne) ได้แก่ *C. gloeosporioides* (teleomorph เป็นรา *Glomerella cingulata* สร้าง conidia รูปทรงกระบอก หัวท้ายมนไม่มี setae และ *Colletotrichum dematium* สร้าง conidia รูปพระจันทร์เสี้ยว และมี setae (พรพิมล, 2554) ในส่วนของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถจัดจำแนกได้ดังนี้

Kingdom: Fungi

Division: Ascomycota

Class: Sordariomycetes

Order: Glomerellales

Family: Glomerellaceae

Genus: *Colletotrichum* (Ref.)

เชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเชื้อร่าก่อโรคและพบได้บ่อยที่สุดที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสจะมีวิถีชีวิต หรือไลฟ์สไตล์ที่ซับซ้อนกว่าเชื้อราอื่นๆ เพราะเชื้ออาจมีพฤติกรรมเป็นเชื้อโรคที่ทำลายเนื้อเยื่อของพืชรุนแรง ทำให้เกิดแผลบนเนื้อเยื่อพืช หรือบางช่วงชีวิต เพียงอาศัยอยู่บนพืชนั้น โดยไม่ทำลายให้พืชอาศัยเสียหาย อาจทำให้เกิดความสับสนกับเกษตรกรผู้ปลูกพืช เพราะมองไม่เห็นความเสียหายบนต้นพืช หรือมีอาการโรคเข้าทำลายให้เห็น ต่อเมื่อเก็บผลผลิตแล้วจึงเกิดของโรค เช่น อาการผลเน่าของโรคแอนแทรคโนส บนผลมะม่วง ผลกล้วย เป็นต้น ทำให้มีการแบ่งปัญหาของโรค เป็น 2 แบบ คือ โรคที่เกิดก่อนเก็บเกี่ยว (pre-harvest diseases) และโรคที่เกิดหลังเก็บเกี่ยว (post-harvest diseases) ลักษณะโคนินเดียมีรูปทรงกระบอกมีปลายแหลม หรือมีปลายด้านหนึ่งโค้งมนและอีกด้านหนึ่งปลายแหลม (Pallem et al, 2012)

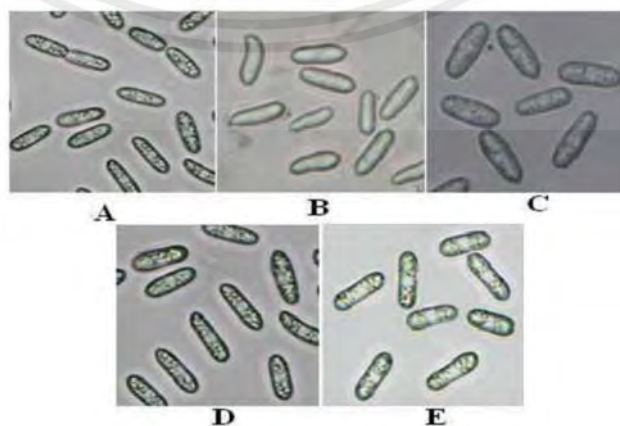


Figure 2.1 Conidial morphology of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อ (Chen et al., 2017) อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

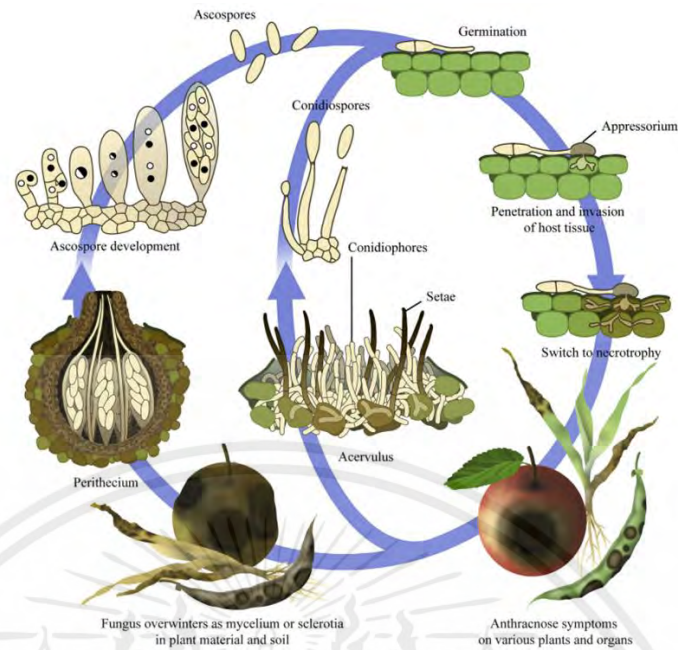


Figure 2.2 Characteristics of Conidial morphology of *Colletotrichum gloeosporioides*.

(Dilani et al., 2017)

2.3 โรคแอนแทรกโนสของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides*

ลักษณะอาการของโรคแอนแทรกโนสในทุเรียน (Durian leaf Anthracnose)

ใบทุเรียนที่โดนเชื้อราชนิดนี้เข้าทำลายจะมีการแสดงออกที่ใบอ่อนจะเริ่มหงิกงอ จะมีอาการจากจุดสีเทา จะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม เนื้อเยื่อกลางแผลฉีกขาดเป็นรู (รุ่งทิพย์, 2557) อาการแผลที่ใบเป็นจุดดวงสีน้ำตาลแดงเรียงซ้อนกัน ตรงกลางมีจุดสีเทาปนน้ำตาล แผลมักเกิดที่ขอบหรือปลายใบ รูปร่างไม่แน่นอน ขอบนอกเป็นสีเหลือง มีลมและฝนช่วยแพร่กระจายโรคได้รวดเร็วในช่วงฝนชุก โรคลูกกลมสุกและดอก ผล ทำให้เน่าก่อนบาน มีราสีเทาดำคลุมกลีบดอก

แนวทางการป้องกันกำจัดเชื้อรา *C. gloeosporioides*

1. การจัดการภายในสวน มีการจัดแต่งทรงพุ่มให้โปร่ง ลดการสะสมของโรคและแมลง
2. ใช้สารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค ได้แก่ mancozeb, carbendazim, และ azoxystrobin (พิสุทธิ, 2563)

2.4 อนุภาคนาโนทองแดง (Copper nanoparticles, CuNPs)

อนุภาคนาโนเป็นวัสดุที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาจากกระบวนการทางนาโนเทคโนโลยี โดยมีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร (1-100นาโนเมตร) (Figure 2.3) เนื่องจากวัสดุมีอนุภาคขนาดเล็กจึงส่งผลให้สัดส่วนของจำนวนอะตอมที่อยู่บริเวณผิวหน้าลิวสัมผัสเพิ่มขึ้นทำให้สมบัติทางไฟฟ้า สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางแม่เหล็ก และสมบัติทางแสงแตกต่างจากวัสดุที่มีขนาดใหญ่ จึงทำให้นาโนเทคโนโลยีมีบทบาทต่อการดำเนินชีวิตของมนุษย์ในด้านต่างๆ (นินนาท์ และคณะ, 2561) อนุภาคนาโนทองแดงเป็นเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nanodots หรือ Nanopowder เป็นอนุภาคโลหะพื้นผิวทรงกลมสีดำทรงกลม อนุภาคนาโนทองแดงมีขนาด 10-30 นาโนเมตร มีพื้นที่ผิวเฉพาะ (SSA) ในช่วง 30-70 ตารางเมตรต่อกรัม และยังมีพื้นที่ผิวจำเพาะประมาณ 5-10 ตารางเมตรต่อกรัม เมื่อมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 70-100 นาโนเมตร (Figure 2.2)

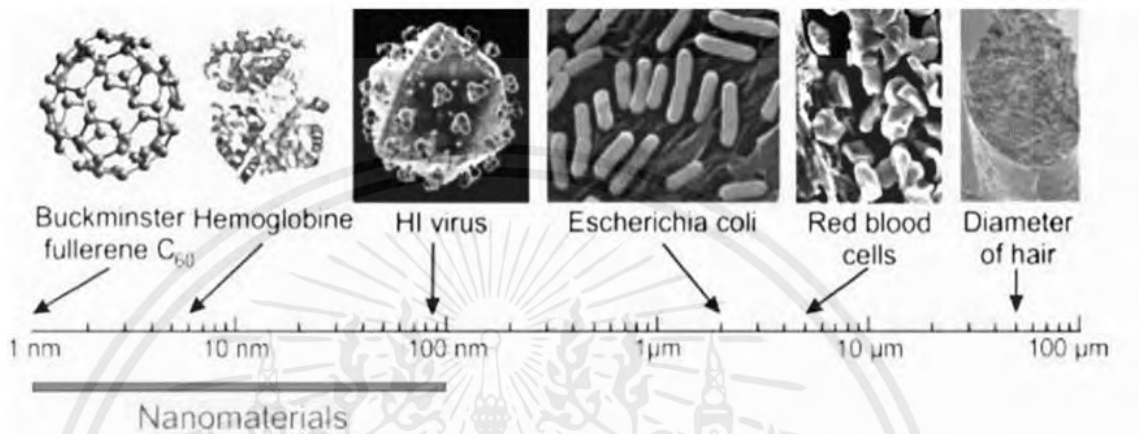


Figure 2.3 Length scale to compare NP dimensions to the size of biological materials (Wallyn et al., 2019)

การสังเคราะห์สารชีวภัณฑ์ด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและคุ้มค่าเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการเกษตร เชื้อราที่ทำให้เกิดโรคพืช เนื่องจากมีกลไกการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในพืช (Figure 2.4) ตามรายงานของ Rahman et al. (2019) ดังนี้

1. อนุภาคนาโนทองแดงทำปฏิกิริยากับผนังเซลล์ของเชื้อรา และแบคทีเรีย ส่งผลกระทบให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหาย
2. อนุภาคนาโนทองแดงเข้าจับกับ mitochondria ทำให้ cytochrome C ที่เป็นส่วนสำคัญของกระบวนการสังเคราะห์ ATP เสียหาย จากนั้นหลั่งเอนไซม์ caspase cascade และทำให้เซลล์ตาย
3. อนุภาคนาโนทองแดงเข้าจับกับ DNA ทำให้เซลล์แตกหักและตาย
4. อนุภาคนาโนทองแดงเข้าจับกับ ribosomes ที่มีหน้าที่สังเคราะห์โปรตีน ทำให้โปรตีนเสื่อมสภาพและตายลงในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

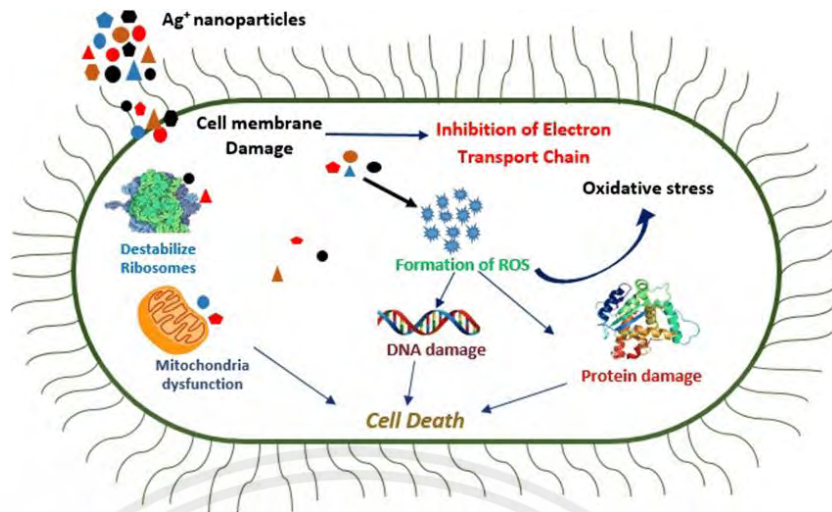


Figure 2.4 Illustration of the antifungal mechanism of CuNP nanoparticles.

(Rahman et al. 2019)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Weria et al. (2019) อนุภาคนาโนทองแดง (NPs) และเพื่อประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อราต่อเชื้อก่อโรค *Colletotrichum nymphaeae* การห่อหุ้ม EOs ของโหระพาและผักชีฝรั่งด้วย อนุภาคนาโนทองแดงสามารถยับยั้งการเจริญการเติบโตได้ถึง 90% หลังจาก 9 วัน

Mosquera et al. (2020) ZnO-NP ที่สังเคราะห์ได้เป็นทางเลือกที่ต้านเชื้อราที่มีประสิทธิภาพและประหยัด นำมาใช้ในระบบการผลิตทางการเกษตรเพื่อการปกป้องพืชผลที่มีความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ ZnO-NPs ได้รับการประเมินอย่างมีนัยสำคัญในการยับยั้ง ted ระหว่าง 93 และ 96% การเจริญเติบโตของ เชื้อรา *Colletotrichum* sp. ซึ่งตรงข้ามกับสารฆ่าเชื้อราที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเพียง 88% ทางสัณฐานวิทยาสังเกตการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญในรูปแบบการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับของไฮโดพลาสซึมและการดูดซับของ NPs บนพื้นผิวของhyphae เกิดขึ้น เมื่อพิจารณาถึงผลลัพธ์ที่ได้ 96% ยับยั้งในการเจริญของสายพันธุ์ *Colletotrichum* sp. ด้วยปริมาณ 15 mmolL

Panagiota et al. (2020) ผลการวิจัยพบว่า Cu-NPs ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดต่อ *Colletotrichum* spp. คือ 110_CN_S4_X1 ซึ่งให้ค่าประสิทธิภาพการควบคุมเฉลี่ย 61.03% ในขณะที่สูตรเชิงพาณิชย์ทั้งสองของผลิตภัณฑ์ทองแดงทั่วไปให้ค่าประสิทธิภาพการควบคุมที่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญที่ 35.06% และ 45.45% ในทำนองเดียวกัน Cu-NPs สามตัวที่ทดสอบ (110_CN_S4_X1, 109_CC_S4_X2, 108_CN_S1_X1) พบว่ามีประสิทธิภาพสูงต่อ *Spilocaea oleagina* โดยมีค่าประสิทธิภาพการควบคุมตั้งแต่ 60% ถึง 67.5% ผลการศึกษานี้คาดว่าจะมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของการควบคุมโรคและลดการสูญเสียผลผลิตที่เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Vinh et al. (2020) CuNPs ที่ได้ทำการสังเคราะห์แล้วแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราของอนุภาคนาโนทองแดงในช่วง 100-300 นาโนเมตร สามารถสังเกตได้ในภาพ TEM *C. gloeosporioides* ที่มีการยับยั้งการเจริญเติบโต 100% ที่ทองแดง 200 ppm จากนั้นจึงเติมแป้งมันสำปะหลังเจลาตินลงในสารละลาย CuNPs เพื่อให้ได้ส่วนผสมที่สร้างฟิล์มเพื่อผลิตฟิล์มคอมโพสิตแบบสแตนด์อโลนบนงานเพาะเชื้อและสารเคลือบบนมะม่วง *C. gloeosporioides* ไม่สามารถเติบโตบนพื้นผิวของวัสดุอาหารเมื่อสัมผัสกับฟิล์มที่มี 245 ppm CuNPs ในขณะที่พวกเขาเติบโตตามปกติบนฟิล์มควบคุมที่ไม่มี CuNPs สำหรับการทดสอบเชื้อราในร่างกายกับมะม่วงทั้งการควบคุมและการเคลือบที่มี CuNPs จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราอย่างเท่าเทียมกันอาจเป็นเพราะการซึมผ่านของออกซิเจนของส่วนประกอบโพรตีนและแป้ง การศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นถึงการใช้งานที่เป็นไปได้ของการเคลือบคอมโพสิตโดยใช้โพลีเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่มี CuNPs ในการป้องกันผลไม้ออกจากเชื้อราไฟโตพาโทเคอริก

Krishnanand et al. (2021) การศึกษาครั้งนี้มุ่งเน้นไปที่การสังเคราะห์และการวิเคราะห์คุณสมบัติของอนุภาคนาโนทองแดงเพื่อประเมินฤทธิ์ต้านโรคผลเน่าของพริก สารละลาย CuNPs ขนาดอนุภาค 1-3 นาโนเมตรโดยมีขนาดเฉลี่ย 2 นาโนเมตรวิเคราะห์โดยใช้ TEM ที่มีความเข้มข้นต่างกัน เช่น 30, 50, 70, 100, 150, 200 ppm ใช้สำหรับการทดสอบ ฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. capsici* พบว่า *C. capsici* มีการตอบสนองความไวต่อการกระทำของอนุภาคนาโนทองแดงที่ความเข้มข้นสูงกว่าความเข้มข้นที่ต่ำกว่า CuNPs ที่ใช้ทดสอบเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ที่ความเข้มข้น 200 ppm (เส้นผ่านศูนย์กลาง 28.00 ± 0.81 มม.) ในขณะที่พบกิจกรรมขั้นต่ำที่ความเข้มข้น 30 ppm (9.75 ± 2.06 มิลลิเมตร) ผลจากวิธีการแพร่ผ่านแผ่นฟิล์มพบว่าอนุภาคนาโนทองแดงมีการต้านเชื้อราที่อาจเกิดขึ้น ในอนาคต CuNP ที่สังเคราะห์ขึ้นทางชีวภาพอาจมีประโยชน์สำหรับสูตรของสารกำจัดศัตรูพืชที่สำคัญทางการเกษตร สำหรับการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกอย่างได้ผล

Tung et al. (2023) กระบวนการสังเคราะห์สีเขียวของ CuNPs โดยใช้สารสกัดที่อุดมด้วยเพคตินของเปลือก *C. grandis* เป็นสารทำให้เสถียรในที่ที่มีตัวลดที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม - กรดแอสคอร์บิกภายใต้การฉายรังสีไมโครเวฟ โดยเฉพาะอย่างยิ่งงานปัจจุบันใช้สารสกัดจากเปลือก *C. grandis* ผลที่ได้รับระบุว่า CuNPs ทรงกลมและความบริสุทธิ์ที่มีขนาดเฉลี่ย 9-14 นาโนเมตรถูกสร้างขึ้น แม้ว่าขนาดอนุภาคของ CuNPs-M จะใหญ่กว่า CuNPs-N เล็กน้อยเนื่องจากอัตราการก่อตัวของ CuNPs ในเวลาปฏิกิริยาสั้น ๆ แต่ประสิทธิภาพการสังเคราะห์ของ CuNPs-M (95%) นั้นสูงกว่า CuNPs-N (79%) ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นวิธีสังเคราะห์ที่มีแนวโน้มสำหรับการสังเคราะห์ CuNPs ในแง่ของการลดเวลาปฏิกิริยาและประสิทธิภาพการสังเคราะห์สูง ส่วนใหญ่ CuNPs สังเคราะห์ทางชีวภาพในงานนี้ยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. gloeosporioides* ต่อ $IC_{50} = 2.7-3.0$ mM ซึ่งเป็นสารที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราในพืช

Dong et al. (2023) พริกเป็นหนึ่งในเครื่องปรุงรสที่สำคัญที่สุดของอาหารหลายๆอย่าง ของโลก อย่างไรก็ตาม โรคแอนแทรคโนส เกิดจากเชื้อ *C. gloeosporioides* ส่งผลกระทบต่อการผลิตพริกทั่วโลก โดยเฉพาะในเขตร้อนและ เขตกึ่งร้อน ดังนั้นการศึกษานี้จึงมี การตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิใช่ผู้จัดทำขึ้นเพื่อเผยแพร่ไปยังบุคคลอื่นโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายนาโนบางชนิดต่อ *C. gloeosporioides* ในหลอดทดลอง ยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญเติบโตของ *C. gloeosporioides* ผลการยับยั้งคือ 100% mycelial เส้นผ่านศูนย์กลางของสารละลายที่มีขนาดโดยประมาณในช่วง 25-30 นาโนเมตรตามลำดับ ความเข้มข้น 125 ppm ซิลเวอร์นาโน หรือ 75 ppm คอปเปอร์นาโน หรือผสม 50 ppm ซิลเวอร์-คอปเปอร์ นาโน ตัวกลางที่มีความเข้มข้นของซิลเวอร์นาโน 75 ppm หรือคอปเปอร์นาโน 25 ppm หรือ 12.5 สารละลายนาโนซิลเวอร์-ทองแดง ppm ยับยั้งการงอกของสปอร์ของ *C. gloeosporioides* ได้อย่างสมบูรณ์ จากการทดลองพบว่าสารละลายเงิน-ทองแดงความเข้มข้น 50 ppm สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* ในผลพริก พบว่ามีผลที่เป็นโรคเพียง 13.3% และมีประสิทธิภาพยับยั้ง ที่ 86.7%



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 เก็บรวบรวมและแยกเชื้อราจากตัวอย่างทุเรียนที่แสดงเชื้อสาเหตุ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคทุเรียน

โดยเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคทุเรียนที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส ที่คาดว่าเกิดจากเชื้อ *C. gloeosporioides* พร้อมทั้งถ่ายภาพอาการของโรค จากนั้นนำตัวอย่างโรค มาทำการศึกษา และแยกเชื้อราสาเหตุของโรคในห้องปฏิบัติการ

แยกเชื้อด้วยวิธี Tissue transplanting technique โดยตัดชิ้นส่วนพืชที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ให้มีขนาด 0.5 × 0.5 cm. ฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวโดยแช่ sodium hypochlorite (Clorox 10%) ประมาณ 3-5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 3-5 นาที ซับด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำชิ้นส่วนพืชไปวางบนอาหาร water agar (WA) เมื่อสังเกตเห็นเส้นใยของเชื้อราที่เจริญออกมา ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดบริเวณปลายเส้นใยที่เจริญออกมา แล้ววางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และบ่มที่อุณหภูมิห้อง (วนิดา และคณะ, 2562)

ทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ด้วยวิธี single spore isolation ดัดแปลงวิธีจาก Ho and Ko, 1997 โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA เชื้อเส้นใยบริเวณที่มีสปอร์ของเชื้อราจากงานเพาะเชื้อที่มีการเกิดของสปอร์แล้ว แยกสปอร์ออกจากเส้นใย โดยนำเส้นใยที่มีสปอร์ของเชื้อราใส่ลงใน micro tube ที่เติมน้ำกลั่นปริมาณ 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Vortex เพื่อแยก conidia ของเชื้อมา และนำ conidial suspension เทลงบนงานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Water agar (WA) นำมาเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10X และจุดหรือวาดวงกลมตรงที่มีสปอร์ด้านล่างของงานเพาะเชื้อ จากนั้นใช้มีด หรือ cork borer ตัดย้ายลงบนงานเพาะเชื้อที่มีอาหาร potato dextrose (PDA) หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5-7 วัน

บันทึกข้อมูลการทดลอง

1. บันทึกรายละเอียดของตัวอย่างพืชที่พบ
2. ถ่ายภาพ จำนวนเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้

3.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคทุเรียน

โดยทำการเลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในจานอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ PDA ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 cm และใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm. ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ วางในด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงที่อาหารบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจาน เลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วัน หลังจากนั้นใช้เข็มเย็บเส้นใยของเชื้อรา แล้วหยดด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อบนแผ่นสไลด์ และศึกษาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 200 เท่า และ 400 เท่า ตรวจสอบลักษณะสปอร์ (พรปวีณ์ และคณะ, 2562; Nel et al, 2006)

บันทึกข้อมูลการทดลอง

1. ลักษณะของโคโลนี
2. ตรวจสอบลักษณะเส้นใยและลักษณะสปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.3. การทดสอบการก่อโรคบนใบ (Pathogenicity test) ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคทุเรียน

เตรียมเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร PDA ที่ อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำใบทุเรียนที่ไม่ปรากฏโรคและแมลงเข้าทำลาย มาทดสอบด้วยวิธี detached leaf ตัดแปลงจาก Liu *et al.* (2007) ทำความสะอาดด้วยการฆ่าเชื้อบริเวณผิว แช่ Clorox 10% ประมาณ 3-5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 2-3 นาที มาซับด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำเข็มที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเจาะ 6 แผล บนใบทุเรียน จากนั้นนำ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm ที่ผ่านการลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดชิ้นส่วนของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จากการเลี้ยงบนอาหาร PDA นำไปปลูกเชื้อบนใบทุเรียน ให้ความชื้นด้วยการนำกระดาษทิชชูที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อชุบน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อให้ชุ่มและนำมาพันรอบข้อใบทุเรียน นำไปเก็บไว้ในกล่องพลาสติกใส ให้ความชื้นโดยการเทน้ำกลั่น 500 ml โดยวางตะแกรงลวดไว้ในกล่องเพื่อไม่ให้ใบติดกันกล่อง ปิดฝาเพื่อทำการบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการณ์การก่อโรค

- 1.บันทึกภาพ
- 2.วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลบนใบทุเรียน

3.4. ประเมินประสิทธิภาพของแผ่นอนุภาคนาโนทองแดงในการควบคุมเชื้อรา

C. gloeosporioides สาเหตุโรคทุเรียนในสภาพห้องปฏิบัติการ

3.4.1. ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย

ทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สำหรับการทดสอบเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. ตัดเส้นใยของเชื้อรา มาวางบนอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 3-5 วัน จากนั้น นำแผ่นอนุภาค

นาโนคอปเปอร์ที่มีความเข้มข้น 0 ppm, 51 ppm, 59 ppm, 68 ppm, 78 ppm, และ 85 ppm มาวางคู่กับเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยวิธี dual technique

บันทึกผลการทดลอง

วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา เพื่อคำนวณการหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

3.4.2 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของสปอร์

ทำการหยดน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 10 มิลลิลิตร ลงในเพทอาหาร PDA ที่เลี้ยงเชื้อราเอาไว้ ใช้แท่งแก้วเขี่ยเชื้อสามเหลี่ยม (Spread glass) เคลี่ยเส้นใยให้กระจาย นำผ้าขาวบาง 2-3 ชั้น มากรองลงในปิកเกอร์ จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 20 มิลลิลิตร หยดน้ำกลั่นที่ทำการข้างต้นลงบน Hemacytometer นำไปนับสปอร์ หยดน้ำกลั่นที่มีสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ลง บนเพท PDA 0.5 มิลลิลิตร เคลี่ยให้ทั่วโดยใช้แท่งแก้วเขี่ยเชื้อสามเหลี่ยม (Spread glass) เคลี่ยให้ทั่วรอบเพท นำแผ่นฟิล์มล่อนุภาคนาโนคอปเปอร์ในแต่ละความเข้มข้น 0 ppm, 51ppm, 59ppm, 68ppm, 76ppm, 85ppm วางบนเพทที่ทำการหยดน้ำกลั่นที่มีสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides*

บันทึกผลการทดลอง

วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (clear zone) รอบบริเวณของแผ่นฟิล์มล่อนุภาคนาโนคอปเปอร์เพื่อประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides*

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การเก็บรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อรา *C. gloeosporioides* จากสาเหตุโรคทุเรียน

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคใบไหม้ ที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของทุเรียน ในพื้นที่จังหวัดชุมพร จะแสดงลักษณะอาการแผลที่ใบเป็นจุดดวงสีน้ำตาลแดงเรียงซ้อนกัน (Figure 4.1) ตรงกลางมีจุดสีเทาปนน้ำตาล แผลมักเกิดที่ขอบหรือปลายใบ รูปร่างไม่แน่นอน ขอบนอกเป็นสีเหลือง



Figure 4.1. symptoms of *C. gloeosporioides* disease on the leaf.

นำตัวอย่างใบทุเรียนที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส ที่เก็บภายในตำบล ตากแดด อำเภอเมืองชุมพร จังหวัดชุมพร ทำการแยกด้วยวิธี Tissue transplanting technique หลังจากนั้นทำการแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธี single spore แยกเชื้อราได้จำนวน 6 ไอโซเลท ดังนี้ CL1_1, CL1_2, CL1_3, CL1_4, CL2_L15, CL2_L15 สำหรับใช้ในการทดลองครั้งถัดไป

4.2 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคทุเรียน

เชื้อที่ทำการแยกได้ 6 ไอโซเลท พบว่า เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA พบโคโลนี มีสีขาวขุ่นเป็นเส้นใยสีขาวบางๆ (Figure 4.2 a) เลี้ยงเชื้อประมาณ 5-7 วัน จากนั้น ทำการเขี่ยเส้นใยของเชื้อราไปวางสไลด์และหยดน้ำกลั่นหนึ่งขมาเชื้อ 1 หยด แล้วปิดด้วยแผ่น cover slip เพื่อตรวจสอบ mycelium และ conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จะจำแนกชนิดของเชื้อราโดย conidia มีรูปร่างเป็นทรงกระบอกสั้นเป็นเซลล์เดียว ไม่มีสีภายในเซลล์ (Figure 4.2 c)

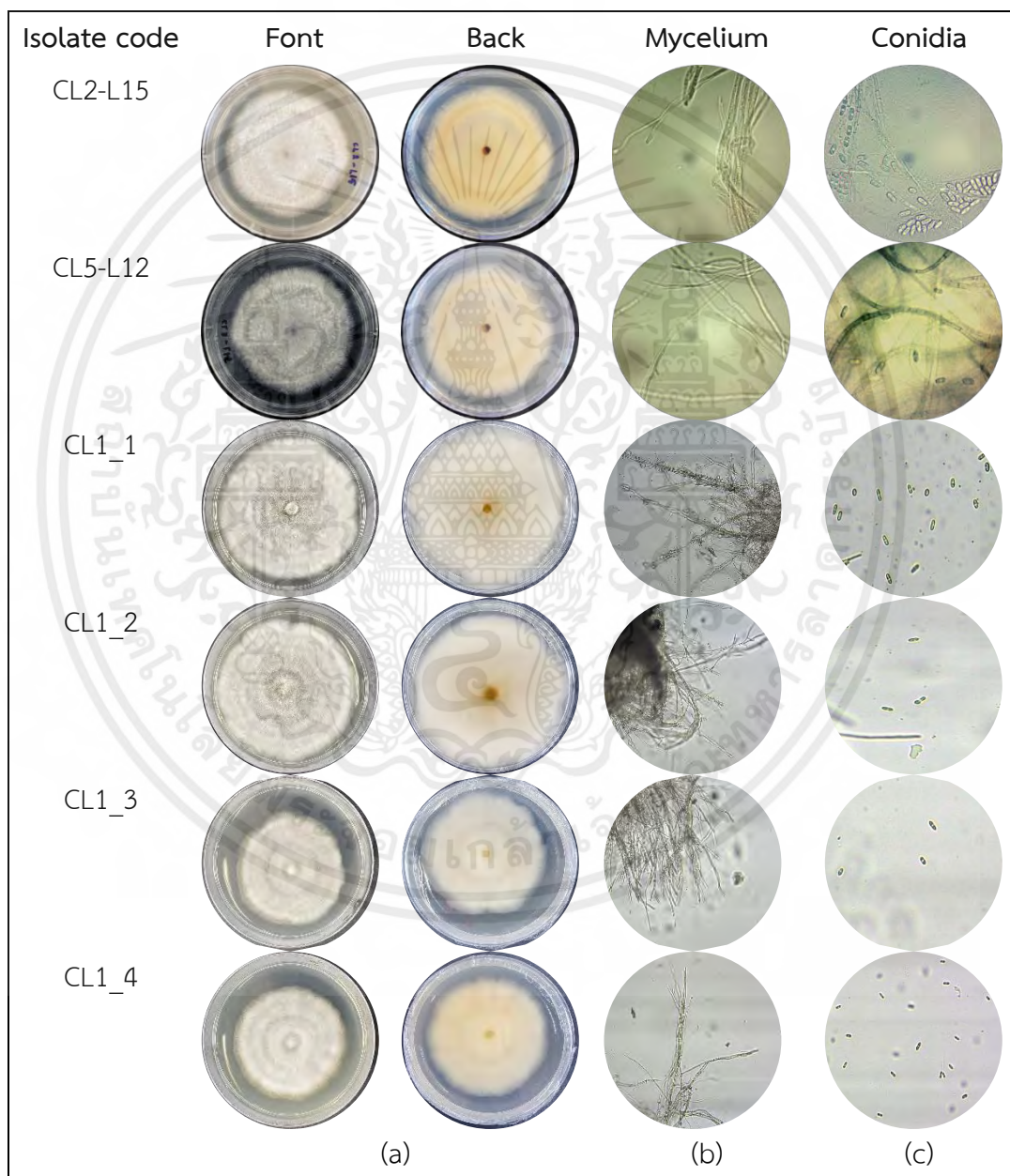


Figure 4.2 Morphology characterization of *C. gloeosporioides*. Colony (a), Mycelium (b), Conidia (c).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3. ประเมินฤทธิ์ การทดสอบการก่อโรคบนใบ (Pathogenicity test) ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคทุเรียน

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 4 ไอโซเลท คือ CL1_1, CL1_2, CL1_3, CL1_4 ด้วยการปลูกเชื้อลงบนใบทุเรียนเป็น เวลา 4 วัน พบการแสดงอาการของใบที่ทำการทดสอบ มีลักษณะของเส้นกลางใบกลายเป็นสีเหลืองซีด และมีรอยช้ำสีน้ำตาลอ่อน บริเวณหลังใบที่ปลูกเชื้อ แต่ไม่สามารถวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบาดแผลบนใบ

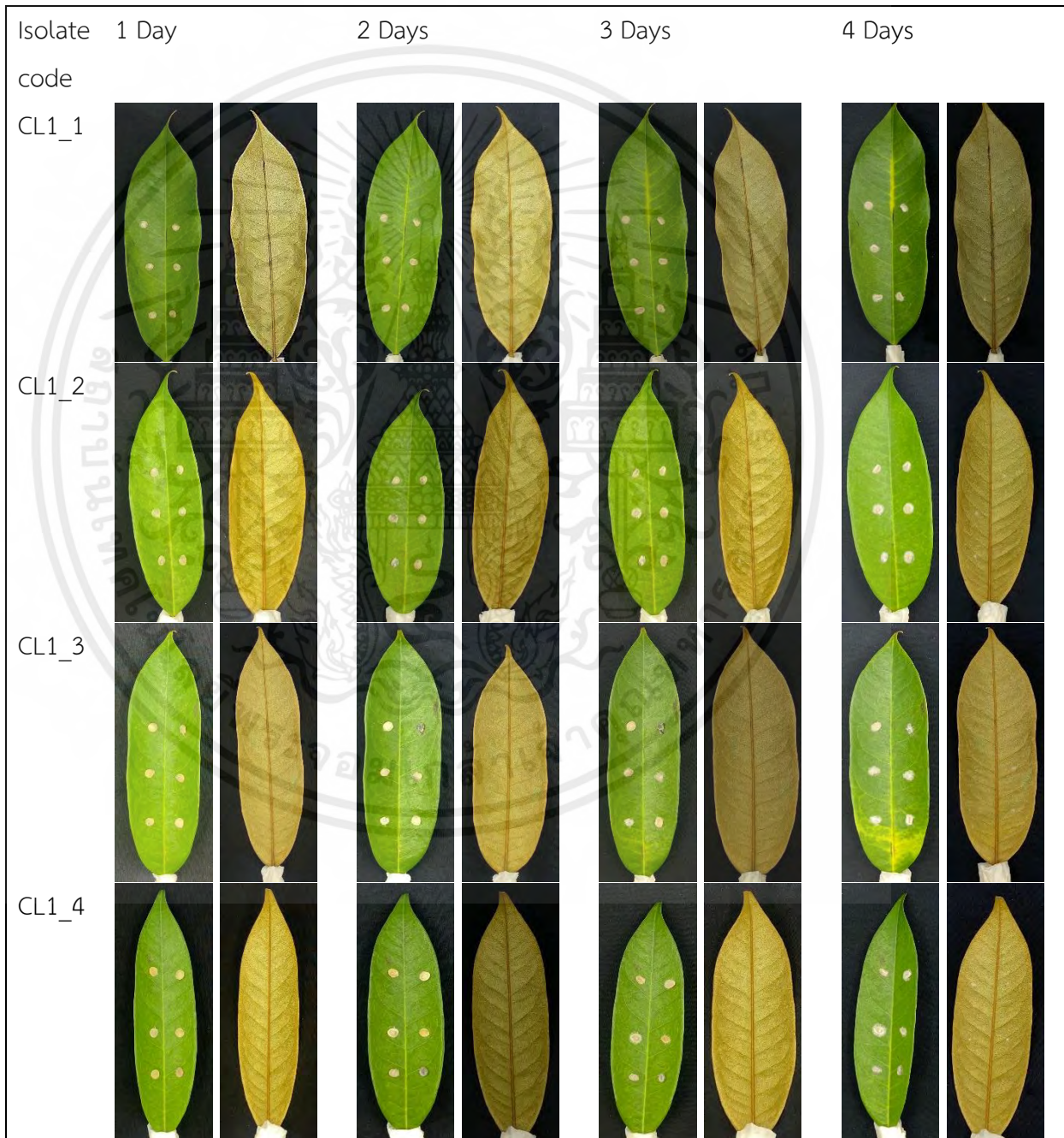


Figure 4.2 Figure 4.3 Pathogenic test on detached leaf assays after inoculated with 4 isolates for 4 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides*.

สาเหตุโรคทุเรียน

4.3.1 ทดสอบการยับยั้งของแผ่นอนุภาคนาโนทองแดงต่อเส้นใยของเชื้อรา

C. gloeosporioides.

จากการทดลองศึกษาประเมินฤทธิ์การต้านทานของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *Colletotrichum* spp. บนอาหาร PDA จำนวน 2 ไอโซเลท นำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตด้วยแผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ขนาด 100 นาโนเมตรขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 8.5, 17, 26, 34 และ 43 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ด้วยวิธี dual วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ พบว่ารัศมีของเส้นใยทั้ง 2 ไอโซเลท ในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไอโซ เลท CL5_L12 มีรัศมีของเส้นใย มีค่า 36.11 – 34.96 และ CL2_L15 มีค่า 39.12 - 37.60 พบความผิดปกติของ เส้นใยที่เจริญบนแผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ (Figure 4.4)

Table 4.3 Effect of copper nanoparticle sheets on the mycelial growth of *Colletotrichum* spp. causing durian disease on PDA for 5 days

Concentration (ppm)	Mycelial radius (mm)	
	CL2_L15	CL5_L12
0	35.368	37.715
8.5	36.118	39.125
17	36.260	35.603
26	34.733	34.205
34	38.168	36.800
43	34.968	37.605
	ns	ns

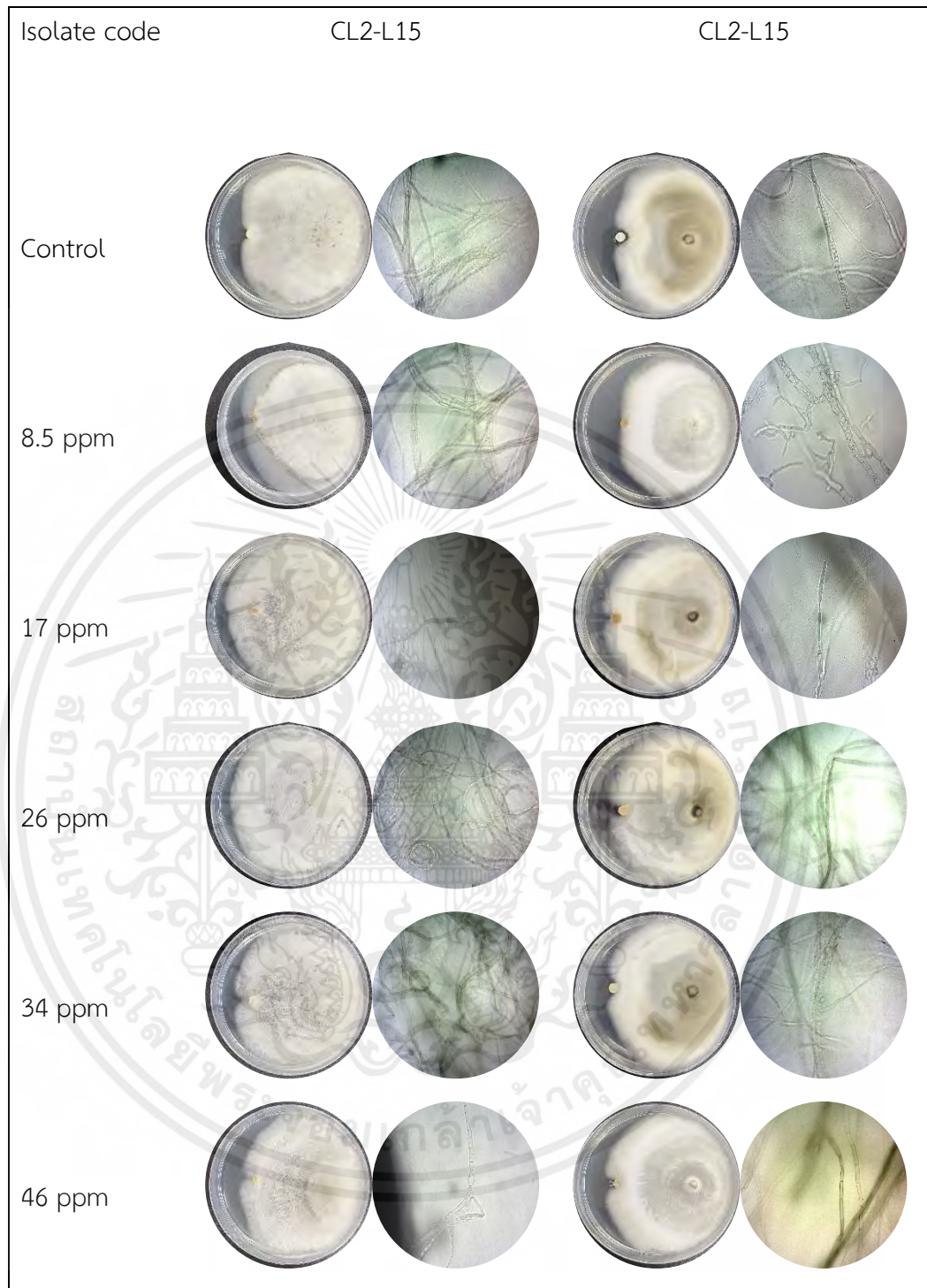


Figure 4.4 Effect of copper nanoparticle sheets on the mycelial growth of *Colletotrichum* spp. causing durian disease on PDA for 5 days

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ทดสอบการยับยั้งของแผ่นอนุภาคนาโนทองแดงต่อการงอกสปอร์ของ Clear zone

เชื้อรา *C. gloeosporioides*.

ประเมินฤทธิ์การต้านทานของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *Colletotrichum* spp. บนอาหาร PDA จำนวน 4 ไอโซเลท นำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตด้วยแผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ขนาด 100 นาโนเมตรขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 51 ppm, 59 ppm, 68 ppm, 78 ppm, และ 85 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ด้วยวิธีการวัดวงใส (Clear zone) ด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper) ในหน่วยมิลลิเมตร (mm) ดำเนินการวางแผนทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำแล้วนำไปเปรียบเทียบผลของค่าเฉลี่ยของ Clear zone โดยโปรแกรมทางสถิติ Statistix v.8 ด้วยวิธี LSD ที่มีค่า $p < 0.01$ พบว่า ประสิทธิภาพของแผ่นฟิล์มอนุภาคนาโนทองแดงสามารถยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides*. ได้ 4 ไอโซเลท CL1_1 ซึ่งปรากฏวงใส (Clear zone) มากที่สุด 24.245 และ CL1_2, CL1_3, CL1_4 ปรากฏวงใสมีขนาดเฉลี่ยอยู่ที่ 23.258, 34.460, 22.217 ตามลำดับ (Figure 4.8)

Table 4.5 Effect of copper nanoparticle sheets on the spore germination of *Colletotrichum* spp. causing durian disease on PDA for 2 days.

Concentrations (ppm)	Diameter of clear zone (mm)			
	CL1_1	CL1_2	CL1_3	CL1_4
0	0 c	0 b	0 b	0 b
51	24.245 a	21.692 a	26.333 a	20.308 a
59	22.405 ab	23.085 a	22.442 a	19.728 a
68	22.815 ab	20.595 a	31.460 a	22.153 a
76	20.715 ab	22.205 a	22.798 a	20.605 a
85	19.947 b	23.258 a	27.075 a	22.217 a
	**	**	**	**

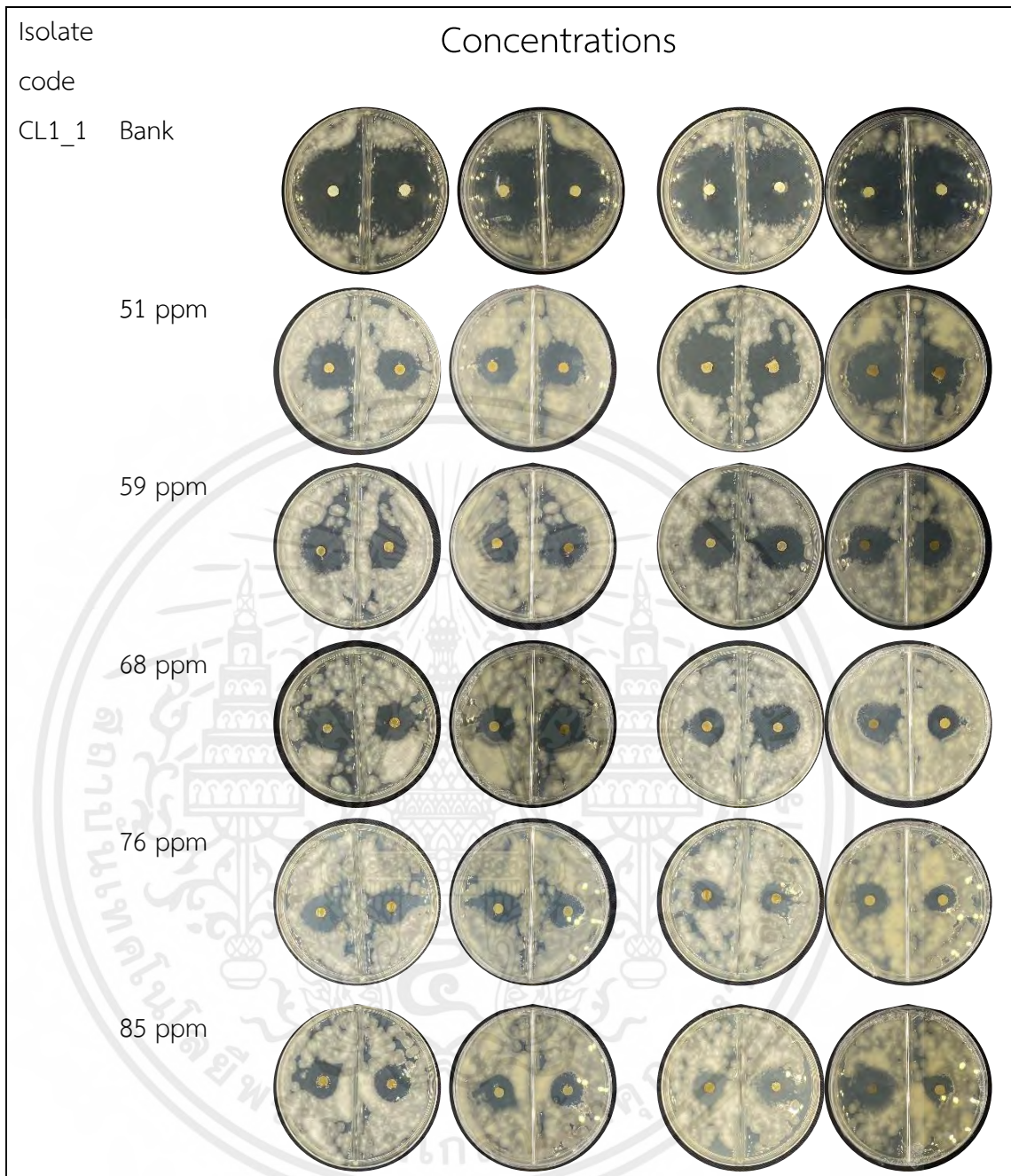


Figure 4.6 Effect of copper nanoparticle sheets on the Clear Zone of *Colletotrichum* spp. causing durian disease on PDA for 2 days

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

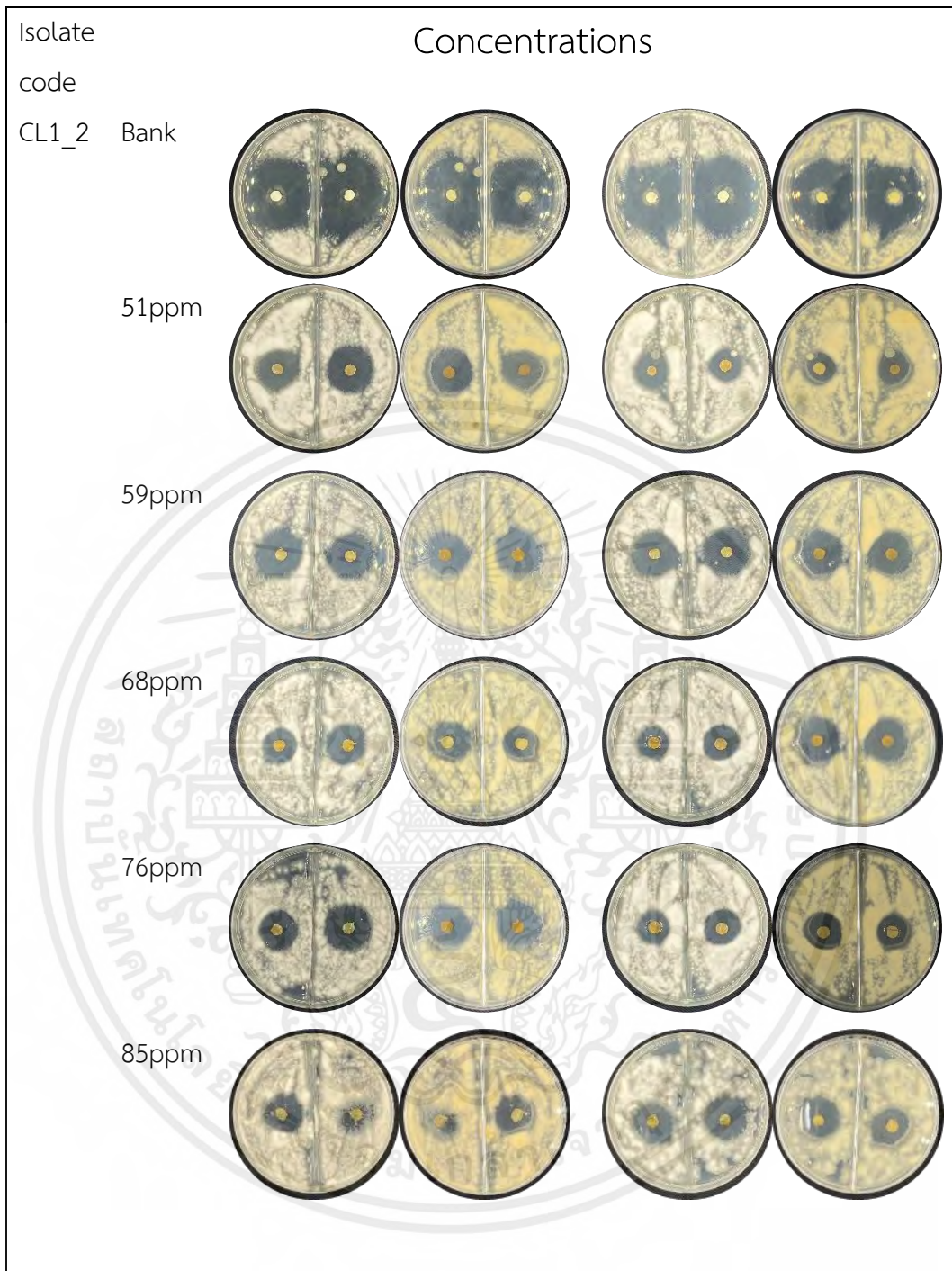


Figure 4.7 Effect of copper nanoparticle sheets on the Clear zone of *Colletotrichum* spp. causing durian disease on PDA for 2 days

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

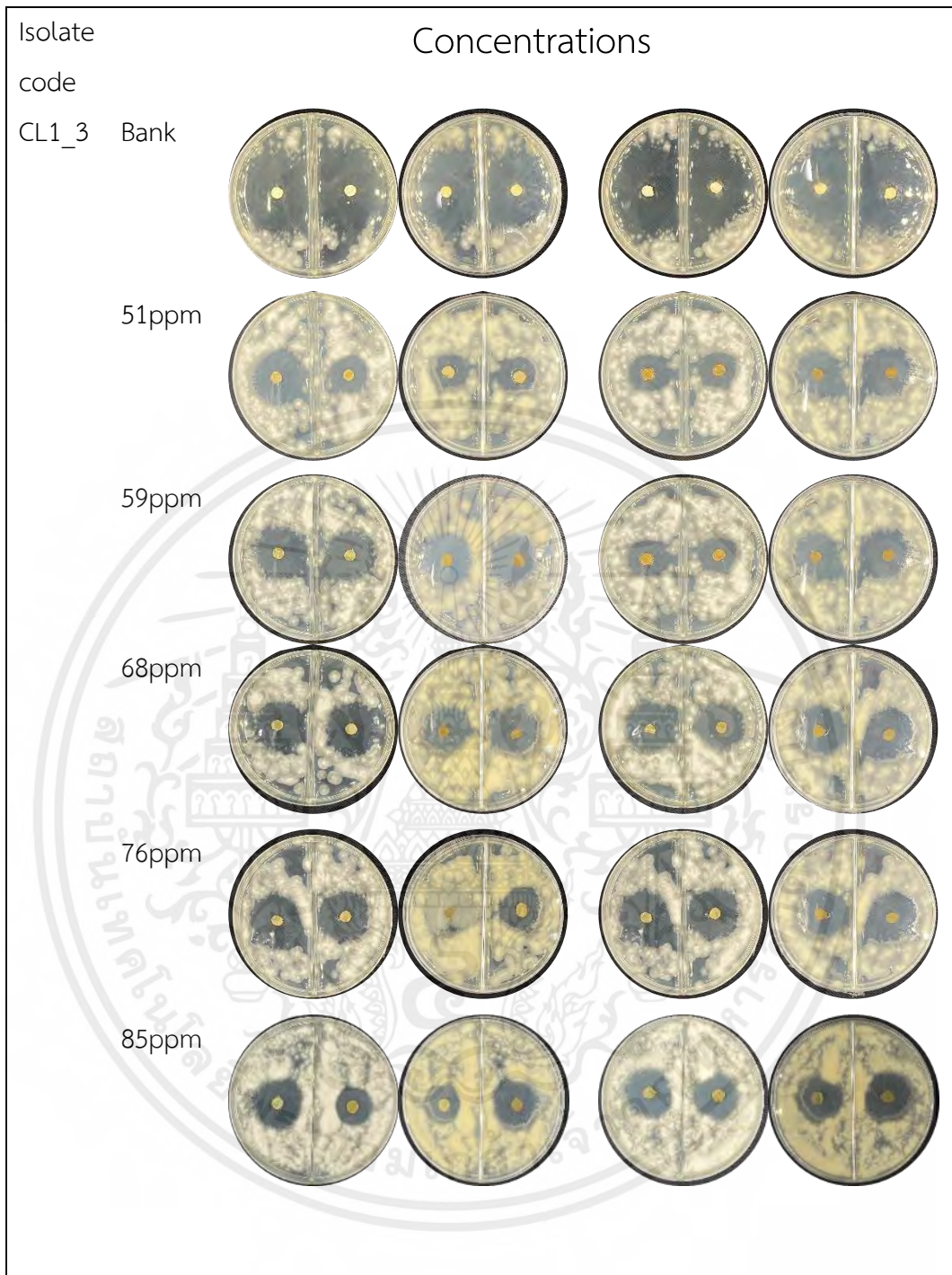


Figure 4.8 Effect of copper nanoparticle sheets on the Clear zone of *Colletotrichum* spp. causing durian disease on PDA for 2 days

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

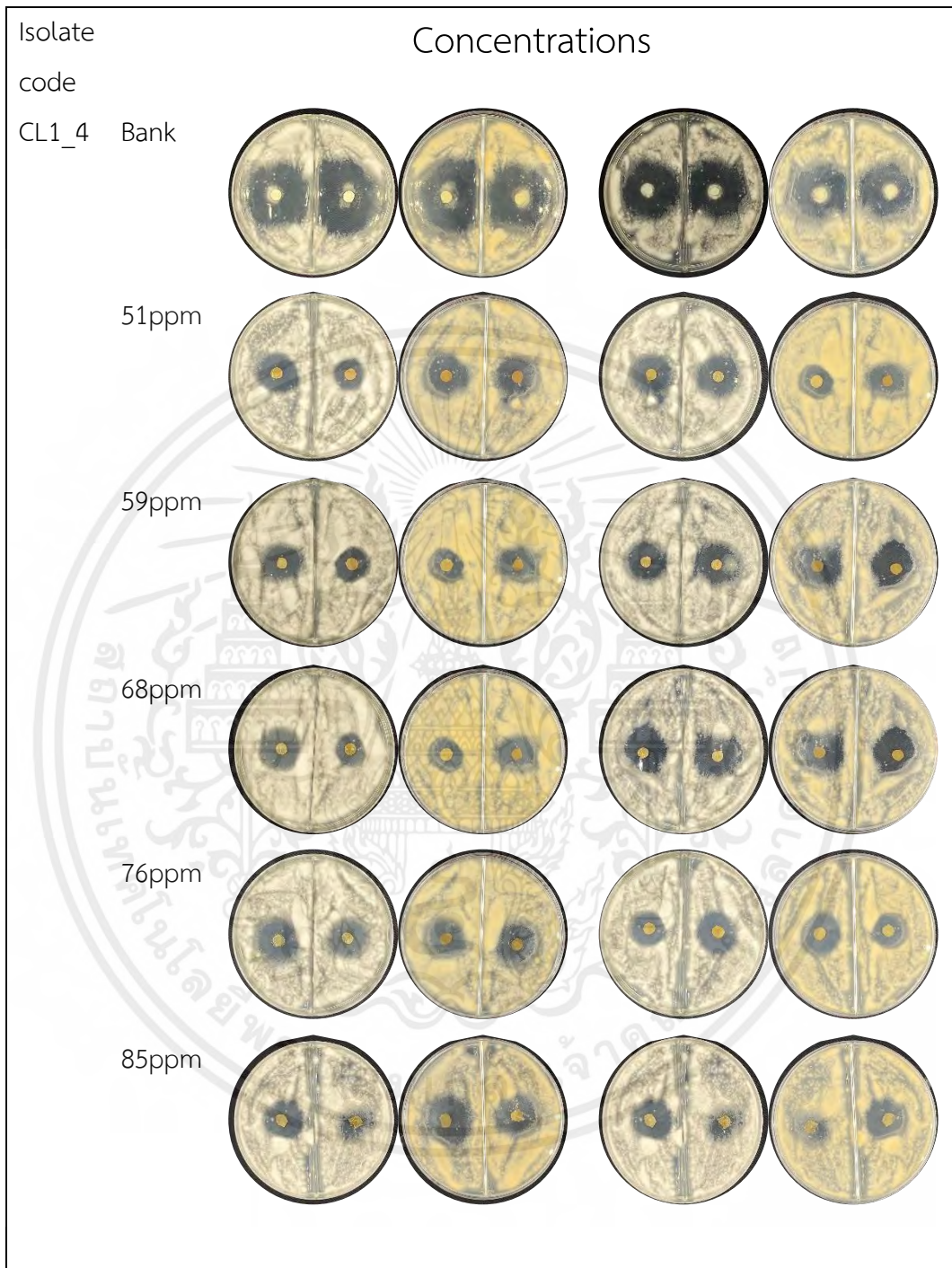


Figure 4.9 Effect of copper nanoparticle sheets on the Clear zone of *Colletotrichum* spp. causing durian disease on PDA for 2 days

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การแยกและการรวบรวมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคทุเรียน

เก็บตัวอย่างโรคทุเรียนในเขตพื้นที่จังหวัดชุมพร เพื่อทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี tissue transplanting โดยใช้อาหารสูตร WA สามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ ได้จำนวน 6 ไอโซเลท ทำการศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40X พบลักษณะเส้นใยใสไม่มีสี มี septate มี conidia แบบทรงกระบอก จากลักษณะดังกล่าวจัดจำแนกเป็นเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 6 ไอโซเลท สอดคล้องกับรายงานของพรประพา และสร้อยยา 2553 รายงานว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีลักษณะโคโลนี เมื่ออ่อนเส้นใยมีสีขาวต่อมาจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเทา และเจริญ เต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 10 วัน บางไอโซเลทสร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม (spore mass) และพบเม็ด sclerotium สีดำฝังตัวอยู่ในอาหาร PDA มีลักษณะสปอร์รูปทรงกระบอกหัวท้ายมน (cylindrical) เซลล์ เดียวใสไม่มีสี

5.2. ประเมินฤทธิ์ การทดสอบการก่อโรคบนใบ (Pathogenicity test) ของเชื้อรา

C. gloeosporioides สาเหตุโรคทุเรียน

จากการประเมินความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 4 ไอโซเลท บนใบทุเรียน เป็นเวลา 4 วัน พบว่า ลักษณะเส้นกลางใบออกอาการสีเหลืองซีด และมีรอยขีดน้ำตาลอ่อนปรากฏด้านหลังของใบ สอดคล้องกับ รัตติรส และคณะ (2559) ได้ทำการทดสอบในการก่อโรคของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ พบว่าเชื้อราสามารถเข้าทำลาย พบว่าสามารถเข้าทำลายใบอ่อนได้ จะมีลักษณะอาการฉ่ำน้ำที่ใบ เนื้อเยื่อใบจะปรากฏรอยแผลสีน้ำตาลเองจากเซลล์ตาย (necrosis)

5.3 การประเมินประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคทุเรียน

5.3.1 ประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนทองแดงต่อการเจริญทางเส้นใย

จากการประเมินฤทธิ์ ต้านทานของแผ่นฟิล์มอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 2 ไอโซเลท ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่า แผ่นฟิล์มอนุภาคนาโนคอปเปอร์ ขนาด 100 นาโนเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 8.5, 17, 26, 34, 43 ppm ไม่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตแต่มีความผิดปกติของเส้นใยที่เจริญบนแผ่นนาโนคอปเปอร์ ซึ่งแตกต่างกับรายงานของ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด การใช้งานโดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Krishnanand et al. (2021) ที่ได้ทำการทดลองฤทธิ์ต้านของสารละลายอนุภาคนาโนคอปเปอร์ ขนาดอนุภาค 1-3 นาโนเมตรโดยมีขนาดเฉลี่ย 2 นาโนเมตรวิเคราะห์โดยใช้ TEM ในระดับความเข้มข้น 30, 50, 70, 100, 150, 200 ppm สารละลายคอปเปอร์ทองแดงที่มีความเข้มข้นสูง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. capsici* ได้สอดคล้องกับรายงานของ Vinh et al. (2020) ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนคอปเปอร์ในช่วง 100-300 นาโนเมตร สามารถสังเกตได้ในภาพ TEM ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm ต่อ *C. gloeosporioides* ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยได้ได้ 100 เปอร์เซ็นต์จากการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราของอนุภาคนาโนทองแดงนั้นขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาคด้วย ยิ่งมีขนาดเล็ก ความสามารถในการต้านเชื้อราของอนุภาคนาโนทองแดงมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งรายงานตรงกับ Siddi and Husen (2000) ได้กล่าวถึง กลไกการต้านเชื้อราของ อนุภาคนาโนทองแดงจะแทรกซึมทะลุผ่านเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ ไปทำการขัดขวางการส่งน้ำและอาหารของเซลล์ ทำให้เกิดอันตรกิริยาภายในเซลล์ เข้าไปจับกับเซลล์ mitochondria ทำให้เซลล์หลั่งเอนไซม์ที่มีชื่อว่า Caspase cascade ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่หลั่งออกมาเมื่อเซลล์ กำลังจะตาย รวมถึงเข้าไปทำให้เซลล์ DNA แตกหัก หรืออาจเกิด ออกซิเจนฟรีเรดิคัล ซึ่งมีความสามารถในการออกซิไดซ์ได้สูงเมื่อเจอกับโปรตีน ทำให้โครงสร้างของเซลล์เกิดความเสียหายส่งผลให้เซลล์ทำงานไม่ได้ และตายในที่สุด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความเข้มข้นของอนุภาคนาโนคอปเปอร์ในการทดลองครั้งนี้ มีความเข้มข้นน้อยเกินไปจนไม่สามารถยับยั้งเส้นใยให้ได้ผลที่ชัดเจน

5.3.2 ประเมินฤทธิ์ต้านของอนุภาคนาโนทองแดงต่อการงอกของสปอร์

จากการประเมินฤทธิ์ ต้านทานของแผ่นฟิล์มอนุภาคนาโนทองแดงต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 4 ไอโซเลท ในห้องปฏิบัติการ พบว่า แผ่นฟิล์มอนุภาคนาโนคอปเปอร์ขนาด 100 นาโนเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 51, 59, 68, 76, 85 ppm มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสปอร์ ซึ่งมีความใกล้เคียงสอดคล้องกับรายงานของ Dong et al. (2023) ที่ทำการทดลองการใช้ออนุภาคนาโนทองขนาดที่มีขนาดโดยประมาณในช่วง 25–30 นาโนเมตรตามลำดับ ในระดับความเข้มข้นที่ 50 ppm และ 75 ppm ต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ได้ 86.7 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลอง พบว่าประสิทธิภาพของแผ่นฟิล์มอนุภาคนาโนคอปเปอร์สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้แต่ขนาดของอนุภาคนาโนคอปเปอร์มีผลต่อการยับยั้งที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น ตรงตามรายงานของ Siddi and Husen (2000) ที่รายงานว่าอนุภาคนาโนคอปเปอร์สามารถแทรกซึมเข้าทำลายเซลล์ของเชื้อราให้เกิดความเสียหาย และตายในที่สุด

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากการแยกตัวอย่างโรคแอนแทรกโนสของทุเรียนได้เชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้จำนวน 6 ไอโซเลท ส่งผลต่อการเกิดบนโรคในทุเรียน แผ่นฟิล์มอนุภาคนาโนคอปเปอร์ที่ระดับความเข้มข้น 8.5 – 43 ppm ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อราแต่พบความผิดปกติของเส้นใยที่เจริญบนแผ่นอนุภาคนาโนคอปเปอร์ และแผ่นฟิล์มอนุภาคนาโนคอปเปอร์ที่ระดับความเข้มข้น 51 – 85 ppm สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ. 2565. สถานการณ์การผลิตทุเรียนของไทยและการบริโภคภายในประเทศ.

กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศสำนักการค้าสินค้า. (ระบบออนไลน์) แหล่งข้อมูล:

<https://xn--42ca1c5gh2k.com/wp-content/uploads/2022/02/Product-Profile-%E0%B8%97%E0%B8%B8%E0%B8%A3%E0%B8%B5%E0%B8%A2%E0%B8%99-%E0%B8%93-16-%E0%B8%81.%E0%B8%9E.-65-rev1-1.pdf>

พรประพา คงตระกูล และสร้อยยา ณ ลำปาง. 2553. “ลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporides* ที่ต้านทานสารคาร์เบนดาซิม” วารสารเกษตร 26(3): 203-212 (2553)

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และชนิทร ดวงสะอาด. 2554. การจำแนกชนิดของราสกุล *Colletotrichum* สาเหตุโรคพืชโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

พิสุทธิ์ เอกอำนวยการ. 2563. โรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ. 1008 หน้า.

พสุ ปราโมกษ์, ชเนษฎ์ วิชาศิลป์ และอัจฉริยา ชมเชย. 2561. การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนทางชีวภาพด้วยแอคติโนแบคทีเรียจากดินสำหรับควบคุม การเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืช. วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์. ปีที่ 10 ฉบับที่ 12.

รุ่งทิพย์ สังข์เผือก. 2557. “การศึกษาชนิดเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสมันสำปะหลัง”. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา. 127 หน้า.

รัตติรส เชียงสิน, กวิศน์ วานิชกุล, David Guest³ และ สมศิริ แสงโชติ. 2559 กระบวนการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนใบมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองและการควบคุมโรคด้วยสารฆ่าเชื้อรา. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 3 ฉบับที่ 4 (ตุลาคม-ธันวาคม) : 49-55, 2559

วนิดา ชื่นชื่น, ศิริพร พุ่มไสว, สมศักดิ์ อยู่บุรีบูรณ์ และวรรณกร กิจจะ 2562 การคัดเลือกและทดสอบเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมฟิส เรียน โขลานาย วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยธนบุรี (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) ปีที่ 3 ฉบับที่ 2

วิทวัส แจ่มเอี่ยม และพรทิพย์ พลาคิย์เลิศ. 2560. การศึกษาการยับยั้งเชื้อราคอลลีโทริคัมที่ก่อโรคในพืชจากเชื้อแอคติโนมัยซีตัส. โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2560. มหาวิทยาลัยบูรพา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามแก้ไขตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วุฒิชัย ทรงศิริเลิศวัฒนา และปราณรวีร์ สุชนธ. 2560. การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยสารสกัดจากเปลือกเมล็ดลำไย. รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและนวัตกรรม (มหาวิทยาลัยแม่โจ้) ครั้งที่ 2

สุกานดา สารน้อย และแวรวรี ลากเกิน. 2564. ภูมิศาสตร์การตลาด กับอุตสาหกรรมเศรษฐกิจสร้างสรรค์ “ทุเรียนนนทบุรี”. วารสารบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม ปีที่ 16 ฉบับที่ 1.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. สินค้าทุเรียนและผลิตภัณฑ์. กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศสำนักงานการค้าสินค้า. (ระบบออนไลน์) แหล่งข้อมูล:<https://xn--42ca1c5gh2k.com/wp-content/uploads/2022/02/Product-Profile-%E0%B8%97%E0%B8%B8%E0%B8%A3%E0%B8%B5%E0%B8%A2%E0%B8%99-%E0%B8%93-16-%E0%B8%81.%E0%B8%9E-65-rev1-1.pdf>

Chung, I. M., Rahuman, A. A., Marimuthu, S., Vishnu, A. K., Anbarasan, K., Padmini, P. and Rajakumar, G. 2017. Green synthesis of copper nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaves extract and their antioxidant and cytotoxic activities. Department of Zoology, C. Abdul Hakeem College, Vellore, Tamil Nadu 632 509, India. 18-24.

Gioi, D. H., Men, N. T., Cuong, H. V. and Huong, B. T. T. 2023. APPLICATION OF NANOPARTICLES FOR THE CONTROL OF *Colletotrichum gloeosporioides* CAUSING ANTHRACNOSE DISEASE OF CHILI (*Capsicum frutescens* L.), Vietnam National University of Agriculture.

Gams, W., Palm, M. E. and Nirenberg, H. I. 1987. *Plectosporium*, a new genus for *Fusarium*, *tablinum*, the anamorph of *Plectosphaerella cucumerina*. 397-406

Illiger, K. S., Sofi, T. A., Bhat, N. A., Ahanger, F. A., Sekhar, J. A., Elhendi, A. Z., Asma, A., Al-Huqail, and Khan, F. 2021. Copper nanoparticles: Green synthesis and managing fruit rot disease of chilli caused by *Colletotrichum capsica*. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28 (2021) 1477–1486.

Nel, B., Steinber, C., Labuschagne, N. and Viljoen, A. 2006. Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of *Fusarium* wilt of banana. *Crop Protection* 26 (2007) 697–705.

Ntasiou, P., Kerou, A. K., Karamanidou, T., Vlachou, A., Tziros, G. T., Tsouknidas, A. and Karaoglanidis, G. S. 2021. Synthesis and Characterization of Novel Copper Nanoparticles

for the Control of Leaf Spot and Anthracnose Diseases of Olive. Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, School of Agriculture, Forestry and Natural Environment, Aristotle University of Thessaloniki.

- Pallem, C., Chabanahalli, S. C., Reddi, B., Hanumanthappa, S., Rajendra, P. P. 2012. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sac. isolates causing anthracnose of orchids in India. Division of Plant Pathology, Indian Institute of Horticultural. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 25 (2020).
- Nguyen, V. T., Thi, M. S. D., and Trinh, K. S. 2020. Antifungal Activity of Gelatin-Tapioca Starch Film and Coating Containing Copper Nanoparticles against *Colletotrichum gloeosporioides* Causing Anthracnose. *Journal of Chemistry*. (a)
- Nguyen, D. T., Nguyen, H. T., Thi, N. T., Phung, H. T. & Trinh, G. N. T. 2023. Antifungal activity against plant pathogens of purely microwave-assisted copper nanoparticles using *Citrus grandis* peel. *Applied Nanoscience* (2023). (b)
- Sanchez, L. P. M., Grijalba, P. A. A., Portela, M. C. P., Sierra, B. E. G., Florez, G. E. M. and Paez, G. A. R. 2020. Antifungal effect of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) on *Colletotrichum* sp., causal agent of anthracnose in coffee crops. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 25 (2020).
- Siddiqi, K. S., & Husen, A. (2020). *Biomaterials Research*, 2020, 24(1).
- Weisanya, W., Samadib, S., Aminic, J., Hossainic, S., Yousefia, S. and Maggid, F. 2019. Enhancement of the antifungal activity of thyme and dill essential oils against *Colletotrichum nymphaeae* by nano-encapsulation with copper NPs. *Industrial Crops and Products* 132 (2019) 213-225.

ประวัติผู้เขียน



ชื่อ - สกุล	นายณัฐพร ถิ่นวงศ์ยอด
วัน/เดือน/ปี เกิด	3 กรกฎาคม 2543
ที่อยู่อาศัย	102/1 หมู่7 ตำบล ตากแดด อำเภอเมืองชุมพร จังหวัดชุมพร
ประวัติการศึกษา	อนุบาล 1-2 โรงเรียนอนุบาลวัดสามแก้ว อำเภอเมืองชุมพร จังหวัดชุมพร ประถมศึกษา 1-6 โรงเรียนอนุบาลชุมพร อำเภอเมืองชุมพร จังหวัดชุมพร มัธยมศึกษาตอนต้น 1-3 โรงเรียนสะอาดผดิมวิทยา อำเภอเมืองชุมพร จังหวัดชุมพร มัธยมศึกษาตอนปลาย 4-6 โรงเรียนศรีयाภัย อำเภอเมืองชุมพร จังหวัดชุมพร ปัจจุบันศึกษาปริญญาตรี หลักสูตรเทคโนโลยีการจัดการผลิตภัณฑ์ ชั้นปีที่4 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขต ชุมพรเขตรอุดมศักดิ์จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้