ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม

Potato dextose agar (PDA) ประกอบด้วย

มันฝรั่ง	200	g.
dextrose	20	g.
วุ้น	17	g.
น้ำกลั่น	1,000	ml.

หั่นมันฝรั่งเป็นรูปสี่เหลี่ยมลูกเต๋า แล้วนำไปต้มในน้ำกลั่น 500 ml. ด้วยไฟปานกลาง นานประมาณ 20 นาที เมื่อมันฝรั่งสุกแล้วกรองเอาแต่น้ำ ต้มวุ้นในน้ำกลั่นจนสุก จากนั้นเติม dextrose ลงไปคนให้ละลาย นำน้ำมันฝรั่งที่เตรียมไว้มาผสมลงไป ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร เทใส่ขวดอาหารขวดละประมาณ 150 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้สนิท แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

Rose bengal agar (RBA) ประกอบด้วย

Malt extract	20	g.
Yeast extract	2	g.
Rose bengal	0.03	g.
Agar	17	g.
Chloramphenical	0.05	g.
น้ำกลั่น	1000	ml.

ละลายส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำ 100 ml. ต้มวุ้นจนสุกแล้วผสมเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร เทใส่ขวดอาหารขวดละประมาณ 150 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้สนิท แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Mixed agar (MA) ประกอบด้วย

มันฝรั่ง	200	g.
dextrose	10	g.
beef extract	8	g.
ถั่วเหลือง	8	g.
แป้งสาลี	8	g.
แป้งข้าวโพด	8	g.
V8	10	ml.
วุ้น	17	g.
น้ำกลั่น	1000	ml.

หั่นมันฝรั่งเป็นรูปสี่เหลี่ยมเล็ก ๆ ต้มจนสุกแล้วกรองเอาแต่น้ำ ต้มถั่วเหลืองจนสุกกรองเอาแต่น้ำ ต้มวุ้นจนสุก ละลายส่วนผสมที่เหลือในน้ำ 100 ml. แล้วเอาส่วนผสมทั้งหมดผสมกัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร เทใส่ขวดอาหารขวดละประมาณ 150 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้สนิท แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

Soybean agar (SBA) ประกอบด้วย

มันฝรั่ง	200	g.
ถั่วเหลือง	20	g.
dextrose	20	g.
วุ้น	17	g.
น้ำกลั่น	1,000	ml.

หั่นมันฝรั่งเป็นรูปสี่เหลี่ยมลูกเต๋า แล้วนำไปต้มในน้ำกลั่น 500 ml. ด้วยไฟปานกลางนานประมาณ 20 นาที เมื่อมันฝรั่งสุกแล้วกรองเอาแต่น้ำ ต้มถั่วเหลืองจนสุก กรองเอาแต่น้ำ ต้มวุ้นในน้ำกลั่นจนสุก จากนั้นเติม dextrose ลงไปคนให้ละลาย นำน้ำมันฝรั่งและน้ำถั่วเหลืองที่เตรียมไว้มาผสมลงไป ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร เทใส่ขวดอาหารขวดละประมาณ 150 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้สนิท นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Malt Yeast Agar (MYA) ประกอบด้วย

Yeast extract	2-5	g.
Malt extract	5	g.
Glucose	10	g.
Agar	17	g.
น้ำกลั่น	1000	ml.

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 100 ml. ต้มวุ้นให้สุกแล้วนำมาผสมกัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร เทใส่ขวดอาหารขวดละประมาณ 150 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้สนิท แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

การทำ slide culture และสไลด์กึ่งถาวร

การทำ slide culture

1. เตรียมอาหาร PDA ในจานอาหารโดยเทอาหารให้หนาประมาณ 2 มิลลิเมตร
2. เมื่ออาหารแข็งตัวดีแล้ว ใช้มีดปลอดเชื้อตัดชิ้นวุ้นให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 0.5 × 0.5 มิลลิเมตร
3. นำชิ้นวุ้นวางบนแผนสไลด์ที่วางอยู่บนแท่งแก้วรูปตัววีในจานอาหารที่ฆ่าเชื้อแล้ว
4. ใช้เข็มเขี่ยเชื้อราแตะบริเวณด้านข้างทั้งสี่ด้านของชิ้นวุ้น
5. คีบแผ่นแก้วปิดสไลด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาปิดบนชิ้นวุ้น พยายามให้ชิ้นวุ้นอยู่บริเวณกลางแผ่นแก้วปิดสไลด์
6. ใส่ก้อนสำลีที่ชุบน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วในจานอาหาร จานละ 1 ก้อน เพื่อช่วยเพิ่มความชื้นและไม่ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเกินไป บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-5 วัน จึงนำมาตรวจสอบลักษณะของเชื้อราที่ต้องการศึกษา

การทำสไลด์กึ่งถาวร

1. ใช้ปากคีบจับแผ่นแก้วปิดสไลด์ออกมาจากชิ้นวุ้น และหยิบชิ้นวุ่นทิ้งไป จะได้ตัวอย่างเชื้อรา 2 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างที่เจริญอยู่บนแผ่นแก้วปิดสไลด์ และตัวอย่างที่เจริญบนแผ่นสไลด์
2. หยดเอทานอล 95 % เพื่อกำจัดสปอร์ที่มากเกินไป และเพื่อไล่ฟองอากาศออกจากเส้นใย ซับด้วยกระดาษทิชชูตรงมุมที่เอทานอลไหลออกมา ระวังอย่าให้เส้นใยเสียหาย
3. หยด lactophenol หรือ lactophenol cotton blue 1 หยด ลงบริเวณที่มีเชื้ออยู่ ปิดทับด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์อันใหม่ ส่วนแผ่นแก้วปิดสไลด์ที่มีเชื้ออยู่นั้น ให้หยดน้ำยาลงบนแผ่นสไลด์แผ่นใหม่แล้ววางด้านที่มีเชื้อราเจริญอยู่ลงบนน้ำยา ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ
4. ใช้เข็มเขี่ยแผ่นแก้วปิดสไลด์ให้ตรง ทาบริเวณขอบของแผ่นแก้วปิดสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บ ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วทาซ้ำอีกรอบ จะได้สไลด์กึ่งถาวรตามต้องการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

ผลวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่1 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเชื้อราเอน โดไฟต์ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. วันที่ 1

Test of Homogenetity of Variances

DAY 1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.341	49	150	0.92

ANOVA

DAY 1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16818.467	49	343.234	9.725	.000
Whithih Groups	5293.937	150	35.293		
Total	22112.404	199			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. วันที่ 3

Test of Homogenetity of Variances

DAY 3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.479	49	150	.000

ANOVA

DAY 3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26311.728	49	536.974	22.781	.000
Whithih Groups	3535.665	150	23.571		
Total	29847.394	199			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. วันที่ 5

Test of Homogenetity of Variances

DAY 5

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.183	49	150	.000

ANOVA

DAY 5

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16369.625	49	334.074	4.123	.000
Whithih Groups	12153.189	150	81.021		
Total	25522.814	199			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. วันที่ 7

Test of Homogenetity of Variances

DAY 7

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.603	49	150	0.92

ANOVA

DAY 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13117.452	49	267.703	4.665	.000
Whithih Groups	8608.310	150	57.389		
Total	21725.762	199			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความสูงที่เพิ่มขึ้นของต้นกล้าลำไย เมื่อมีการฉีดพ่นด้วยเชื้อรา เอนโดไฟต์เป็นเวลานาน 1 เดือน

ANOVA

Growth

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4227.695	4	1056.924	15.752	.000
Whithih Groups	3019.471	45	67.098		
Total	7247.112	49			

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ใบเป็นโรคเมื่อมีการฉีดพ่นด้วยเชื้อราสาเหตุ

Test of Homogenetity of Variances

Leaf infection

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
21.619	9	90	.000

ANOVA

Leaf infection

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13390.966	9	1487.885	10.073	.000
Whithih Groups	13293.467	90	147.705		
Total	26684.434	99			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุ

Test of Homogenetity of Variances

index

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.341	9	90	.000

ANOVA

index

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14725.000	9	1636.111	.000	.000
Whithih Groups	.000	90	.000		
Total	14725.000	99			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาววันพร เข็มมุกด์

วัน เดือน ปี เกิด 28 ธันวาคม พ.ศ. 2521

ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนดาราวิทยาลัย จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2535

สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนยุพราชวิทยาลัย จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2538

สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2543

สำเร็จการศึกษาประกาศนียบัตรบัณฑิตวิชาชีพครู บัณฑิตศึกษา สถาบันราชภัฏเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2544

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved