



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ภาคผนวก ก

การเลี้ยง และเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Beauveria bassiana* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

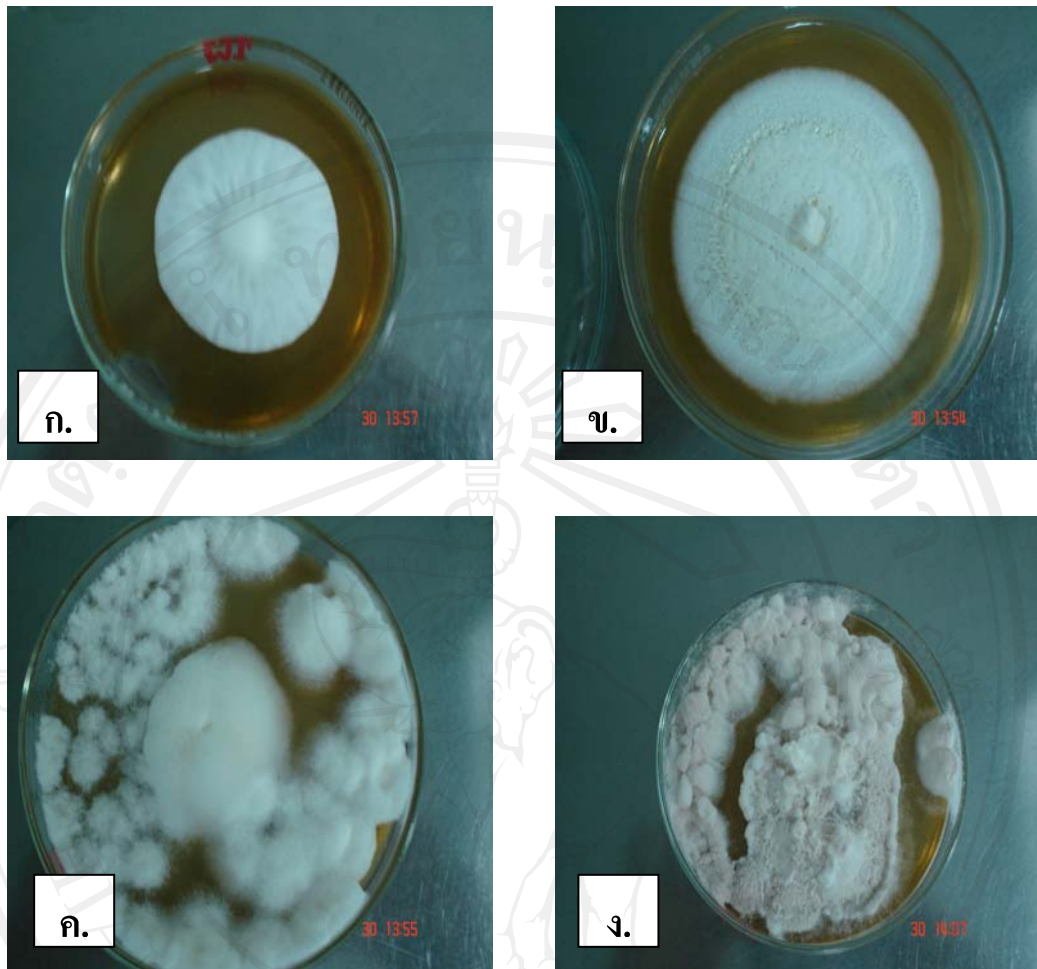
Malt extract peptone agar ; MEA

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Malt extract peptone agar ; MEA

1. Malt extract	3%
2. Soya peptone	0.5%
3. Agar	1.5%
4. น้ำกลั่น	95%

วิธีการ

1. ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA จะชั่งส่วนผสมตามสูตรอาหาร
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที
3. นำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจากหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ ทิ้งไว้ให้อาหารอุ่น (หากเทอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA ที่ยังร้อนจัดจะทำให้มีหยดน้ำเกาะที่ใต้ฝาของจานเลี้ยงเชื้อ และหยดน้ำทำให้หน้าอาหารขึ้นเกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรียได้ง่าย)
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงจานเลี้ยงเชื้อ ภายในตู้เชื้อ (ลนไฟที่ปากขวดอาหารก่อนการเท เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อที่บริเวณปากขวดอาหาร) ตั้งทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA เย็นและแข็งตัว
5. ลนไฟเข็มเขี่ยเชื้อ (needle) ที่มีปลายงอรูปตัว L (เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อ) รอให้เข็มเขี่ยเย็น
6. ปลายเข็มตัดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเส้นใยเชื้อรา *Beauveria bassiana* เจริญอยู่ (เลี้ยงไว้ไม่เกิน 1 เดือน) ให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ใช้เข็มเขี่ยเกี่ยวชิ้นของเส้นใยเชื้อราที่ตัดไว้วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA ที่เตรียมไว้ โดยวางชิ้นของเส้นใยให้อยู่กึ่งกลางของจานเลี้ยงเชื้อ ปิดขอบจานเลี้ยงเชื้อด้วยพาราฟิล์ม (เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของแบคทีเรีย) นำไปเลี้ยงไว้ในอุณหภูมิห้อง (25±2°C) นาน 10-14 วัน



ภาพภาคผนวก 1 ลักษณะการเจริญเติบโต และเส้นใยของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA

ก. เชื้อรา *Beauveria bassiana* 6241 (10 วัน)

ข. เชื้อรา *Beauveria bassiana* 6243 (10 วัน)

ค. เชื้อรา *Beauveria bassiana* 5335 (14 วัน)

ง. เชื้อรา *Beauveria bassiana* 7683 (14 วัน)

ภาคผนวก ข

การเลี้ยง และเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Beauveria bassiana* ในเมล็ดข้าวฟ่าง

วิธีการ

1. ต้มข้าวฟ่างให้เมล็ดข้าวฟ่างอ่อนตัว บรรจุลงถุงพลาสติกชนิดถุงร้อน ถุงละ 300 กรัม ใส่คอกขาดพลาสติกและอุดด้วยสำลี และหุ้มด้วยกระดาษปิดปากถุงให้แน่น
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติหรือหม้อนึ่งลูกทุ่งที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำถุงข้าวฟ่างออกจากหม้อนึ่ง ทิ้งไว้ให้เย็น
3. เปิดถุงข้าวฟ่างที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อในตู้เขี่ยเชื้อ ตัดเชื้อรา *Beauveria bassiana* จากที่เลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA ที่มีอายุการเลี้ยงไม่ต่ำกว่า 30 วัน ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางชั้นละ 1 cm. ใส่งลงในถุงถุงละ 3 ชั้น เขย่าให้เชื้อรากระจายทั่วถุงเมล็ดข้าวฟ่าง ปิดปากถุงให้สนิท นำไปเลี้ยงไว้บนชั้นที่ทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์แล้ว ในอุณหภูมิห้อง (25 ± 2 °C) เขย่าถุงทุก 3 วัน (เพื่อให้เชื้อราที่เจริญเติบโตด้านบนไปผสมกับเมล็ดข้าวฟ่างทางด้านก้นถุง)
4. เชื้อราจะขึ้นคลุมเมล็ดข้าวฟ่างทุกเม็ดภายใน 10 วัน (เชื้อรา *Beauveria bassiana* จะมีสีขาว) จะนำไปใช้ควบคุมแมลงได้ทันที หรือนำไปฝังลงในที่ร่มจนแห้งสนิทก่อน แล้วเก็บไว้ในถุงกระดาษเพื่อนำไปใช้ต่อไป

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวปาริชาติ แก่งอินทร์
วัน เดือน ปี เกิด	26 พฤศจิกายน 2526
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2538	ประถมศึกษา โรงเรียนชุมชนบ้านแก่งฯ จังหวัดอุดรดิตถ์
พ.ศ. 2541	มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนตรอนศรีสินธุ์ จังหวัดอุดรดิตถ์
พ.ศ. 2544	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนตรอนศรีสินธุ์ จังหวัดอุดรดิตถ์
พ.ศ. 2548	ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สัตวศาสตร์) มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ จังหวัดแพร่
พ.ศ. 2549	ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผลงานทางวิชาการ

ปาริชาติ แก่งอินทร์ นุชา สิมะสาธิตกุล มาลี ตั้งระเบียบ และ กรกฎ งานวงศ์พานิชย์. 2550. การงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยสารกำจัดเห็บ. สัมมนาวิชาการบัณฑิตศึกษาเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 5. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างวันที่ 3 – 4 ธันวาคม 2550. วารสารเกษตร. 23 (ฉบับพิเศษ) : หน้า 343 – 347

Parichart Keang - In Nucha Simasatitkul Malee Thungrabeab and Korakot Nganvongpanit. 2552. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* to Engorged Female, Eggs and Larvae Cattle Tick (*Boophilus microplus*, Canestrini). International Conference on the Role of Universities in Hands-On Education Chiang-Mai, Thailand 23-29 August 2009.