ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการสกัดแยกดีเอ็นเอ

1. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

ในการเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการสกัดแยกดีเอ็นเอต้องเตรียม stock solution ก่อนดังนี้

1.1 **phenol: chloroform: isoamyl alcohol (25:24:1)** (50 มิลลิลิตร)

ผสมสารละลาย phenol 25 มิลลิลิตร กับ chloroform 24 มิลลิลิตรและ isoamyl alcohol 1 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.2 **5M NaCl** (50 มิลลิลิตร)

ชั่งสาร NaCl มาจำนวน 14.61 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 50มิลลิลิตร

1.3 **0.5 M EDTA (pH 8.0)** (100 มิลลิลิตร)

ชั่งสาร disodium ethylenediamine tetraacetate.2H_2O (EDTA) มาจำนวน 18.612 กรัม ละลายในน้ำ 80 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 8.0 แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 ด้วยน้ำกลั่นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

1.4 **1 M Tris-HCl pH 8.0** (100 มิลลิลิตร)

ชั่งสาร Tris-HCl มาจำนวน 15.76 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตรปรับ pH ให้ได้ 8.0 แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 ด้วยน้ำกลั่นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

1.5 **70% ethanol**

ผสมสารละลาย ethanol 70 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 30 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.6 **10% SDS**

ละลาย SDS 1 กรัมในน้ำ 10 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การเตรียมสารละลายสำหรับเจลอิเล็คโตรโฟรีซิส

2.1 **5X TBE buffer** (1 ลิตร)

Tris base	54	กรัม
Boric acid	27.5	กรัม
500 mM EDTA pH 8.0	20	มิลลิลิตร

นำสาร Tris base และ Boric acid มาละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติม EDTA pH 8.0 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตรจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

2.2 **1% อะกาโรสเจล (agarose gel)** (30 มิลลิลิตร)

Agarose gel	0.3	กรัม
0.5X TBE buffer	30	มิลลิลิตร

ชั่งอะกาโรสเจล 0.3 กรัม ละลายใน 0.5X TBE buffer ปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหลอมละลายโดยใช้ไมโครเวฟ ทิ้งให้เย็นสักครู่จึงเทลงในถาดที่เตรียมไว้ ปล่อยให้เจลแข็งตัวประมาณครึ่งชั่วโมง ค่อยๆ ดึงหวีออก ย้ายแผ่นเจลใส่ในเครื่อง electrophoresis gel tank แล้วเติม TBE buffer ให้ท่วมผิวหน้าเจล

Mastermix for 50 µl of end solution

Reagents	Volume (µl)/ reaction	Final conc.
10x PCR buffer	5.0	1x
$MgCl_2$ 50 mM	2.0	2.5 mM
dNTPs mixed 5 mM	2.0	0.2 mM
Primer 20 µM CAPFW	1.0	0.5 µM
Primer 20 µM CAPRV2	1.0	0.5 µM
Tag Polymerase (5u/µl)	0.5	0.5 u
dH_2O	37.5	
DNA sample	1.0	

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

อาหารเลี้ยงเชื้อและการเตรียม

1. Potato Dextose Agar (PDA)

ส่วนประกอบ

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาล Dextose	20	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ปอกเปลือกมันฝรั่งแล้วล้างให้สะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วต้มให้จนสุกในน้ำ 500 มิลลิลิตร กรองด้วยผ้าขาวบางเอาแต่น้ำ ผสมวุ้น ในน้ำ 500 มิลลิลิตร นำไปต้มแล้วผสมกับน้ำมันฝรั่งที่กรองได้ เติมน้ำตาล Dextose คนให้ละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที

2. NA (Nutrient Agar)

ส่วนประกอบ

Peptone	5	กรัม
Beef extract	3	กรัม
Agar	17	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลาย peptone และ beef extract ในน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตรให้เข้ากัน ละลายผงวุ้นในน้ำธรรมดาปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปต้มให้สุก จากนั้นนำไปผสมกับสารละลาย peptone และ beef extract คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. Motility medium

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

4. Simmons citrate agar

$(NH_4)H_2PO_4$	1	กรัม
K_2HPO_4	1	กรัม
NaCl	5	กรัม
Sodium citrate	2	กรัม
$MnSO_4.7\ H_2O$	0.2	กรัม
Brom thimol Blue	0.08	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

5. Motile-Nitrate Pyocyanin (MNP) medium

Nitrate medium (Difco) ประกอบด้วย

Bacto tryptose	20	กรัม
Bacto dextrose	1	กรัม
Na_2PO_4	2	กรัม
ผงวุ้น	2	กรัม
NaCl	5	กรัม
$MgCl_2$	1.4	กรัม
K_2SO_4	10	กรัม
Glycerol	10	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับ pH ให้ได้ 7.2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. Starch agar

Soluble starch	2	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

7. Urea agar slant (Gibco)

Peptone 190	1	กรัม
(Pancreatic digest of gelatin)		
Dextrose	1	กรัม
NaCl	5	กรัม
K_3PO_4 (monobasic)	2	กรัม
Urea	20	กรัม
Phenol red	0.012	กรัม

ปรับ pH. ให้ได้ 6.8 ± 0.2

8. Czapek's medium (ใช้ในการทดสอบการย่อยฟอสเฟต)

Sucrose	30	กรัม
$NaNO_3$	2	กรัม
Ca_3HPO_4	1	กรัม

(ถ้าไม่มีให้ใช้ $CO_3(PO_4)_2$ 0.9 กรัม แทน)

KCl	1.4	กรัม
$MgSO_4.7\ H_2O$	0.5	กรัม
$FeSO_4.7\ H_2O$	0.01	กรัม
Congo red	0.035	กรัม (ใส่หลังจากปรับ pH แล้ว)
Agar	15	กรัม

ปรับ pH ให้เป็น 7.3 ± 0.2

9. CMC medium

$(NH_4)_2SO_4$	2.5	กรัม
KH_2PO_4	0.25	กรัม
NaCl	0.01	กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$MgSO_4.7\ H_2O$	0.125	กรัม
$FeSO_4.7\ H_2O$	0.0025	กรัม
Yeast extract	1.0	กรัม
CMC	5.0	กรัม
Agar	15	กรัม

ปรับ pH ให้เป็น 7.2

วิธีการเตรียม

ละลาย CMC 5 กรัม ในน้ำ 250-500 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อน แล้วเติมส่วนผสมอื่นๆ ลงไป ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

สีและน้ำยาที่ใช้ย้อม

Gram's stain

1. Crystal violet

สารละลาย A

Crystal violet (85% dye)	2.0	กรัม
Ethyl alcohol 95%	20	กรัม

ละลายสีในแอลกอฮอลจนสีละลายหมด

สารละลาย B

Ammonium oxalate	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย A กับสารละลาย B ถ้ามีตะกอน กรองก่อนใช้ ถ้าสีเข้มข้นเกินไป อาจเจือจางสารละลาย A เป็น 1:10 ก่อนผสมสารละลาย B

2. Safranin O counterstain (stock solution)

Safranin O	2.5	กรัม
Ethyl alcohol 95%	100	มิลลิลิตร

ถ้าจะใช้สีย้อมให้เจือจางเป็น 1:10 (stock Safranin O 10 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร ถ้ามีตะกอน กรองก่อนการใช้ทุกครั้ง)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. Gram's iodine solution (mordant)

Iodine (crystal)	1	กรัม
Potassium iodine (KI)	2	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

4. Alcohol-acetone (decolorizer)

Ethyl alcohol 95%	250	มิลลิลิตร
Acetone	250	มิลลิลิตร

Reagent ที่ใช้ในการทดสอบ

1. 3% Hydrogen peroxide solution

H_2O_2	3	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

2. Lugol's iodine

Iodine	5	กรัม
KI	10	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลาย KI ในน้ำจนหมดแล้วจึงค่อยๆ เติมผลึกไอโอดีนลงไปจนละลายหมด เติมน้ำให้สารละลายนี้เจือจาง 5 เท่า

3. Kovac's reagent

Amyl or Isoamyl alcohol	150	มิลลิลิตร
p- dimethyl aminobenzaldehyde	10	กรัม
HCl (Conc.)	50	มิลลิลิตร

ละลาย aldehyde ใน Amyl หรือ Isoamyl alcoholก่อนแล้วค่อยๆเติมกรดลงไปช้าๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4. Nitrate reagent

สารละลาย nitrate A ประกอบด้วย

Sulfanilic acid	5	กรัม
Acetic acid 5N	1000	มิลลิลิตร

สารละลาย nitrate B ประกอบด้วย

α-napthylamine	5	กรัม
Acetic acid 5N	1000	มิลลิลิตร

5. VP reagent

สารละลาย VP A คือ 5% α-napthol in 95% ethyl alcohol

สารละลาย VP B คือ 0.3 % creatinnnin in 40% KOH

6. MR reagent

Methyl red	0.5	กรัม
Ethyl alcohol 95%	300	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

ละลายสีใน Ethyl alcohol 95% ก่อนแล้วเติมน้ำกลั่น

7. 0.1% Congo red

Congo red	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

8. 1M NaCl

NaCl	58.44	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

การทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของแบคทีเรียปฏิปักษ์

1. การทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา

การย้อมสีแบบแกรม (Gram staining)

วิธีการย้อมสีแบบแกรม (gram's stain) เริ่มจากทำความสะอาดสไลด์และทำให้แห้ง โดยวิธีการผ่านไฟหรือเช็ดด้วยกระดาษหรือผ้าสะอาด แล้ว smear เชื้อที่ต้องการจากเชื้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง ทำโดยใช้ loop จุ่มน้ำแตะลงบนสไลด์ 1-2 loop แล้วใช้ loop ที่ฆ่าเชื้อ เขี่ยเชื้อมาเพียงเล็กน้อย แตะเชื้อลงบนหยดน้ำ แล้วเกลี่ยเชื้อให้กระจายออกเป็นวงเล็กๆ ทิ้งให้แห้ง จากนั้นทำการตรึง (fixing of the smear) เพื่อทำให้เซลล์ติดแน่นกับสไลด์ โดยการนำสไลด์ลนผ่านเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง หยดสี Crystal violet ให้ท่วมรอย smear ทิ้งไว้นาน 1 นาที เทสีที่เหลือค้างบนสไลด์ลงในอ่างน้ำ แล้วชะด้วยสารละลายไอโอดีน หลังจากนั้น หยดสารละลายไอโอดีนให้ท่วมรอย smear และทิ้งไว้นาน 1 นาที หลังจากนั้นเทสารละลายไอโอดีนทิ้ง แล้วชะด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ 95% จนกระทั่งไม่มีสีม่วงละลายออกมา แต่อย่าทำให้เกิน 20 วินาที แล้วล้างน้ำทันที โดยให้น้ำผ่านเบาๆ ซับด้วยกระดาษซับ แล้วย้อมทับด้วยการหยดสี Safranin-O ให้ท่วมรอย smear ทิ้งไว้นาน 1 นาที เทสีทิ้ง ล้างด้วยน้ำ แล้วซับด้วยกระดาษซับวางทิ้งให้แห้ง นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ตรวจดูลักษณะการติดสีแกรม รูปร่าง และการเรียงตัวของแบคทีเรีย

2. การศึกษาคุณสมบัติทางด้านชีวเคมี (biological characteristic)

ศึกษาถึงผลของปฏิกิริยาของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีผลต่อสารเคมีที่เติมลงในอาหารและดูปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ดังต่อไปนี้

การทดสอบการย่อยแป้ง (Starch hydrolysis Test)

วิธีการทดสอบ

1. ใช้เชื้ออายุ 24 ชั่วโมงมาเลี้ยงใน starch agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 2-3 วัน
2. หยดสารละลายไอโอดีน 2-3 หยด ลงบนอาหาร อ่านผลทันที

   ผลบวก อาหารเป็นสีน้ำเงิน แต่บริเวณรอบๆโคโลนีไม่มีสี

   ผลลบ เป็นสีน้ำเงินหมด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดสอบแคตาเลส (Catalase test)

วิธีการทดสอบ

1. หยด H_2O_2 ที่มีความเข้มข้น 3 % 1 หยด ลงบนสไลด์
2. ใช้ห่วงเขี่ยเชื้ออายุ 24 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อลงไปทำการผสมให้เข้ากัน

   ผลบวก เกิดฟองแก๊ส

   ผลลบ ไม่มีฟอง

การใช้ซิเตรท(Citrate Utilization Test)

วิธีการทดสอบ

1. เขี่ยเชื้อแบคทีเรียลงบนผิวอาหารวุ้นเอียง (Simmons' Citrate agar)
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-28 ชั่วโมง (สูงสุด 7 วัน)

   ผลบวก มีการเจริญอาหารเปลี่ยนสีจากเขียวเป็นน้ำเงิน

   ผลลบ ไม่มีการเจริญ สีของอาหารไม่เปลี่ยน

การศึกษาความสามารถในการเคลื่อนที่

วิธีการทดสอบ

1. นำเชื้อแบคทีเรียอายุประมาณ 24 ชั่วโมงมา stab ลงในอาหาร motility test
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิห้องนาน 24-48 ชั่วโมง

   ผลบวก เชื้อกระจายไปจากแนวที่ stab ไว้

   ผลลบ เชื้อไม่มีการกระจายจากแนวที่ stab ไว้

การศึกษาความสามารถในการเจริญใน 6.5% NaCl

วิธีการทดสอบ

1. ใช้ห่วงถ่ายเชื้อลนไฟแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบใส่ในอาหาร 6.5 % NaCl
2. บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

   ผลบวก อาหารทดสอบขุ่นเนื่องจากมีการเจริญของเชื้อ

   ผลลบ อาหารทดสอบไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดสอบ MR (Methyl red)

วิธีการทดสอบ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหาร MR –VP medium บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน
2. หยด methyl red solution 5-6 หยด

   ผลบวก สีแดงสด

   ผลลบ เหลืองหรือส้ม

การทดสอบ Indole Test

วิธีทดสอบ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารเหลว tryptone เป็นเวลา 4 วัน
2. หยด Kovac's reagent 5-6 หยด

   ผลบวก สีแดงที่ผิวชั้นบน

   ผลลบ ไม่เกิดสี

การทดสอบ VP Test (Voges - Proskaur)

วิธีการทดสอบ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหาร MR –VP medium บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน
2. หยด 5% α-naphthal solution 3-5 หยด
3. หยด 40% KOH 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน

   ผลบวก สีแดงภายใน 5 นาที

   ผลลบ สีเหลือง

การทดสอบออกซิเดส (Oxidase test)

วิธีทดสอบ

1. วางกระดาษชื้นที่อิ่มด้วย 0.5 % tetramethyl-p-phenylenediamine HCl ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
2. ใช้ loop เขี่ยโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบโดยลากโคโลนีไปมาบนกระดาษ

   ผลบวก เกิดสีม่วงเข้มภายใน 1 วินาที

   ผลลบ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดสอบยูรีเอส (Urease Test)

วิธีการทดสอบ

1. ปลูกเชื้อลงบนอาหารวุ้นเอียงโดยใช้เชื้อที่มีอายุน้อย (18-24 ชั่วโมง) ด้วยปริมาณเพียงเล็กน้อย ซึ่งการใช้เชื้อที่มีอายุน้อยเพื่อป้องกันไม่ให้มีการปะปนของเซลล์ที่ตายแล้วหรือสิ่งเจือปนอื่นๆ ที่เกิดจากการเจริญของเซลล์ ซึ่งจะไปรบกวนการอ่านผลการทดสอบ
2. บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

   ผลบวก อาหารเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีบานเย็น

   ผลลบ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

การทดสอบการรีดิวซ์ไนเตรท

วิธีการทดสอบ

1. Stab เชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหาร MNP (Motile Nitrate Pyocyanin)
2. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24- 48 ชั่วโมง
3. หยดสารละลาย nitrate A และ nitrate B อัตราส่วน 1:1

   ผลบวก เกิดสีแดงเข้มทันที

   ผลลบ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

การทดสอบการสร้างสาร Pyocyanin

วิธีการทดสอบ

1. Stab เชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหาร MNP (Motile Nitrate Pyocyanin)
2. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24- 48 ชั่วโมง

   ผลบวก อาหารส่วนบนเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียว

   ผลลบ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

การทดสอบการออกซิไดส์และการหมัก (Oxidation-Fermentation Test)

วิธีทดสอบ

1. Stab เชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหาร Oxidation-Fermentation (OF)
2. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24- 48 ชั่วโมง

   ผลบวก อาหารส่วนบนเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียว

   ผลลบ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดสอบการหมักน้ำตาลอราบิโนส (Arabinose Fermentation Test)

วิธีทดสอบ

1. ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลอราบิโนส
2. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24- 48 ชั่วโมง

ผลบวก อาหารเปลี่ยนเป็นสีแดง

ผลลบ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

การทดสอบการหมักน้ำตาลแมนนิทอล (Manitol Fermentation Test)

วิธีทดสอบ

1. ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลแมนิทอล
2. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24- 48 ชั่วโมง

ผลบวก อาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

ผลลบ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

การทดสอบการย่อยเซลลูโลส

วิธีการทดสอบ

1. วางกระดาษกรองที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตรชุบโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบ วางบนอาหาร CMC medium
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-28 ชั่วโมง
3. ตรวจดูการสร้างเอนไซม์ cellulase โดยการย้อมด้วย congo red 0.1% นาน 3-5 นาที
4. ล้างด้วย 1 M NaCl 2-3 ครั้ง

ผลบวก เกิดวงใส (clear zone) รอบๆ โคโลนี

ผลลบ ไม่เกิดวงใส (clear zone) รอบๆ โคโลนี

การทดสอบการย่อยฟอสเฟต

วิธีการทดสอบ

1. วางกระดาษกรองที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตรชุบโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบ วางบนอาหาร Czapek's medium
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-28 ชั่วโมง

ผลบวก เกิดวงใส (clear zone) รอบๆ โคโลนี

ผลลบ ไม่เกิดวงใส (clear zone) รอบๆ โคโลนี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

การจำแนกชนิดของแบคทีเรียปฏิปักษ์

BiOLOG — **Gram Positive Identification Test Panel**

GP2 MicroPlate™

A1 Water	A2 α-Cyclodextrin	A3 β-Cyclodextrin	A4 Dextrin	A5 Glycogen	A6 Inulin	A7 Mannan	A8 Tween 40	A9 Tween 80	A10 N-Acetyl-D-Glucosamine	A11 N-Acetyl-β-D-Mannosamine	A12 Amygdalin
B1 L-Arabinose	B2 D-Arabitol	B3 Arbutin	B4 D-Cellobiose	B5 D-Fructose	B6 L-Fucose	B7 D-Galactose	B8 D-Galacturonic Acid	B9 Gentiobiose	B10 D-Gluconic Acid	B11 α-D-Glucose	B12 m-Inositol
C1 α-D-Lactose	C2 Lactulose	C3 Maltose	C4 Maltotriose	C5 D-Mannitol	C6 D-Mannose	C7 D-Melezitose	C8 D-Melibiose	C9 α-Methyl-D-Galactoside	C10 β-Methyl-D-Galactoside	C11 3-Methyl Glucose	C12 α-Methyl-D-Glucoside
D1 β-Methyl-D-Glucoside	D2 α-Methyl-D-Mannoside	D3 Palatinose	D4 D-Psicose	D5 D-Raffinose	D6 L-Rhamnose	D7 D-Ribose	D8 Salicin	D9 Sedoheptulosan	D10 D-Sorbitol	D11 Stachyose	D12 Sucrose
E1 D-Tagatose	E2 D-Trehalose	E3 Turanose	E4 Xylitol	E5 D-Xylose	E6 Acetic Acid	E7 α-Hydroxybutyric Acid	E8 β-Hydroxybutyric Acid	E9 γ-Hydroxybutyric Acid	E10 p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	E11 α-Ketoglutaric Acid	E12 α-Ketovaleric Acid
F1 Lactamide	F2 D-Lactic Acid Methyl Ester	F3 L-Lactic Acid	F4 D-Malic Acid	F5 L-Malic Acid	F6 Pyruvatic Acid Methyl Ester	F7 Succinic Acid Mono-methyl Ester	F8 Propionic Acid	F9 Pyruvic Acid	F10 Succinamic Acid	F11 Succinic Acid	F12 N-Acetyl-L-Glutamic Acid
G1 L-Alaninamide	G2 D-Alanine	G3 L-Alanine	G4 L-Alanyl-Glycine	G5 L-Asparagine	G6 L-Glutamic Acid	G7 Glycyl- L-Glutamic Acid	G8 L-Pyroglutamic Acid	G9 L-Serine	G10 Putrescine	G11 2,3-Butanediol	G12 Glycerol
H1 Adenosine	H2 2'-Deoxy Adenosine	H3 Inosine	H4 Thymidine	H5 Uridine	H6 Adenosine-5'-Monophosphate	H7 Thymidine-5'-Monophosphate	H8 Uridine-5'-Monophosphate	H9 D-Fructose-6-Phosphate	H10 α-D-Glucose-1-Phosphate	H11 D-Glucose-6-Phosphate	H12 D,L-α-Glycerol Phosphate

FIGURE 1. Carbon Sources in GP2 MicroPlate

INTRODUCTION

The Biolog GP2 MicroPlate (Figure 1) is designed for identification and characterization of a very wide range of aerobic gram-positive bacteria. Biolog's MicroPlates and databases were first introduced in 1989, employing a novel, patented redox chemistry. This chemistry, based on reduction of tetrazolium, responds to the process of metabolism (i.e. respiration) rather than to metabolic by-products (e.g. acid). Biolog's chemistry works as a universal reporter of metabolism and simplifies the testing process as color developing chemicals do not need to be added. Since the GP2 MicroPlate is not dependent upon growth to produce identifications, it provides superior capability for all types of gram positive organisms: cocci, rods, and spore-forming rods all are identified with a single panel. The database for the GP2 MicroPlate is now over 310 species. It is by far the largest kit-based identification database available.

GP2 MICROPLATE

The Biolog GP2 MicroPlate performs 95 discrete tests simultaneously and gives a characteristic reaction pattern called a "metabolic fingerprint". These fingerprint reaction patterns provide a vast amount of information conveniently contained in a single Biolog MicroPlate. The metabolic fingerprint patterns are compared and identified using the MicroLog™ database software.

Other aerobic kit-based identification methods rely on a much smaller number of tests. Consequently, the significant limitation of these products is the limited number of species and organism types that they can identify. Furthermore, these products were designed to address the needs of routine clinical/hospital testing. The Biolog GP2 MicroPlate was designed to address the needs of a much wider range of users including environmental testing labs and animal and plant disease labs as well as clinical reference labs.

ภาพ 1 ตำแหน่งของแหล่งคาร์บอน (carbon source) แต่ละชนิดใน GP2 MicroPlate™ จากเครื่อง Biolog™ Microlog System, Release 4.2 เพื่อใช้ในการจำแนกเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Program	: Biolog MicroLog3 4.20
Read From File	: D:\labwork\060608.D4C
Save To File	: D:\labwork\060608.D4C
Unrestricted Access?	: Yes
Read Time	: มิ.ย. 06 2008 19:13
Parent File	: Original Data Record
Plate Number	: 1
Incubation Time	: 16-24
Sample Number	: Plate Type: GP2
Strain Type	: GP-ROD SB
Strain Number	:
Strain Name	: SP20
Other	: 14 hr
Data Input Mode	: File
590/750 Filters Used	: 6 / 5
Threshold Mode	: Manual: Color: 55/94
Number +/b/- Reactions	: 27 / 23 / 46
Database To Search	: MicroLog
Data Base(s) Searched	: C:\Biolog420\Databases\GP602.KID

Key : <X>: positive; <X-: mismatched positive; X: negative; X+: mismatched negative
{X}: borderline; -X: less than A1 well

Color	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	47	< 114>	< 163>	54	19	31	< 260>	< 333>	< 174>	47	48
B	{ 83}	-1	{ 62}	< 174>	< 211>	19	{ 61}	41	< 132>	{ 82}	< 264>	53
C	4	2	{ 92}	44	< 144>	< 194>	50	{ 72}	36	18	< 147>	< 112>
D	39	-9	< 109>	< 119>	{ 70}	35	< 145>	{ 75}	{ 71}	< 139>	37	< 198>
E	15	< 183>	{ 85}	23	< 146>	25	-11	36	46	15	47	{ 58}
F	1	26	37	-24	{ 69}	{ 71}	{ 56}	-7	< 138>	38	{ 58}	44
G	16	23	{ 61}	{ 57}	{ 83}	{ 77}	21	{ 57}	{ 67}	41	{ 82}	< 106>
H	< 117>	< 103>	< 112>	< 122>	< 134>	13	12	17	16	8	26	{ 78}

=> Species ID: Bacillus amyloliquefaciens <=

Species	PROB	SIM	DIST	TYPE
=>1) Bacillus amyloliquefaciens	98	0.69	4.47	GP-ROD SB
2) Bacillus megaterium	2	0.01	5.88	GP-ROD SB
3) Bacillus subtilis	0	0.00	7.97	GP-ROD SB
4) Bacillus subtilis(ATCC 6633)	0	0.00	9.00	GP-ROD SB
5) Bacillus licheniformis	0	0.00	9.30	GP-ROD SB
6) Bacillus psychrosaccharolyticus	0	0.00	9.50	GP-ROD SB
7) Bacillus pumilus	0	0.00	9.58	GP-ROD SB
8) Bacillus maroccanus	0	0.00	10.71	GP-ROD SB
9) Bacillus anthracis subgroup D	0	0.00	10.93	GP-ROD SB
10) Virgibacillus pantothenticus	0	0.00	11.12	GP-ROD SB
Other)				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 2 ผลการจำแนกแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SPRB 20

BIOLOG **Gram Negative Identification Test Panel**

GN2 MicroPlate™

A1 Water	A2 α-Cyclodextrin	A3 Dextrin	A4 Glycogen	A5 Tween 40	A6 Tween 80	A7 N-Acetyl-D-Galactosamine	A8 N-Acetyl-D-Glucosamine	A9 Adonitol	A10 L-Arabinose	A11 D-Arabitol	A12 D-Cellobiose
B1 I-Erythritol	B2 D-Fructose	B3 L-Fucose	B4 D-Galactose	B5 Gentiobiose	B6 α-D-Glucose	B7 m-Inositol	B8 α-D-Lactose	B9 Lactulose	B10 Maltose	B11 D-Mannitol	B12 D-Mannose
C1 D-Melibiose	C2 β-Methyl-D-Glucoside	C3 D-Psicose	C4 D-Raffinose	C5 L-Rhamnose	C6 D-Sorbitol	C7 Sucrose	C8 D-Trehalose	C9 Turanose	C10 Xylitol	C11 Pyruvic Acid Methyl Ester	C12 Succinic Acid Mono-Methyl-Ester
D1 Acetic Acid	D2 Cis-Aconitic Acid	D3 Citric Acid	D4 Formic Acid	D5 D-Galactonic Acid Lactone	D6 D-Galacturonic Acid	D7 D-Gluconic Acid	D8 D-Glucosaminic Acid	D9 D-Glucuronic Acid	D10 α-Hydroxybutyric Acid	D11 β-Hydroxybutyric Acid	D12 γ-Hydroxybutyric Acid
E1 p-Hydroxy Phenylacetic Acid	E2 Itaconic Acid	E3 α-Keto Butyric Acid	E4 α-Keto Glutaric Acid	E5 α-Keto Valeric Acid	E6 D,L-Lactic Acid	E7 Malonic Acid	E8 Propionic Acid	E9 Quinic Acid	E10 D-Saccharic Acid	E11 Sebacic Acid	E12 Succinic Acid
F1 Bromosuccinic Acid	F2 Succinamic Acid	F3 Glucuronamide	F4 L-Alaninamide	F5 D-Alanine	F6 L-Alanine	F7 L-Alanyl-glycine	F8 L-Asparagine	F9 L-Aspartic Acid	F10 L-Glutamic Acid	F11 Glycyl-L-Aspartic Acid	F12 Glycyl-L-Glutamic Acid
G1 L-Histidine	G2 Hydroxy-L-Proline	G3 L-Leucine	G4 L-Ornithine	G5 L-Phenylalanine	G6 L-Proline	G7 L-Pyroglutamic Acid	G8 D-Serine	G9 L-Serine	G10 L-Threonine	G11 D,L-Carnitine	G12 γ-Amino Butyric Acid
H1 Urocanic Acid	H2 Inosine	H3 Uridine	H4 Thymidine	H5 Phenyethyl-amine	H6 Putrescine	H7 2-Aminoethanol	H8 2,3-Butanediol	H9 Glycerol	H10 D,L-α-Glycerol Phosphate	H11 α-D-Glucose-1-Phosphate	H12 D-Glucose-6-Phosphate

FIGURE 1. Carbon Sources in GN2 MicroPlate

INTRODUCTION

The Biolog GN2 MicroPlate (Figure 1) is designed for identification and characterization of a very wide range of aerobic gram-negative bacteria. Biolog's MicroPlates and databases were first introduced in 1989, employing a novel, patented redox chemistry. This chemistry, based on reduction of tetrazolium, responds to the process of metabolism (i.e. respiration) rather than to metabolic by-products (e.g. acid). Biolog's chemistry works as a universal reporter of metabolism and simplifies the testing process as color developing chemicals do not need to be added. Since the GN2 MicroPlate is not dependent upon growth to produce identifications, it provides superior capability for all types of gram negative organisms: fermenters, non-fermenters, and fastidious organisms all are identified with a single panel. The database for the GN2 MicroPlate is now over 500 species. It is by far the largest kit-based identification database available.

GN2 MICROPLATE

The Biolog GN2 MicroPlate performs 95 discrete tests simultaneously and gives a characteristic reaction pattern called a "metabolic fingerprint". These fingerprint reaction patterns provide a vast amount of information conveniently contained in a single Biolog MicroPlate. The metabolic fingerprint patterns are compared and identified using the MicroLog™ database software.

Other aerobic kit-based identification methods rely on a much smaller number of tests. Consequently, the significant limitation of these products is the limited number of species and organism types that they can identify. Furthermore, these products were designed to address the needs of routine clinical/hospital testing. The Biolog GN2 MicroPlate was designed to address the needs of a much wider range of users including environmental testing labs and animal and plant disease labs as well as clinical reference labs.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 3 ตำแหน่งของแหล่งคาร์บอน (carbon source) แต่ละชนิดใน GN2 Microplate ™ จากเครื่อง Biolog ™ Microlog System, Release 4.2 เพื่อใช้ในการจำแนกเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ

Program	: Biolog MicroLog3 4.20
Read From File	: D:\labwork\pae-28-05-08.D4C
Save To File	: ....
Unrestricted Access?	: Yes
Read Time	: พ.ค. 28 2008 15:40
Parent File	: Original Data Record
Plate Number	: 1
Incubation Time	: 16-24
Sample Number	: SPS27 Plate Type: GN2
Strain Type	: GN-NENT OXI+
Strain Number	:
Strain Name	:
Other	: 23ชม
Data Input Mode	: File
590/750 Filters Used	: 6 / 5
Threshold Mode	: Automatic: Color: 64/94
Number +/b/- Reactions	: 38 / 10 / 48
Database To Search	: MicroLog
Data Base(s) Searched	: C:\Biolog420\Databases\GN602.KID

Key : <X>: positive; <X-: mismatched positive; X: negative; X+: mismatched negative
{X}: borderline; -X: less than A1 well

Color	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	-7	{ 65}	< 111>	< 107>	{ 71}	-7	12	-3	< 271>	31	56
B	-4	< 107>	-13	27	9	< 250>	-12	-11	-1	-9	< 159>	{ 79}
C	30	-8	49	-5	-12	3	-4	30	30	-5	< 100>	< 104>
D	{ 78}	< 230>	< 342>	< 134>	-15	-1	< 256>	-11	2	{ 71}	< 162>	-1
E	< 275>	< 207>	{ 83}	< 261>	< 153>	< 170>	-9	< 203>	< 146>	2	-2	< 162>
F	< 277>	36	13	{ 81}	< 181>	< 161>	< 122>	< 464>	< 355>	< 307>	47	57
G	3	< 109>	25	< 142>	-3	< 158>	< 228>	24	< 185>	< 121>	{ 80}	< 194>
H	12	< 131>	15	5	1	< 142>	{ 80}	27	< 141>	36	0	{ 67}

=> Species ID: Pseudomonas aeruginosa <=

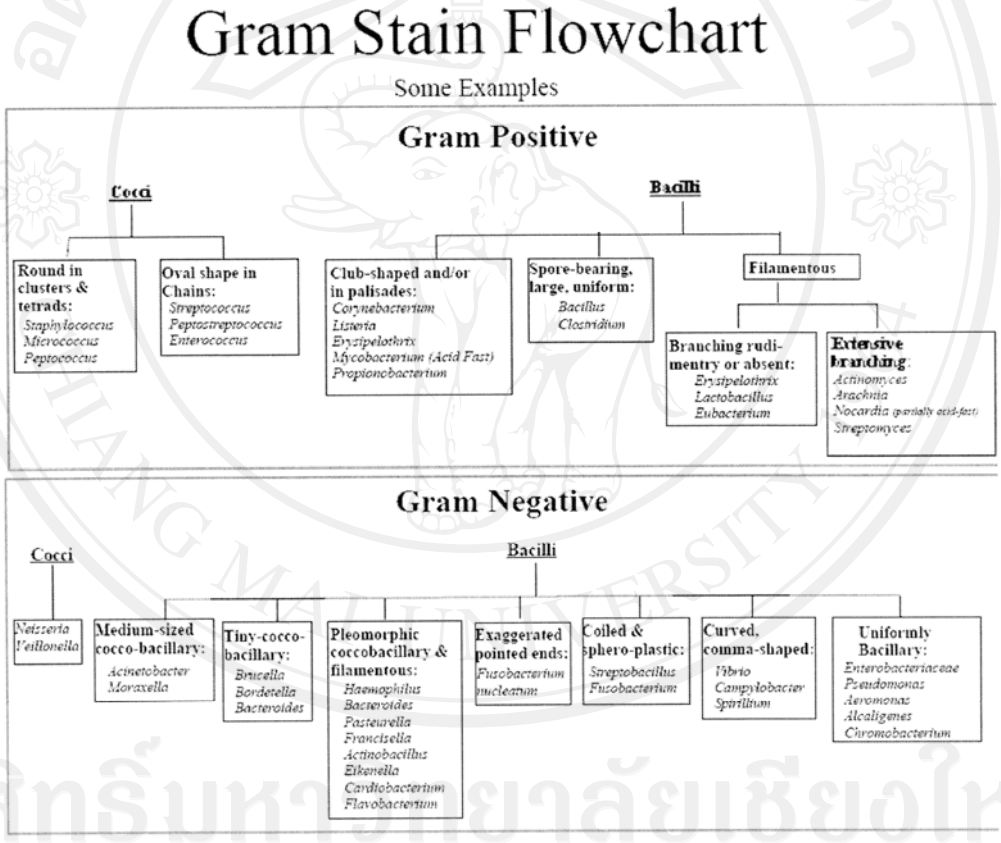
Species	PROB	SIM	DIST	TYPE
=>1) Pseudomonas aeruginosa	100	0.65	5.42	GN-NENT OXI+
2) Pseudomonas putida biotype B	0	0.00	10.91	GN-NENT OXI+
3) Pseudomonas fulva	0	0.00	10.98	GN-NENT OXI+
4) Pseudomonas pseudoalcaligenes ss pseudoalcaligenes	0	0.00	11.16	GN-NENT OXI+
5) Pseudomonas lundensis	0	0.00	11.33	GN-NENT OXI+
6) Burkholderia caryophylli	0	0.00	11.37	GN-NENT OXI+
7) Pseudomonas nitroreducens/azelaica	0	0.00	11.62	GN-NENT OXI+
8) Pseudomonas putida biotype A	0	0.00	11.63	GN-NENT OXI+
9) Pseudomonas citronellolis	0	0.00	12.10	GN-NENT OXI+
10) Pseudomonas putida	0	0.00	12.18	GN-NENT OXI+
Other)				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 4 ผลการจำแนกแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SPSB 27

Identification flow charts

Differentiation via Gram stains and cell morphology

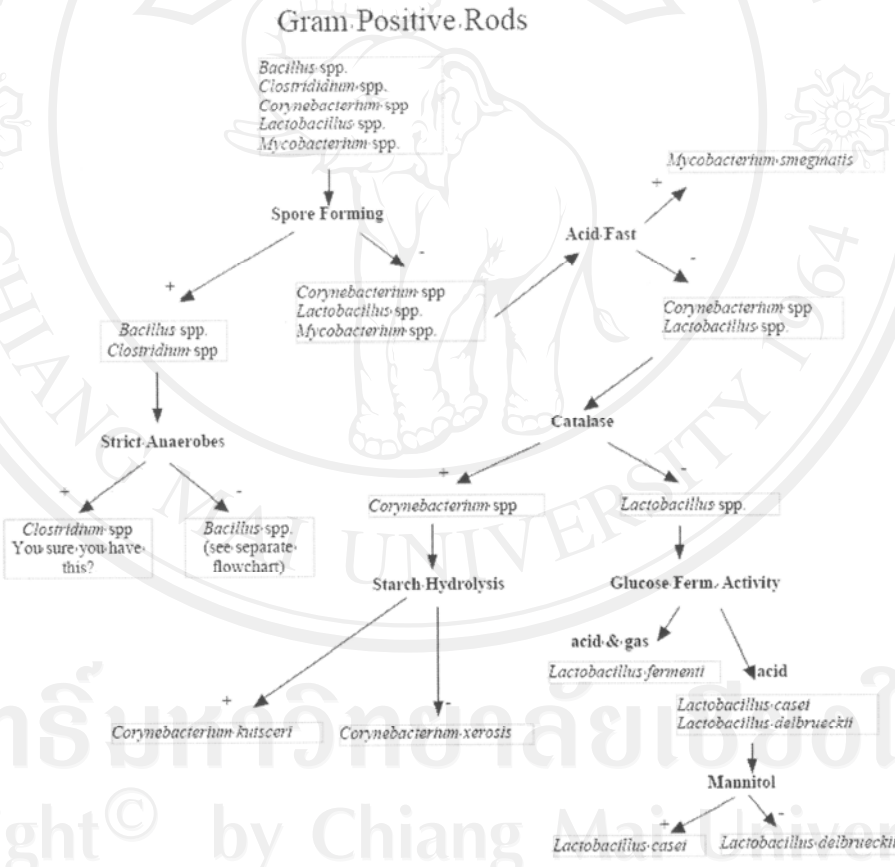


ภาพ 5 แผนภาพการจำแนกชนิดของแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยการย้อมแกรม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Identification flows charts

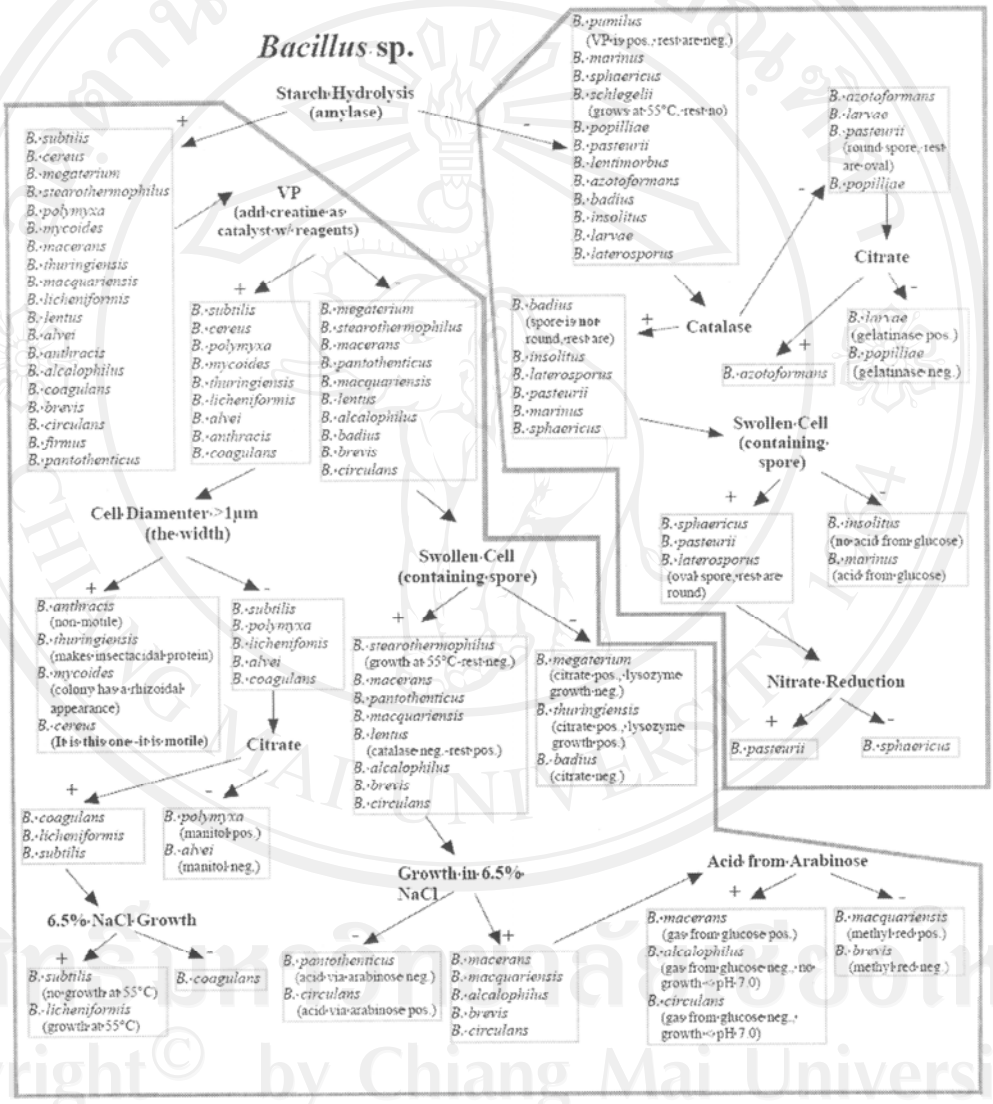
Gram Positive rods ID flowchart



ภาพ 6 แผนภาพการจำแนกชนิดของแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Bacillus sp. flowchart

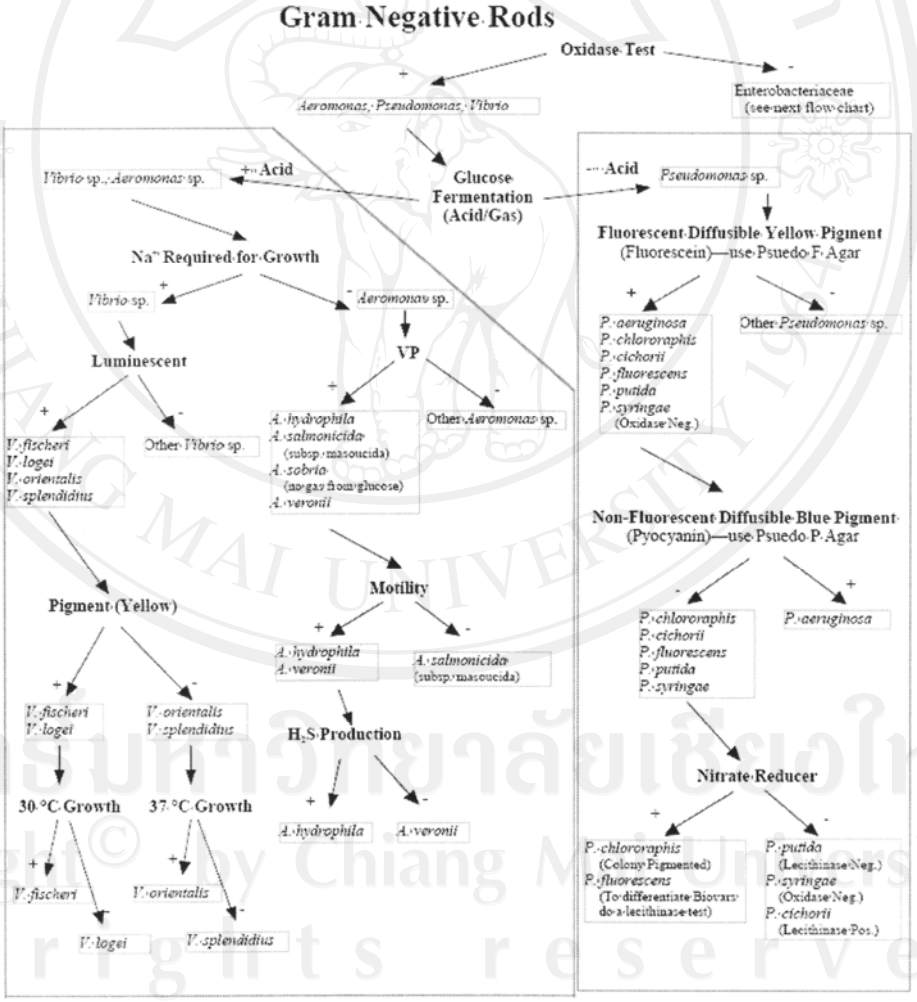


ภาพ 7 แผนการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Identification flows charts

Gram Negative rods ID flowchart



ภาพ 8 แผนภาพการจำแนกแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์สถิติ

ตาราง 1 ผลการวิเคราะห์ความงอกของเมล็ดพริกหวาน ภายหลังจากการเพาะบนกระดาษชื้นนาน 14 วัน

Source	DF	SS	MS	F	P
Trt	2	370.67	185.33	4.39	0.04
Error	9	380.00	42.22		
Total	11	750.67			
CV(%)	7.41				

ตาราง 2 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักสดของต้นพริกอายุ 14 วัน ที่เพาะบนกระดาษชื้น

Source	DF	SS	MS	F	P
Treatment	2	0.02502	0.01251	3.73	0.0660
Error	9	0.03015	0.00335		
Corrected Total	11	0.05517			
CV(%)	51.83				

ตาราง 3 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของต้นพริกอายุ 14 วัน ที่เพาะบนกระดาษชื้น

Source	DF	SS	MS	F	P
Treatment	2	8.717E-07	4.358E-07	1.34	0.3106
Error	9	2.937E-06	3.264E-07		
Corrected Total	11	3.809E-06			
CV(%)	10.19				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4 ผลการวิเคราะห์ความสูงของต้นพริกหวานหลังจากใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 28 วัน

Source	DF	SS	MS	F	P
Treatment	3	43.027	14.3422	1.79	0.1594
Error	60	481.769	8.0295		
Corrected Total	63	524.796			
CV(%)	15.44				

ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์ความยาวรากของต้นพริกหวานหลังจากใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 28 วัน

Source	DF	SS	MS	F	P
Treatment	3	172.42	57.4727	2.11	0.1077
Error	60	1630.45	27.1742		
Corrected Total	63	1802.87			
CV(%)	30.88				

ตาราง 6 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักสดของต้นพริกหวานหลังจากใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 28 วัน

Source	DF	SS	MS	F	P
Treatment	3	0.6763	0.22544	1.27	0.2945
Error	60	10.6918	0.17820		
Corrected Total	63	11.3681			
CV(%)	43.48				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 7 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของต้นพริกหวานหลังจากใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 28 วัน

Source	DF	SS	MS	F	P
Treatment	3	0.00334	0.00111	0.12	0.9508
Error	60	0.57884	0.00965		
Corrected Total	63	0.58217			
CV(%)	55.53				

ตาราง 8 ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการควบคุมเชื้อรา *P. capsici* ในสภาพเรือนทดลอง

Source	DF	SS	MS	F	P
Replicate	4	2.35	0.59		
Treatment	7	23.31	3.33	4.97	0.001
Error	28	18.78	0.67		
Corrected Total	39	44.44			
CV(%)	36.29				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – สกุล	นางสาวเกศริน สูญกาย
วัน เดือน ปีเกิด	16 พฤศจิกายน 2527
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2546 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมปลายจาก โรงเรียนดาราวิทยาลัย จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2550 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ทุนการศึกษา	ได้รับทุนอุดหนุนบัณฑิตศึกษา ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษา และวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักคณะกรรมการการอุดมศึกษา
ประสบการณ์	- เข้าร่วมเสนอผลงานโปสเตอร์ เรื่อง ‘‘Phytophthora Blight of Sweet Pepper in Mae-rim District, Chiang Mai ’’ ในงานการประชุมวิชาการรา วิทยาแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 3 ระหว่างวันที่ 11-12 ตุลาคม 2551 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น - เข้าร่วมเสนอผลงานโปสเตอร์ เรื่อง ‘‘การควบคุมโรคไฟทอปธอร่า ไบลท์ของพริกหวานโดยแบคทีเรียปฏิปักษ์’’ ในการประชุมวิชาการพืช สวนแห่งชาติ ครั้งที่ 8 ระหว่างวันที่ 6-9 พฤษภาคม 2552 โรงแรม ดิ เอ็ม เพรส อ.เมือง จ. เชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รางวัลที่ได้รับ	รางวัลโปสเตอร์ชมเชยอันดับ 1 เรื่อง ‘‘การควบคุมโรคไฟทอปธอร่าไบลท์ของพริกหวานโดยแบคทีเรียปฏิปักษ์’’ ในการนำเสนอผลงานวิชาการ ภาคโปสเตอร์สาขาพืชผัก/สมุนไพร ประเภทนักศึกษา ในการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 8 ระหว่างวันที่ 6-9 พฤษภาคม 2552 โรงแรม ดิ เอ็มเพรส อ.เมือง จ. เชียงใหม่
งานวิจัย	-งานวิจัยปัญหาพิเศษระดับปริญญาโท เรื่อง ‘‘การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* sp.ในพริกหวาน กล้วยไม้และส้มโอ’’ ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved