# ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

# 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 มิลลิลิตร และ isoamyl alcohol 1 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

**1.2 5M NaCl** (50 มิลลิลิตร)

ชั่งสาร NaCl มาจำนวน 14.61 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร

**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 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

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

ชั่งสาร Tris-HCl มาจำนวน 15.76 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 8.0 แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

**1.5 70% ethanol**

ผสมสารละลาย ethanol 70 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 30 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

**1.6 10% SDS**

ละลาย SDS 1 กรัม ในน้ำ 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 ลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

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

| | | |
|---|---|---|
| Agarose gel | 0.3 | กรัม |
| 0.5X TBE buffer | 30 | มิลลิลิตร |

ชั่งอะกาโรสเจล 0.3 กรัม ละลายใน TBE buffer ปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหลอมละลายโดยใช้ไมโครเวฟ ทิ้งให้เย็นซักครู่จึงเทลงในถาดที่เตรียมไว้ ปล่อยให้เจลแข็งตัวประมาณครึ่งชั่วโมง ค่อย ๆ ดึงหวีออก ย้ายแผ่นเจลใส่ในเครื่อง electrophoresis gel tank แล้วเติม TBE buffer ให้ท่วมผิวหน้าเจล

Mastermix for 105 µl of end solution

| Reagents | Volume (µl)/reaction | Final conc. |
|---|---|---|
| 10X PCR buffer | 10.5 | 1x |
| $MgCl_2$ 50 mM | 5.3 | 2.5 mM |
| dNTPs mixed 5 mM | 4.2 | 0.2 mM |
| Primer 20 µM Par1s | 2.6 | 0.5 µM |
| Primer 20 µM Par2a | 2.6 | 0.5 µM |
| *Tag* DNA polymerase (5 Unit/µl) | 1 | 0.5 u |
| $dH_2O$ | 78.8 | |
| DNA sample | 1 | |

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 แล้วต้มจนสุกในน้ำ 500 มิลลิลิตร กรองด้วยผ้าขาวบางเอาแต่น้ำ ผสมวุ้นในน้ำ 500 มิลลิลิตร นำไปต้มแล้วผสมกับน้ำมันฝรั่งที่กรองได้ เติมน้ำตาล Dextose คนให้ละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

**2. Nutrient Agar (NA)**

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

วิธีการเตรียม

ละลาย peptone และ beef extract ในน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน ละลายผงวุ้นในน้ำธรรมดาปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปต้มให้สุก จากนั้นนำไปผสมกับสารละลาย peptone และ beef extract คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**3. Nutrient Agar (NA)**

| | | |
|---|---|---|
| Beef extract | 3 | กรัม |
| Peptone | 5 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000 | มิลลิลิตร |

วิธีการเตรียม

ละลาย peptone และ beef extract ในน้ำปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

**4. Corn Meal Agar (CMA)**

| | | |
|---|---|---|
| อาหารสำเร็จรูป | 17 | กรัม |
| ผงวุ้น | 20 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000 | มิลลิลิตร |

**5. Carrot Agar (CA)**

| | | |
|---|---|---|
| แครอท | 20 | กรัม |
| ผงวุ้น | 15 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000 | มิลลิลิตร |

วิธีการเตรียม

ปอกเปลือกแครอทแล้วล้างให้สะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วต้มจนสุกในน้ำ 500 มิลลิลิตร กรองด้วยผ้าขาวบางเอาแต่น้ำ ผสมวุ้นในน้ำ 500 มิลลิลิตร นำไปต้มแล้วผสมกับน้ำแครอทที่กรองได้ คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

**6. Water Agar (WA)**

| | | |
|---|---|---|
| ผงวุ้น | 15 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000 | มิลลิลิตร |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**7. Czapek's medium (ใช้ในการทดสอบการย่อยฟอสเฟต)**

| | | |
|---|---|---|
| Sucrose | 30 | กรัม |
| $NaNO_3$ | 2 | กรัม |
| $Ca_3HPO_4$ | 1 | กรัม |
| (ถ้าไม่มีให้ใช้ $CO_3(PO_4)_2$ 0.9 กรัมแทน) | | |
| KCl | 1.4 | กรัม |
| $MgSO_4.7H_2O$ | 0.5 | กรัม |
| $FeSO_4.7H_2O$ | 0.01 | กรัม |
| Congo red | 0.035 | กรัม (ใส่หลังจากปรับค่า pH แล้ว) |
| ผงวุ้น | 15 | กรัม |

ปรับ pH ให้เป็น 7.3±0.2

**8. Carboxymethyl cellulose agar (CMC) (ใช้ในการทดสอบการย่อยเซลลูโลส)**

| | | |
|---|---|---|
| $(NH_4)_2SO_4$ | 2.5 | กรัม |
| $KH_2PO_4$ | 0.25 | กรัม |
| NaCl | 0.01 | กรัม |
| $MgSO_4.7H_2O$ | 0.125 | กรัม |
| $FeSO_4.7H_2O$ | 0.0025 | กรัม |
| $MnSo_4.7H_2O$ | 0.0025 | กรัม |
| Yeast extract | 1.0 | กรัม |
| CMC | 5.0 | กรัม |
| ผงวุ้น | 15 | กรัม |

ปรับ pH ให้ได้ 7.2

วิธีการเตรียม

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**9. Colloidal chitin agar (CCA) (ใช้ในการทดสอบการย่อยไคติน)**

| | | |
|---|---|---|
| Colloidal chitin | 13-15 | เปอร์เซ็นต์ |
| NaCl | 0.25 | กรัม |
| $KH_2PO_4$ | 0.375 | กรัม |
| $MgSO_4.7H_2O$ | 0.125 | กรัม |
| $CaCO_3$ | 0.375 | กรัม |
| $(NH_4)_2HC_6HSO_7$ | 0.625 | กรัม |
| glycerol | 6.5 | กรัม |
| ผงวุ้น | 18-20 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000 | มิลลิลิตร |

ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

วิธีการเตรียม Colloidal chitin (Hsu and Lockwood, 1975)

ละลายผงไคติน 10 กรัม ลงในกรดเข้มข้น $H_3PO_4$ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดด้วยกระดาษฟรอยด์ เก็บในตู้เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำลงไปให้ท่วมผิวหน้า ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที ใช้แท่งแก้วค่อย ๆ คนให้เข้ากัน กรองด้วยผ้าขาวบางประมาณ 3-4 ชั้น ล้างด้วยน้ำสะอาด ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 6.8-7.2 จะได้ Colloidal chitin นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

**สีและน้ำยาที่ใช้ย้อม**

**1. Gram's stain**

**1.1 Crystal violet**

**สารละลาย A**

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

ละลายสีในแอลกอฮอล์จนสีละลายหมด

**สารละลาย B**

| | | |
|---|---|---|
| Ammonium oxalate | 0.8 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000 | มิลลิลิตร |

ผสมสารละลาย A กับสารละลาย B ถ้ามีตะกอน กรองก่อนใช้ ถ้าสีเข้มเกินไปอาจเจือจางสารละลาย A เป็น 1:10 ก่อนผสมกับสารละลาย B

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

**1.2 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) ถ้ามีตะกอนกรองก่อนการใช้ทุกครั้ง

**1.3 Gram's iodine solution (mordant)**

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

**1.4 Alcohol-acetone (decolorizer)**

| | | |
|---|---|---|
| Ethyl alcohol 95% | 250 | มิลลิลิตร |
| Acetone | 250 | มิลลิลิตร |

**2. 0.1% Congo red**

| | | |
|---|---|---|
| Congo red | 0.1 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 100 | มิลลิลิตร |

**3. 1M NaCl**

| | | |
|---|---|---|
| NaCl | 58.44 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000 | 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 แล้วเกลี่ยเชื้อให้กระจายออกเป็นวงเล็ก ๆ ทิ้งให้แห้ง จากนั้นทำการตรึง (fixing of the smear) เพื่อทำให้เซลล์ติดแน่นกับสไลด์ โดยการนำสไลด์ลนผ่านเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง หยดสี Crytal violet ให้ท่วมรอย smear ทิ้งไว้นาน 1 นาที เทสีที่เหลือค้างบนสไลด์ลงในอ่างน้ำ แล้วชะด้วยสารละลายไอโอดีน หลังจากนั้น หยดสารละลายไอโอดีนให้ท่วมรอย smear และทิ้งไว้นาน 1 นาที หลังจากนั้นเทสารละลายไอโอดีนทิ้ง แล้วชะด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ 95% จนกระทั่งไม่มีสีม่วงละลายออกมา แต่อย่าทำให้เกิน 20 วินาที แล้วล้างน้ำทันที โดยให้น้ำผ่านเบา ๆ ซับด้วยกระดาษซับ แล้วย้อมทับด้วยการหยดสี Safranin-O ให้ท่วมรอย smear ทิ้งไว้นาน 1 นาที เทสีทิ้ง ล้างด้วยน้ำ แล้วซับด้วยกระดาษซับวางทิ้งให้แห้ง นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตรวจดูลักษณะการติดสีแกรม รูปร่าง และการเรียงตัวของแบคทีเรีย

**2. การศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี (biological characteristic)**

ศึกษาผลของปฏิกิริยาของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีผลต่อสารเคมีที่เติมลงในอาหารและดูปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ดังต่อไปนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**การทดสอบการย่อยฟอสเฟต**

วิธีการทดสอบ

1. วางกระดาษกรองที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ชุบโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบ วางบนอาหาร Czapek's medium
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

   ผลบวก เกิดวงใส (clear zone) รอบ ๆ โคโลนี

   ผลลบ ไม่เกิดวงใส (clear zone) รอบ ๆ โคโลนี

**การทดสอบการย่อยเซลลูโลส**

วิธีการทดสอบ

1. วางกระดาษกรองที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ชุบโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบ วางบนอาหาร CMC medium
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
3. ตรวจดูการสร้างเอนไซม์ cellulase โดยการย้อมด้วย congo red 0.1% นาน 3-5 นาที
4. ล้างด้วย 1M Nacl 2-3 ครั้ง

   ผลบวก เกิดวงใส (clear zone) รอบ ๆ โคโลนี

   ผลลบ ไม่เกิดวงใส (clear zone) รอบ ๆ โคโลนี

**การทดสอบการย่อยไคติน**

วิธีการทดสอบ

1. วางกระดาษกรองที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ชุบโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบ วางบนอาหาร CMC medium
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

   ผลบวก เกิดวงใส (clear zone) รอบ ๆ โคโลนี

   ผลลบ ไม่เกิดวงใส (clear zone) รอบ ๆ โคโลนี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

## ภาคผนวก ง

## การเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp.

**ตารางที่ 1 ขนาดรัศมีการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. OR01 ในแต่ละวันเมื่อเลี้ยงในอาหารชนิดต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง)**

| ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ | ขนาดรัศมีการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. (มม.)* | | | | | | | | อัตราการเจริญ (มม./วัน) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | วันที่ 1 | วันที่ 2 | วันที่ 3 | วันที่ 4 | วันที่ 5 | วันที่ 6 | วันที่ 7 | วันที่ 8 | |
| CMA | 11.88 | 25.13 | 37.88 | 45.00 | | | | | 11.04 |
| PDA | 9.13 | 14.63 | 21.38 | 27.13 | 33.31 | 38.19 | 44.13 | 45.00 | 5.83 |
| WA | 5.44 | 12.57 | 15.63 | 21.00 | 26.00 | 27.94 | 31.81 | 35.44 | 4.29 |
| CA | 6.00 | 11.31 | 16.56 | 21.81 | 27.13 | 32.38 | 37.88 | 41.38 | 5.05 |

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำ

**ตารางที่ 2 ขนาดรัศมีการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. OR02 ในแต่ละวันเมื่อเลี้ยงในอาหารชนิดต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง**

| ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ | ขนาดรัศมีการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. (มม.)* | | | | | | | | อัตราการเจริญ (มม./วัน) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | วันที่ 1 | วันที่ 2 | วันที่ 3 | วันที่ 4 | วันที่ 5 | วันที่ 6 | วันที่ 7 | วันที่ 8 | |
| CMA | 12.63 | 27.63 | 44.25 | 45.00 | | | | | 10.79 |
| PDA | 8.94 | 14.50 | 20.31 | 27.13 | 33.19 | 38.63 | 43.94 | 45.00 | 5.83 |
| WA | 4.63 | 9.25 | 14.75 | 19.56 | 23.94 | 28.56 | 32.38 | 35.25 | 4.38 |
| CA | 6.25 | 13.88 | 20.69 | 27.81 | 34.38 | 41.13 | 45.00 | | 6.46 |

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**ตารางที่ 3 ขนาดรัศมีการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. OR03 ในแต่ละวันเมื่อเลี้ยงในอาหารชนิดต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง**

| ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ | ขนาดรัศมีการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. (มม.)* | | | | | | | | อัตราการเจริญ (มม./วัน) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | วันที่ 1 | วันที่ 2 | วันที่ 3 | วันที่ 4 | วันที่ 5 | วันที่ 6 | วันที่ 7 | วันที่ 8 | |
| CMA | 12.50 | 26.75 | 40.19 | 45.00 | | | | | 10.83 |
| PDA | 7.25 | 13.25 | 19.63 | 25.25 | 31.57 | 37.13 | 42.63 | 44.00 | 5.39 |
| WA | 5.00 | 10.69 | 15.19 | 18.81 | 22.38 | 23.81 | 26.75 | 28.44 | 3.35 |
| CA | 5.81 | 11.13 | 15.88 | 20.56 | 25.31 | 30.31 | 35.31 | 38.94 | 4.92 |

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำ

**ตารางที่ 4 ขนาดรัศมีการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. OR04 ในแต่ละวันเมื่อเลี้ยงในอาหารชนิดต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง**

| ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ | ขนาดรัศมีการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. (มม.)* | | | | | | | | อัตราการเจริญ (มม./วัน) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | วันที่ 1 | วันที่ 2 | วันที่ 3 | วันที่ 4 | วันที่ 5 | วันที่ 6 | วันที่ 7 | วันที่ 8 | |
| CMA | 10.19 | 23.31 | 35.19 | 45.00 | | | | | 11.60 |
| PDA | 6.75 | 9.31 | 12.25 | 15.00 | 17.69 | 20.50 | 23.06 | 25.94 | 2.74 |
| WA | 5.19 | 11.31 | 17.25 | 20.00 | 22.75 | 23.81 | 26.25 | 28.00 | 3.38 |
| CA | 6.81 | 14.06 | 19.19 | 24.06 | 31.88 | 34.31 | 39.69 | 42.94 | 5.48 |

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

## ภาคผนวก จ

## การวิเคราะห์สถิติ

**ตาราง 1** ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. สาเหตุโรครากเน่าของส้มในห้องปฏิบัติการ

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| facA | 3 | 36.56 | 12.19 | 3.00 | 0.0432 |
| facB | 2 | 7558.79 | 3779.40 | 930.31 | 0.000 |
| facA*facB | 6 | 57.38 | 9.56 | 2.35 | 0.0508 |
| Error | 36 | 146.25 | 4.06 | | |
| Corrected Total | 47 | 7798.98 | | | |
| CV (%) | 5.04 | | | | |

**ตาราง 2** ผลการวิเคราะห์ความสูงของต้นส้มหลังการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 28 วัน

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| Treatment | 5 | 39.960 | 7.99194 | 9.23 | 0.0000 |
| Error | 115 | 99.590 | 0.86600 | | |
| Corrected Total | 143 | 158.406 | | | |
| CV (%) | 16.97 | | | | |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

**ตาราง 3** ผลการวิเคราะห์ขนาดรัศมีของโคโลนีของเชื้อ *Phytophthora* spp. ทั้ง 4 ไอโซเลท บนอาหาร PDA ที่เลี้ยงในอุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 8 วัน

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| facA | 3 | 1451.01 | 483.67 | 25.04 | 0.0000 |
| facB | 2 | 5390.66 | 2695.33 | 1285.55 | 0.0000 |
| facA*facB | 6 | 315.05 | 52.51 | 230.69 | 0.0000 |
| Error | 33 | 69.19 | 2.10 | | |
| Corrected Total | 47 | 7241.36 | | | |
| CV (%) | 4.34 | | | | |

**ตาราง 4** ผลการวิเคราะห์อัตราการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. ทั้ง 4 ไอโซเลท บนอาหารชนิดต่าง ๆ ที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| facA | 3 | 10.537 | 3.512 | 1868.45 | 0.0000 |
| facB | 3 | 499.811 | 166.604 | 39.39 | 0.0000 |
| facA*facB | 9 | 27.268 | 0.089 | 33.98 | 0.0000 |
| Error | 45 | 541.798 | 3.030 | | |
| Corrected Total | 63 | 4.013 | | | |
| CV (%) | 4.71 | | | | |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**ตาราง 5** ผลการวิเคราะห์ความสูงของต้นส้มหลังการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 75 วัน

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| Treatment | 5 | 32.142 | 6.42847 | 1.88 | 0.1133 |
| Error | 55 | 188.399 | 3.42544 | | |
| Corrected Total | 71 | 265.663 | | | |
| CV (%) | 20.77 | | | | |

**ตาราง 6** ผลการวิเคราะห์น้ำหนักสดของต้นส้มหลังการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 75 วัน

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| Treatment | 5 | 0.94206 | 0.18841 | 7.94 | 0.0000 |
| Error | 55 | 1.30536 | 0.02373 | | |
| Corrected Total | 71 | 2.60107 | | | |
| CV (%) | 13.66 | | | | |

**ตาราง 7** ผลการวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของต้นส้มหลังการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 75 วัน

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| Treatment | 5 | 0.14506 | 0.02901 | 2.43 | 0.0463 |
| Error | 55 | 0.65666 | 0.01194 | | |
| Corrected Total | 71 | 0.94943 | | | |
| CV (%) | 24.78 | | | | |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**ตาราง 8** ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการควบคุมเชื้อ *Phytophthora parasitica* ที่ทำให้เกิดอาการเหี่ยวในสภาพเรือนทดลอง

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| Treatment | 6 | 32.643 | 5.44048 | 4.86 | 0.0004 |
| Error | 66 | 73.929 | 1.12013 | | |
| Corrected Total | 83 | 116.893 | | | |
| CV (%) | 68.92 | | | | |

**ตาราง 9** ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการควบคุมเชื้อ *Phytophthora parasitica* ที่ทำให้เกิดอาการรากเน่าในสภาพเรือนทดลอง

| Source | DF | SS | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| Treatment | 6 | 67.405 | 11.2341 | 27.58 | 0.0000 |
| Error | 66 | 26.881 | 0.4073 | | |
| Corrected Total | 83 | 128.988 | | | |
| CV (%) | 31.72 | | | | |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

# ประวัติผู้เขียน

| | |
|---|---|
| **ชื่อ-สกุล** | นางสาวปนัดดา อินพิทักษ์ |
| **วัน เดือน ปีเกิด** | 19 มีนาคม 2528 |
| **ประวัติการศึกษา** | ปีการศึกษา 2546 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมปลายจาก โรงเรียนสตรีนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์<br><br>ปีการศึกษา 2550 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับ 2 มหาวิทยาลัยนเรศวร |
| **ทุนการศึกษา** | ได้รับทุนอุดหนุนบัณฑิตศึกษา ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ |
| **ประสบการณ์** | เข้าร่วมเสนอผลงานบรรยายเรื่อง “การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยในดินบริเวณรากเพื่อควบคุมโรครากเน่าของส้มและศักยภาพของเชื้อในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช” ในสัมมนาวิชาการบัณฑิตศึกษาเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 7 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ วันที่ 27 พฤศจิกายน 2552 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เข้าร่วมเสนอผลงานบรรยายเรื่อง “การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรครากเน่าของส้มสายน้ำผึ้งและการผลิตเอนไซม์” ในการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 9 วันที่ 11-14 พฤษภาคม 2553 โรงแรมกรุงศรีริเวอร์ อ. พระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา

**รางวัลที่ได้รับ**

นำเสนอภาคบรรยายดีเด่น เรื่อง “การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรครากเน่าของส้มสายน้ำผึ้งและการผลิตเอนไซม์” สาขาไม้ผล/ไม้ยืนต้น ในการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 9 วันที่ 11-14 พฤษภาคม 2553 โรงแรมกรุงศรีริเวอร์ อ. พระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา

งานปัญหาพิเศษ

งานปัญหาพิเศษระดับปริญญาโทเรื่อง “การสร้างออกซินและจิบเบอเรลลินโดยแบคทีเรียที่บริเวณผิวรากพืช” ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved