ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและการเตรียม

1. Potato Dextose Agar (PDA)

ส่วนประกอบ

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

วิธีการเตรียม

ปอกเปลือกมันฝรั่งแล้วล้างให้สะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาด 1 เซนติเมตร แล้วต้มให้จนสุกในน้ำ 500 มิลลิลิตร กรองด้วยผ้าขาวบางเอาแต่น้ำ ผสมวุ้นในน้ำ 500 มิลลิลิตร นำไปต้มแล้วผสมกับน้ำมันฝรั่งที่กรองได้ เติมน้ำตาล Dextose คนให้ละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

2. NA (Nutrient Agar)

ส่วนประกอบ

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

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 30 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

การคำนวณสารเคมีกำจัดเชื้อรา ใช้ในห้องปฏิบัติการ

นำอัตราสารเคมีกำจัดเชื้อรา ที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำมาคำนวณหาความเข้มข้นของสาร 3 อัตรา คือ ต่ำกว่าอัตราแนะนำ 0.5 เท่า อัตราแนะนำ และสูงกว่าอัตราแนะนำ 0.5 เท่า ในน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็น stock solution ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ตัวอย่าง

ก. benomyl อัตราแนะนำ 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

ในน้ำ 2×10^3 มิลลิลิตร มีสาร 20 กรัม

ในน้ำ 10^6 มิลลิลิตร มีสาร $\frac{20\times10^3}{10^6}$ = 1000 กรัม

ข. benomyl มีสารออกฤทธิ์ 50%

ในสาร 100 กรัม มีสารออกฤทธิ์ 50 กรัม

ในสาร 1000 กรัม มีสารออกฤทธิ์ $\frac{50\times1000}{100}$ = 500 กรัม

0.5 เท่าของอัตราแนะนำ (ต่ำกว่าอัตราแนะนำ) = 250 ppm

อัตราแนะนำ = 500 ppm

1.5 เท่าของอัตราแนะนำ (สูงกว่าอัตราแนะนำ) = 750 ppm

ง. benomyl 10^6 มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์ = 250,500,750 กรัม

benomyl 100 มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์ = 0.025, 0.05, 0.075 กรัม

สารออกฤทธิ์ 50 กรัม มาจากสาร 100 กรัม

สารออกฤทธิ์ 0.025, 0.05,0.075 กรัม มาจากสาร = 0.05,0.1,0.15 กรัม

เนื่องจากต้องตวงสารละลายออกจาก stock solution จำนวน 15 มิลลิลิตร นำอาหารเลี้ยงเชื้อเติมจนครบ 150 มิลลิลิตรดังนั้นทำให้ความเข้มข้นของสารเคมีในอาหารเจือจางลง 150/10 =10 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ดังนั้น จึงต้องชั่งสารเคมีเพิ่มขึ้นจากที่คำนวณได้ 10 เท่า แล้วนำไปผสมน้ำ 100 มิลลิลิตร เพื่อเป็น stock solution

ดังนั้น ต้องชั่ง benomyl จำนวน 0.5, 1.0 และ 1.5 กรัม

สารเคมีกำจัดเชื้อราชนิดอื่นๆที่ใช้ในการทดลอง โดยใช้ความเข้มข้น ดังนี้

mancozeb 80% WP อัตราแนะนำ 80 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร

ความเข้มข้นที่ใช้ 400, 800, 1,200 ppm

chlorothalonil 75% WP อัตราแนะนำ 20 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร

ความเข้มข้นที่ใช้ 375, 750, 1,125 ppm

difenoclonazole 25% WV/EC อัตราแนะนำ 15 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร

ความเข้มข้นที่ใช้ 75, 150, 225 ppm

การคำนวณปริมาณสารเคมีกำจัดเชื้อรา สำหรับใช้ในสภาพแปลง

สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชจะอยู่ในรูปต่างๆ กันทั้งแบบเป็นผง ผงผสมน้ำ ผงผสมน้ำมัน น้ำผสมน้ำมัน เป็นต้น เพื่อให้การฉีดพ่นสารเคมีให้ถูกต้องตามคำแนะนำและประหยัดค่าใช้จ่าย และก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดนั้น ควรต้องมีความรุเกี่ยวกับการคำนวณปริมารสารเคมีไว้ด้วย

การทดลองหาปริมาณสารเคมีชนิดน้ำต่อไร่ ของเครื่องพ่นสารเคมีแบบสะพายไหล่หรือหลัง (Knapsack sprayer) สามารถปฏิบัติได้ด้วยวิธีการง่ายๆ ดังนี้

1. เมื่อต้องการฉีดพ่นเต็มพื้นที่ เช่น แปลงผักหรือไม้ดอกให้เติมน้ำเปล่าปริมาณ 5 ลิตร ลงในถังใส่น้ำยาของเครื่องฉีดพ่นสารเคมี แล้วนำเครื่องพ่นดังกล่าวไปฉีดลงบนพื้นที่หนึ่ง เช่น 20 ตารางเมตร โดยแดพ่นตามวิธีการปกติที่เคยปฏิบัติมา เมื่อฉีดพ่นเสร็จจึงนำน้ำที่เหลือในถังยาไปตวงวัดดูปริมาตรของสารเคมีที่เหลืออยู่ ก็จะทำให้ทราบปริมาณของสารที่ถูกใช้ไปในการฉีดพ่นพื้นที่ 20 ตารางเมตร จดบันทึกไว้ และทำการทดลอง 2-3 ครั้ง จนแน่ใจแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยของ 3 ครั้ง เช่นได้ผลเฉลี่ยเท่ากับ 1.0 ลิตร/20 ตารางเมตร จึงนำค่านี้ไปคิดหาปริมาณน้ำยาที่จะใช้ต่อไร่ (1 แปลง)

สูตร ปริมาณน้ำยา/ไร่ $= \dfrac{1600 \times \text{ปริมาตรน้ำที่ใช้ฉีด (ลิตร) บนพื้นที่ A ตารางเมตร ลิตร/ไร่}}{\text{พื้นที่ X (ตารางเมตร)}}$

$= \dfrac{1600 \times 1.0}{20}$ $= 80$ ลิตร/ไร่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เมื่อต้องการฉีดพ่นพืชเป็นแถวซึ่งรู้ระยะระหว่างแถว และพื้นที่ปลูกที่แน่นอน เช่น พวกพืชไร่ชนิดต่างๆ ให้ปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ 1. แต่ฉีดพ่นพืชตามความยาวของแถวที่กำหนดไว้ เช่น ฉีดพ่นแถวพืชที่กำหนดความยาวรวมกันได้ 30 เมตร ระยะระหว่างแถวพืชคือ 1 เมตร ปริมาณน้ำที่ใช้ทดลองฉีดเท่ากับ 1.5 ลิตร ดังนั้นจะคำนวณปริมาณสารเคมีต่อเนื้อที่ 1 ไร่ จากสูตร

$$\text{สูตร ปริมาณน้ำยา/ไร่} = \frac{\text{ปริมาณน้ำที่ใช้ฉีด (ลิตร) ตลอดแถวยาว B เมตร} \times \text{1600 ลิตร/ไร่}}{\text{ระยะห่างระหว่างแถว} \times \text{ความยาวของแถว (B เมตร)}}$$

$$= \frac{1.5 \times 1600}{1 \times 30}$$

$$= 80 \text{ ลิตร/ไร่}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

ตาราง 1 การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อสาเหตุโรค *Exserohilum turcicum* จำนวน 106 ไอโซเลท

ไอโซเลท	ระดับการเกิดโรค	ไอโซเลท	ระดับการเกิดโรค
PG1	2	JT6	2
PG2	1	JT7	1
PG3	1	JT8	1
PG4	1	Hyp1	1
PG5	1	Hyp2	1
PG6	1	Hyp3	1
PG7	1	Hyp4	1
PG8	1	Hyp5	2
PG9	1	Hyp6	1
PG10	1	Hyp7	1
PG11	1	Hyp8	1
PD1	2	Hyp9	1
PD2	1	Hyp10	1
PD3	1	Hyp11	2
PD4	1	MJ1	1
PD5	1	MJ2	2
PD6	2	MJ3	2
PD7	1	**MJ4**	**3**
PD8	1	MJ5	2
PD9	1	MJ6	1
TN1	2	MJ7	1
TN2	1	MJ8	1
TN3	**3**	MJ9	1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 1 (ต่อ) การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อสาเหตุโรค *Exserohilum turcicum* จำนวน 106 ไอโซเลท

ไอโซเลท	ระดับการเกิดโรค	ไอโซเลท	ระดับการเกิดโรค
TN4	1	MJ10	1
TN5	1	MJ11	1
TN6	1	MJ12	1
CK1	1	MJ13	1
CK2	1	MJ14	1
CK3	1	MJ15	1
CK4	1	HyL1	1
CK5	1	HyL2	1
CK6	1	HyL3	1
MH1	1	HyL4	1
MH2	1	HyL5	1
MH3	1	HyL6	1
MH4	1	HyL7	1
MH5	1	HyL8	1
MH6	1	MCC1	1
S-Hyp1	1	MCC2	1
S-Hyp2	1	MCC3	1
S-Hyp3	1	MCC4	1
S-Hyp4	1	MCC5	1
S-Hyp5	1	MCC6	1
S-Hyp6	1	MCC7	1
S-Hyp7	1	MHP1	1
S-Hyp8	1	MHP2	1
S-Hyp9	1	MHP3	1
S-Hyp10	1	MHP4	2
JT1	1	**MHP5**	**4**
JT2	**3**	MHP6	1
JT3	1	MHP7	1
JT4	1	MHP8	1
JT5	**3**	MHP9	1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์สถิติ

ตาราง 1 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา สาเหตุของโรค *Exserohilum turcicum* ในห้องปฏิบัติการ

Source	DF	SS	MS	F	P
main	4	1424.6	356.16	7.15	0.0001
sub	3	8721.7	2907.23	58.35	0.0000
main*sub	12	1389.9	115.81	2.32	0.0132
Error	80	3985.9	49.82		
Total	99	15522			
CV (%)	48.04				

ตาราง 2 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรค *Exserohilum turcicum* โดยใช้น้ำกรองอาหารเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์เชื้อแบคทีเรีย *Serratia plymuthica* (PBRC1) และเชื้อรา *Trichoderma harzianum*

Source	DF	SS	MS	F	P
A	5	252690	50538	380.88	0.0000
B	14	145058	10361.3	78.09	0.0000
A*B	70	49459	706.6	5.33	0.0000
Error	270	35825	132.7		
Total	359	483032			
CV (%)	16.20				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 3 ผลการวิเคราะห์จำนวนสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *Serratia plymuthica* (PBRC1) ที่เวลา 6 วัน

Source	DF	SS	MS	F	P
Treat	1	1.962×10^{17}	1.962×10^{17}	385	0.0000
Error	8	4.080×10^{15}	5.100×10^{14}		
Total	9	2.003×10^{17}			
CV (%)	15.75				

ตาราง 4 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุของโรค *Exserohilum turcicum* บนอาหาร PDA ผสมสารเคมีกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด 3 ระดับความเข้มข้น

Source	DF	SS	MS	F	P
A	4	333	83.2	12.99	0.0000
B	9	221241	24582.4	3839.54	0.0000
A*B	36	787	21.9	3.41	0.0000
Error	200	1280	6.4		
Total	249	223642			
CV (%)	2.84				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อสาเหตุโรค *Exserohilum turcicum* โดยใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด 3 ระดับความเข้มข้น

Source	DF	SS	MS	F	P
A	5	641	128.3	2.9	0.0152
B	9	210719	23413.2	529.59	0.0000
A*B	45	2524	56.1	1.27	0.1407
Error	180	7858	44.2		
Total	239	221842			
CV (%)	7.49				

ตาราง 6 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคของเชื้อสาเหตุโรค *Exserohilum turcicum* ไอโซเลท MHP5 ในสภาพเรือนทดลอง

Source	DF	SS	MS	F	P
main	1	79933	79932.8	73.69	0.0000
sub	12	233140	19428.3	17.91	0.0000
time	2	80703	40351.3	37.20	0.0000
main*sub	12	19003	1583.6	1.46	0.1381
main*time	2	46796	23398.2	21.57	0.0000
sub*time	24	37168	1548.6	1.43	0.0913
main*sub*time	24	37741	1572.5	1.45	0.0824
Error	312	338445	1084.8		
Total	389	872927			
CV (%)	60.26				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 7 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคของเชื้อสาเหตุโรค *Exserohilum turcicum* ไอโซเลท TN3 ในสภาพเรือนทดลอง

Source	DF	SS	MS	F	P
main	1	33534	33533.7	40.14	0.0000
sub	12	271361	22613.4	27.07	0.0000
time	2	51693	25846.3	30.93	0.0000
main*sub	12	14878	1239.8	1.48	0.1287
main*time	2	20356	10177.9	12.18	0.0000
sub*time	24	59622	2484.3	2.97	0.0000
main*sub*time	24	43387	1807.8	2.16	0.0015
Error	312	260681	735.5		
Total	389	755510			
CV (%)	48.63				

ตาราง 8 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคของเชื้อสาเหตุโรค *Exserohilum turcicum* ไอโซเลท JT2 ในสภาพเรือนทดลอง

Source	DF	SS	MS	F	P
main	1	136753	136753	146.86	0.0000
sub	12	229673	19139	20.55	0.0000
time	2	67251	33525	36.11	0.0000
main*sub	12	36810	3068	3.29	0.0002
main*time	2	19123	9561	10.27	0.0000
sub*time	24	52073	2170	2.33	0.0005
main*sub*time	24	32494	1354	1.45	0.0807
Error	312	290527	931		
Total	389	864705			
CV (%)	56.95				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 9 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคของเชื้อสาเหตุโรค *Exserohilum turcicum* ไอโซเลท JT5 ในสภาพเรือนทดลอง

Source	DF	SS	MS	F	P
main	1	41712	41712.0	77.04	0.0000
sub	12	285428	23785.7	43.93	0.0000
time	2	80378	40188.8	74.23	0.0000
main*sub	12	21783	1815.2	3.35	0.0001
main*time	2	19899	9949.3	18.38	0.0000
sub*time	24	27697	1154	2.13	0.0019
main*sub*time	24	28008	1167	2.16	0.0016
Error	312	168917	541.4		
Total	389	673822			
CV (%)	37.63				

ตาราง 10 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคของเชื้อสาเหตุโรค *Exserohilum turcicum* ไอโซเลท MJ4 ในสภาพเรือนทดลอง

Source	DF	SS	MS	F	P
main	1	52695	52694.8	60.77	0.0000
sub	12	246067	20505.6	23.65	0.0000
time	2	56258	28128.9	32.44	0.0000
main*sub	12	13916	1159.7	1.34	0.1960
main*time	2	33941	16970.6	19.57	0.0000
sub*time	24	34280	1428.3	1.65	0.0307
main*sub*time	24	21559	898.3	1.04	0.4193
Error	312	270556	867.2		
Total	389	729272			
CV (%)	50.74				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 17 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค โดยใช้เชื้อปฏิปักษ์เชื้อแบคทีเรีย *Serratia plymuthica* (PBRC1) เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และสารเคมีกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นอัตราแนะนำ ในสภาพแปลงทดลอง (ประเมินการเกิดโรค ครั้งที่ 1)

Source	DF	SS	MS	F	P
main	1	382.3	382.3	4.59	0.0410
sub	6	63520.7	10586.8	127.12	0.0000
main*sub	6	319	53.2	0.64	0.6985
Error	28	2331.9	83.3		
Total	41	66554			
CV (%)	14.88				

ตาราง 18 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค โดยใช้เชื้อปฏิปักษ์เชื้อแบคทีเรีย *Serratia plymuthica* (PBRC1) เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และสารเคมีกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นอัตราแนะนำ ในสภาพแปลงทดลอง (ประเมินการเกิดโรค ครั้งที่ 2)

Source	DF	SS	MS	F	P
main	1	6.8	6.83	0.15	0.6975
sub	6	48747.7	8124.61	183.44	0.0000
main*sub	6	133.2	22.2	0.50	0.8020
Error	26	1220.1	44.29		
Total	41	50127.8			
CV (%)	12.52				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 19 ปริมาณคลอโรฟิลด์ที่วัดจากใบข้าวโพด 3 ตำแหน่ง (ใบบนใบกลาง และใบล่าง) หลังจากพ่นเชื้อปฏิปักษ์เชื้อแบคทีเรีย *Serratia plymuthica* (PBRC1) เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และสารเคมีกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด ความเข้มข้นอัตราแนะนำในสภาพแปลงทดลอง

Source	DF	SS	MS	F	P
main	1	3.40	3.404	0.09	0.7649
sub	6	31.93	5.3212	0.14	0.9891
main*sub	6	114.30	19.0508	0.51	0.7954
Error	84	825.45	9.8267		
Total	125	2020.62			
CV (%)	6.11				

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวเกษรินทร์ เกิดสริ
วัน เดือน ปีเกิด	8 พฤศจิกายน 2528
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2546 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมปลาย โรงเรียนนวมินทราชูทิศ มัชฌิม จังหวัดนครสวรรค์
	ปีการศึกษา 2550 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยนเรศวร
ประสบการณ์	-เข้าร่วมเสนอผลงานโปสเตอร์ เรื่อง " Efficacy of Antagonist Microbes in Controlling of Northern Corn Leaf Blight Caused by *Exserohilum turcicum* " ในงานการประชุมวิชาการราวิทยาแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 4 วันที่ 24 ตุลาคม 2552 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
	-เข้าร่วมเสนอผลงาน เรื่อง การประเมินประสิทธิภาพเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *Exserohilum turcicum* งานสัมมนาวิชาการบัณฑิตเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 7 วันที่ 27 พฤศจิกายน 2552 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved