

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University

**ภาคผนวก**

## 1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

## ก. การเตรียมอาหาร NA (Nutrient Agar)

|              |      |     |
|--------------|------|-----|
| Peptone      | 5    | g.  |
| Beef extract | 3    | g.  |
| Agar         | 15   | g.  |
| Water        | 1000 | cc. |

ซังสารต่างๆที่เป็นส่วนประกอบในอาหาร NA นำน้ำกรอง 1 ลิตร แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนละ 500 มิลลิลิตร ผสม Beef extract และ Peptone ลงในน้ำส่วนแรก น้ำส่วนที่สองผสมผงวุ้น นำส่วนผสมทั้งสองมาต้มพอเดือดยกกลงจากเตา ปรับ pH ของสารละลายส่วนแรกให้ได้ประมาณ 7.0 - 7.2 โดยใช้สารละลาย NaOH 1 M จากนั้นนำสารละลายทั้งสองส่วนมาผสมและคนให้เข้ากัน บรรจุลงขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ให้ได้ประมาณ 3 ใน 4 ขวด ใช้สำลีและกระดาษปิดปากขวดให้แน่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ( autoclave ) ที่อุณหภูมิ 121 ° C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นฆ่าเชื้อแล้ว นำอาหารดังกล่าววางไว้สักครู่เพื่อให้เย็นลง จึงนำมาเทลงในจานแก้ว ( Petridish ) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อด้วยตู้อบ ( oven ) ที่อุณหภูมิ 170 ° C เป็นเวลา หนึ่งชั่วโมงครึ่ง ให้ได้ปริมาตร 15 มิลลิลิตรต่อ 1 จาน ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ ( ใน transfer chamber ) รองจนกระทั่งอาหารแข็งตัว จึงนำไปอบผิวหน้าอาหารให้แห้ง ที่อุณหภูมิ 32 ° C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงพร้อมสำหรับใช้

## ข. การเตรียมอาหาร PDA ( Potato Dextrose Agar )

|         |      |     |
|---------|------|-----|
| Potato  | 200  | g.  |
| Dextose | 20   | g.  |
| Agar    | 15   | g.  |
| Water   | 1000 | cc. |

นำหัวมันฝรั่งมาล้างให้สะอาด ปอกเปลือกและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ตามอัตราส่วนที่กำหนด นำน้ำกรอง 1 ลิตร แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนละเท่าๆกัน ส่วนแรกนำไปต้มมันฝรั่งพอสุก ใช้ผ้าขาวบางกรองชิ้นมันฝรั่งออก เก็บเฉพาะส่วนที่เป็นของเหลว น้ำส่วนที่สองนำไปต้มผงวุ้นจนละลายแล้วเติมน้ำตาล ลงไป คนให้ละลาย จากนั้นนำน้ำทั้งสองส่วนมาผสมรวมกัน บรรจุลงขวดขนาด 250

มิลลิลิตร ปริมาณ 3 ใน 4 ขวดแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำมาเทลงในจานแก้วที่ปลอดเชื้อ 15 มิลลิลิตรต่อจาน รอจนกระทั่งผิวหน้าอาหารแข็งจึงนำไปใช้

ค. การเตรียมอาหาร KB ( King 's Medium B )

|                                      |      |     |
|--------------------------------------|------|-----|
| Proteose Peptone                     | 20   | g.  |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>      | 1.5  | g.  |
| MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O | 1.5  | g.  |
| Glycerol                             | 10   | ml. |
| Agar                                 | 15   | g.  |
| Water                                | 1000 | cc  |

ซังสารต่างๆที่เป็นส่วนประกอบในสูตรอาหาร KB นำน้ำกรอง 1 ลิตร แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนละ 500 มิลลิลิตร นำสารต่างๆทุกชนิดยกเว้นผง วุ้น มาผสมลงในน้ำส่วนแรก นำไปต้มพอเดือด แล้วนำไปวางไว้จนเย็นจึงปรับ pH ให้ได้ประมาณ 7.2 โดยเติม NaOH 1 M นำน้ำส่วนที่สองไปต้มผงวุ้นให้ละลายแล้วนำมาผสมรวมกัน บรรจุลงขวดขนาด 250 มิลลิลิตรประมาณ 3 ใน 4 ขวด จึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำมาเทลงบนจานแก้วที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว รอจนกระทั่งผิวหน้าอาหารแห้ง จึงนำไปอบด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 32° C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงนำไปใช้

ง. การเตรียมอาหาร TZC ( Tetrazolium Chloride Agar )

|  |      |     |
|--|------|-----|
| Peptone                                    | 10   | g.  |
| Casein hydrolysate                         | 1    | g.  |
| Glucose                                    | 5    | g.  |
| Agar                                       | 15   | g.  |
| 2, 3, 5 - triphenyl - tetrazolium chloride | 0.05 | g.  |
| Water                                      | 1000 | cc. |

ซังสารเคมีต่างๆที่เป็นส่วนประกอบของอาหาร TZC นำมาผสมรวมกันในน้ำกรอง 1 ลิตร จากนั้นนำไปต้มจนเดือด บรรจุลงในขวด ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 20 นาที ส่วนสารเคมี 2, 3, 5 - triphenyl - tetrazolium chloride เตรียมแยกจากสารเคมีอื่นๆ ที่

ความเข้มข้น 0.5 % ในน้ำ บรรจุลง flask ปิดขวดให้มิดชิดด้วยกระดาษอลูมิเนียม แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว มาวางไว้ให้อุณหภูมิตกลง เหลือประมาณ 45 -50 ° C จึงใช้ปิเปต ( pipette ) ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว คูดสารละลาย 2 , 3 , 5 - triphenyl - tetrazolium chloride 1 มิลลิลิตร ผสมลงในอาหาร TZC ที่เตรียมไว้ เหย้าให้เข้ากัน ด้วยเครื่องเขย่า ยี่ห้อ Vertex Mixture ที่ความเร็วระดับ 3 เป็นเวลา ประมาณ 1 นาที เมื่อผสมเข้ากันดีแล้วจึงเทลงจานแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ภายใต้อสภาพปลอดเชื้อ แล้วนำไปอบผิวหน้าอาหารด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 32 ° C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงพร้อมนำไปใช้

## 2. วัสดุเพาะกล้า

ส่วนประกอบ ที่ผสม 100 เปอร์เซ็นต์

## ประวัติ

ชื่อ นางสาวกาญจนา วิจิตระกุลถาวร

วัน เดือน ปี เกิด 27 สิงหาคม 2514

ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 ที่โรงเรียน วัดโนนทัยพาศ์พ  
จังหวัดเชียงใหม่ เมื่อปีการศึกษา 2532  
สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาโรคพืช คณะ  
เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อปีการศึกษา 2536

ประสบการณ์การทำงาน ปี พ.ศ 2536 จนถึงปัจจุบัน เป็นนักวิชาการโรคพืช งาน  
อารักขาพืชบนที่สูง มูลนิธิโครงการหลวง จังหวัดเชียงใหม่

ทุนการศึกษา ได้รับทุนการศึกษา ไอ ซี ไอ รัชมังคลาภิเษก