ภาคผนวก

การเตรียมอาหาร PDA ผสม Rose Bengal

เตรียมโดยการชั่ง Rose Bengal มา 0.05 กรัม ผสมในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร แล้วใช้ micropipette ดูดสารละลายมาจำนวน 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหาร PDA ที่หลอมเหลวแล้วจำนวน 200 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน อาหาร PDA ที่ผสม Rose Bengal จะมีสีเป็นสีแดงเข้มหรือสีแดงเลือดหมู

การเตรียม inoculum ของเชื้อราสาเหตุ

การเตรียม spore suspension ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยนำเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA) ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นจึงทำการชักนำให้เชื้อราสร้างสปอร์ (spore induction) โดยใช้วิธีการขูดเส้นใย เทน้ำที่สะอาดลงไปในจานอาหาร จากนั้นใช้แผ่นสไลด์ขูดเส้นใยเชื้อราออกจากผิวหน้าอาหารแล้วล้างอีกครั้งด้วยน้ำสะอาด นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปคว่ำไว้บนตะกร้า โดยวางให้อยู่ในสภาพที่มีการระบายอากาศหรือมีอากาศผ่านได้ ทำการตรวจวัดสปอร์ ในอีก 3 วันถัดมา นับปริมาณและปรับความเข้มข้นของ inoculum ให้ได้ประมาณ 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ด้วย Haemacytometer

การเตรียม spore suspension ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* โดยทำการเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 21 วัน จากนั้นจึงใช้สไลด์แก้วขูดผิวหน้าของอาหารที่มี pycnidia อยู่ แล้วใส่ลงในโกร่งบดยาที่สะอาดใช้ที่บดของโกร่งบด pycnidia เบาๆ เพื่อให้ pycnidia แตกออกและ conidia ทะลักออกมา จากนั้นจึงเตรียมสปอร์แขวนลอยโดยการนำสปอร์แขวนลอยจากทุกจานอาหารเลี้ยงเชื้อมาเทรวมกันในบีกเกอร์ แล้วกรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น เพื่อแยกเอาเส้นใยออก จากนั้นจึงนำมานับปริมาณและปรับความเข้มข้นของ inoculum ให้ได้ปริมาณ 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ด้วย Haemacytometer

การประเมินความเสียหายที่เกิดจากโรค

การหาปริมาณของโรค (disease intensity) โดยการนับจำนวนใบที่เป็นโรคต่อต้น แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคจากจำนวนใบทั้งหมดในแต่ละกรรมวิธี

การประเมินผล ประเมินพื้นที่ใบที่เป็นโรคต่อต้น ในแต่ละการทดลอง โดยแบ่งปริมาณของโรคเป็น 11 ระดับ คือ 0-10 โดยที่ 0 = ใบที่ไม่มีอาการของโรค และ 10 = พื้นที่ใบที่เป็นโรค 100%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รวมถึงอาการใบร่วงที่เกิดจากโรคด้วย นำค่าที่ได้จากการประเมินของโรคมาแปลงเป็นค่าความเสียหายของพืช (crop loss) การประเมินความเสียหาย กระทำโดยนำผลที่ได้จากการหาปริมาณของโรคมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การถูกทำลาย หรือดัชนีการเข้าทำลายโดยมีสูตรดังนี้

$$\% \text{ ดัชนีการเข้าทำลาย} = \frac{\text{ผลรวมของการเป็นโรคแต่ละระดับ}}{\text{จำนวนต้นพืชที่สุ่มวัด}} \times \frac{100}{\text{ระดับสูงสุดของระดับความรุนแรง}}$$

ตาราง 1 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

Source	DF	MS
Rep (A)	2	0.20459^{ns}
Day (B)	3	3.43073×10^{-3} **
Isolate (C)	20	6.49354×10^{-2} **
Day x Isolate (B x C)	60	21.1022 **
Error	166	0.05229
Total	251	
Grand Mean	30.06	

$LSD_{(0.05)} = 0.36$ CV (%) = 0.76%

$LSD_{(0.01)} = 0.48$

ns = nonsignificant difference

* = significant difference at 95% level.

** = significant difference at 91% level.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

Source	DF	MS
Rep (A)	2	0.06638^{ns}
Day (B)	3	3.22210×10^{-3} **
Isolate (C)	11	7.41503×10^{-2} **
Day x Isolate (B x C)	33	11.3890 **
Error	94	0.07772
Total	143	
Grand Mean	34.36	

$LSD_{(0.05)} = 0.45$ CV (%) = 0.81%

$LSD_{(0.01)} = 0.59$

ตาราง 3 ผลการวิเคราะห์จำนวนสปอร์เฉลี่ยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

Source	DF	MS
Rep (A)	2	0.02451^{ns}
Day (B)	3	3.11430×10^{-2} **
Isolate (C)	20	1.00261×10^{-2} **
Day x Isolate (B x C)	60	22.0475 **
Error	166	0.01189
Total	251	
Grand Mean	3.86	

$LSD_{(0.05)} = 0.17$ CV (%) = 2.82%

$LSD_{(0.01)} = 0.23$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4 ผลการวิเคราะห์จำนวนสปอร์เฉลี่ยของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

Source	DF	MS
Rep (A)	2	0.04040^{ns}
Day (B)	3	1.39922×10^{-2} **
Isolate (C)	11	1.56093×10^{-2} **
Day x Isolate (B x C)	33	39.0369 **
Error	94	0.00578
Total	143	
Grand Mean	3.67	

$LSD_{(0.05)} = 0.12$ CV (%) = 2.07%

$LSD_{(0.01)} = 0.16$

ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีที่ 1, 3, 5, 7, 9 และ 14 วัน

Source	DF	MS
Rep (A)	2	0.03669^{ns}
Day (B)	5	1.79219×10^{-2} **
Isolate (C)	6	21.4913 **
Day x Isolate (B x C)	30	1.46107 **
Error	32	0.03444
Total	152	
Grand Mean	6.48	

$LSD_{(0.05)} = 0.30$ CV (%) = 2.86%

$LSD_{(0.01)} = 0.40$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 6 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ก่อนพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Source	DF	MS
Rep (A)	2	3.11648^{ns}
Day (B)	2	4.15212×10^{-2} **
Isolate (C)	4	5.59140×10^{-2} **
Day count (D)	2	2.87423×10^{-2} **
Day x Isolate (B x C)	8	63.0435 **
Day x Day count (B x D)	4	30.6490 **
Isolate x Day count (C x D)	8	22.468 **
Day x Isolate x Day count (B x C x D)	16	8.21257 **
Error	88	0.37934
Total	134	
Grand Mean	33.41	

$LSD_{(0.05)} = 1.00$ CV (%) = 1.84%

$LSD_{(0.01)} = 1.33$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 7 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ก่อนพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Source	DF	MS
Rep (A)	2	1.14224^{ns}
Day (B)	2	2.16872×10^{-3} **
Isolate (C)	4	4.34613×10^{-3} **
Day count (D)	2	4.43586×10^{-3} **
Day x Isolate (B x C)	8	1.60723×10^{-2} **
Day x Day count (B x D)	4	0.33192 **
Isolate x Day count (C x D)	8	15.3648 **
Day x Isolate x Day count (B x C x D)	16	3.19491 **
Error	88	0.10736
Total	134	
Grand Mean	56.06	

$LSD_{(0.05)} = 0.53$ CV (%) = 0.58%

$LSD_{(0.01)} = 0.71$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 8 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ หลังพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Source	DF	MS
Rep (A)	2	4.15505^{ns}
Day (B)	2	1.54217×10^{-2} **
Isolate (C)	4	7.47770×10^{-2} **
Day count (D)	2	3.52220×10^{-2} **
Day x Isolate (B x C)	8	42.9895 **
Day x Day count (B x D)	4	7.94340 **
Isolate x Day count (C x D)	8	15.2210 **
Day x Isolate x Day count (B x C x D)	16	17.3851 **
Error	88	0.18683
Total	134	
Grand Mean	32.76	

$LSD_{(0.05)} = 0.70$ CV (%) = 1.31%

$LSD_{(0.01)} = 0.93$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 9 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ หลังพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Source	DF	MS
Rep (A)	2	3.34563^{ns}
Day (B)	2	7.03099×10^{-2} **
Isolate (C)	4	2.13871×10^{-3} **
Day count (D)	2	3.31105×10^{-3} **
Day x Isolate (B x C)	8	68.6175 **
Day x Day count (B x D)	4	14.3187 **
Isolate x Day count (C x D)	8	31.5468 **
Day x Isolate x Day count (B x C x D)	16	4.09628 **
Error	88	0.74986
Total	134	
Grand Mean	59.99	

$LSD_{(0.05)} = 1.41$ CV (%) = 1.44%

$LSD_{(0.01)} = 1.88$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวพรอุษา แพรวัฒนะสุข
วัน เดือน ปีเกิด	29 ตุลาคม 2523
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย ในปีการศึกษา 2541 จาก โรงเรียนสิงห์บุรี จังหวัดสิงห์บุรี
	สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี (วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช) ปีการศึกษา 2545 จากภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved