

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อรา

1. Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่ง	200	กรัม
Agar	20	กรัม
Dextrose	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

เตรียมโดยตัดมันฝรั่งเป็นชิ้นเล็กๆ สี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มมันฝรั่งให้สุกในน้ำ 500 มิลลิลิตร กรองเอาน้ำมันฝรั่งออกด้วยผ้าขาวบาง ผสมน้ำมันฝรั่งที่ได้กับ Agar ที่ต้มจนละลายในน้ำ 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Dextrose ลงไปคนให้ละลายเข้ากันปรับ ปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 1 ลิตร และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

2. Malt Extract Broth (MEB)

Malt Extract	30	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Peptone	1	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

เตรียมโดยการผสม Malt Extract, Dextrose และ Peptone ลงในน้ำ 1 ลิตร และนำไปหลอม ละลายให้เข้ากัน และปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 1 ลิตร

3. Quarter Potato Dextrose Agar (¼ PDA)

มันฝรั่ง	50	กรัม
Dextrose	5	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

เตรียมโดยตัดมันฝรั่งเป็นชิ้นเล็กๆ สี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มมันฝรั่งให้สุกในน้ำ 500 มิลลิลิตร กรองเอาน้ำมันฝรั่งออกด้วยผ้าขาวบาง ผสมน้ำมันฝรั่งที่ได้กับ Agar ที่ต้มจนละลายในน้ำ 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Dextrose ลงไปคนให้ละลายเข้ากันปรับ ปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 1 ลิตร และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

ภาคผนวก ข
สารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมและชนิดสัมผัส

1. สารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึม (systemic fungicide)

1.1 คาร์เบนดาซิม

ชื่อการค้า : บาวิสติน® เอฟแอล (Bavistin® FL)

ชื่อสามัญ : คาร์เบนดาซิม (carbendazim)

ทะเบียนวัตถุอันตรายเลขที่ : 1186/2543

สารสำคัญ : methyl benzimidazole-2-ylcarbamate.....50% W/V

ตาราง 21 อัตราการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมในการควบคุมโรคพืช

พืช	โรค	อัตราการใช้
ข้าว	โรคใบไหม้ โรคกาบใบแห้ง โรคใบขีดสีน้ำตาล	
เงาะ	โรคราแป้ง	6-12 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ถั่ว	โรคใบจุด โรคแอนแทรคโนส	พ่นให้ทั่วต้น
ส้ม	โรคสะเก็บ โรคมีลาโนส	
องุ่น	โรคราแป้ง โรคเถาแห้ง โรคแอนแทรคโนส	
ทุเรียน	โรคใบไหม้หรือใบดิด	10-20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
มะม่วง	โรคราแป้ง โรคแอนแทรคโนส	
ผัก	โรคราแป้ง โรคแอนแทรคโนส โรคใบจุด	10-20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ไม้ดอกไม้ประดับ	โรคใบจุด โรคราแป้ง โรคราสีเทา โรคจุดดำ	พ่นให้ทั่วต้น
ผลไม้หลังเก็บเกี่ยว	โรคแอนแทรคโนส โรคผลเน่า	10-20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จุ่มผลไม้แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง ก่อนนำไปเก็บในห้องเย็น
สับปะรด	โรคหน่อเน่า	30-60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร สำหรับใช้ชุบหน่อพันธุ์
อ้อย	โรคกลิ้งสับปะรด	6-12 กรัม/น้ำ 20 ลิตร สำหรับชุบก่อนปักก่อนปลูก
หอม กระเทียม	โรคใบเน่า หรือ โรคแอนแทรคโนส โรคหอมเลื้อย หรือ โรคคั้นบิดไม่ลงหัวของหอม	10-15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นให้ทั่วต้น
หน่อไม้ฝรั่ง	โรคลำต้นไหม้ โรคใบร่วง โรคแอนแทรคโนส	15-20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นให้ทั่วต้น

1.2 บีโนมิล

ชื่อการค้า: ฟันดาโซล 50 (Fundazole 50)

ชื่อสามัญ : เบนโนมิล (benomyl)

ทะเบียนวัตถุอันตรายเลขที่ 1943/2543

สารสำคัญ : : methyl-(butycarbamoyl)-benzimidazole-2-ylcarbamate.....50% W/P

ตาราง 22 อัตราการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราบีโนมิลในการควบคุมโรคพืช

พืช	โรค	อัตราการใช้
ข้าว	โรคกาบใบแห้ง โรคกาบใบเน่า	30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
	โรคไหม้ โรคใบจุดสีน้ำตาล	พ่นเมื่อพบการระบาด
ฝ้าย	โรคเน่าคอดิน	5-10 กรัม คลุกเมล็ดพันธุ์ 1 กก. โดยคลุกก่อนปลูก 1 วัน
	โรคแอนแทรกคโนส หรือผลเน่า โรคข้าวหิวเน่า	6 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ผสมน้ำอุ่น 55° c ใช้อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร แช่ผลนาน 5 นาที ผสมสารละลายแล้วจุ่ม กล้วยทั้งหวี
ถั่วเขียว	โรคใบจุดสีน้ำตาล โรคราแป้ง	
ถั่วลิสง	โรคใบจุด	15-30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ถั่วเหลือง	โรคแอนแทรกคโนส	พ่นเมื่อเริ่มการระบาด
มันสำปะหลัง	โรคใบจุดสีน้ำตาล	
ไม้ดอกไม้ประดับ	โรคราแป้ง โรคใบจุด โรคราสี เทา	20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
	โรคแอนแทรกคโนส โรคผลเน่า	

1.3 ไทโอฟานเนต เมทซิล

ชื่อการค้า : ท็อปซิน เอ็ม (TOPSIN M)

ชื่อสามัญ : ไทโอฟานเนต เมทซิล (thiophanate methyl)

ทะเบียนวัตถุอันตรายเลขที่ 1045/2543

สารสำคัญ : dimethyl 4,4'-(o-phenylene) bis (3-thioallophanate) 70 %

ตาราง 23 อัตราการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราไทโอฟานเนต เมทซิลในการควบคุมโรคพืช

พืช	โรค	อัตราการใช้
ข้าว	โรคไหม้	20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
	โรคใบขีดสีน้ำตาล	10-15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ถั่วเขียว	โรคใบจุดสีน้ำตาล	20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ถั่วเขียวฝักดำ	โรคเน่าดำ	7.5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
องุ่น	โรคเถาแห้ง	10-15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

1.4 ไซโปรโคนาโซล

ชื่อการค้า : อัลโต® เอ เอส แอล (Alto® ASL)

ชื่อสามัญ : ไซโปรโคนาโซล (cyproconazole)

ทะเบียนวัตถุอันตรายเลขที่ : 2987/2545

สารสำคัญ : 2-(4-chlorophenyl)-3-cyclopropyl-1-(1H-1, 2, 4-triazole-1-yl)-buta-2-ol....10% W/V SL

ตาราง 24 อัตราการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราไซโปรโคนาโซลในการควบคุมโรคพืช

พืช	โรค	อัตราการใช้
องุ่น	โรคแอนแทรคโนส	20 cc/น้ำ 20 ลิตร
มะม่วง	โรคแอนแทรคโนส	10-20 cc/น้ำ 20 ลิตร
หอมหัวใหญ่	โรคใบจุด	10-20 cc/น้ำ 20 ลิตร

1.5 เฮกซะโคนาโซล

ชื่อการค้า : แอนวิล (Anvil)

ชื่อสามัญ : เฮกซะโคนาโซล (hexaconazole)

ทะเบียนวัตถุอันตรายเลขที่ : 2987/2544

สารสำคัญ : (RS)-2-(2, 4-dichlorophenyl) 1-(1H-1, 2, 4,-triazol-1-yl) hexan-2-ol5% W/V SC

ตาราง 25 อัตราการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราเฮกซะโคนาโซลในการควบคุมโรคพืช

พืช	โรค	อัตราการใช้
ข้าว	โรคกาบใบแห้ง	30 cc/น้ำ 20 ลิตร
	โรคเมล็ดด่าง	
องุ่น	โรคแอนแทรคโนส	20 cc/น้ำ 20 ลิตร
มะม่วง	โรคแอนแทรคโนส	10-20 cc/น้ำ 20 ลิตร
หอมหัวใหญ่	โรคใบจุดสีม่วง	10-20 cc/น้ำ 20 ลิตร
เบญจมาศ	โรคราสนิมขาว	20 cc/น้ำ 20 ลิตร
เงาะ	โรคช่อดอกแห้ง	20 cc/น้ำ 20 ลิตร
	โรคราแป้ง	10 cc/น้ำ 20 ลิตร
ถั่วเหลือง	โรคเมล็ดสีม่วง	40 cc/น้ำ 20 ลิตร

1.6 เบนาล็อกซิล

ชื่อการค้า : กัลเบ็น® 35 (GALBEN® 35 SD)

ชื่อสามัญ : เบนาล็อกซิล (benalaxyl)

ทะเบียนวัตถุอันตรายเลขที่ : 453-37

สารสำคัญ : DL-alanine, N-(2, 6-dimethylphenyl)-N-(phenylacetyl)-methyl ester 35%

ตาราง 26 อัตราการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราเบนาล็อกซิลในการควบคุมโรคพืช

พืช	โรค	อัตราการใช้
ยาสูบ	โรคกล้าเน่า โคนเน่า ใบไหม้	14 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
พริกไทย		20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
มะเขือเทศ	ใบจุดตาเสือ	10-15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

2. สารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดสัมผัส (contact fungicide)

2.1 แมนโคเซ็บ

ชื่อการค้า : แมนพอซ (Manphose)

ชื่อสามัญ : แมนโคเซ็บ (mancozeb)

ทะเบียนวัตถุอันตรายเลขที่ : 193/2546

สาระสำคัญ : Manganese ethylenebis (dithiocarbamate) (polymeria) complex with zinc salt 50% WP

ตาราง 27 อัตราการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราแมนโคเซ็บในการควบคุมโรคพืช

พืช	โรค	อัตราการใช้
พริก	โรครากเน่า	80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
	โรคแอนแทรคโนส	48 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
	โรครังแค	50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
มะเขือเทศ	โรคใบจุดดำมะเขือ	80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ผักกาดขาวปลี	โรคใบจุด	50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ข้าว	โรคกาบใบเน่าหรือโรคแห้ง	20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
	โรคถอดฝักดาบ	พ่นเมื่อข้าวเริ่มตั้งตัว
ถั่วลิสง	โรคใบจุด โรคราสนิม	20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ถั่วเหลือง	โรคแอนแทรคโนส	30-40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
	โรคราสนิม	
แตงโม แตงกวา แตงร้าน บวบ	โรคราน้ำค้าง	20-30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
แคนตาลูป		พ่นเมื่อโรคระบาด
หน่อไม้ฝรั่ง แครอท	โรคใบจุด	20-30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นเมื่อโรคระบาด
ข้าวโพดหวาน	โรคใบจุด	
มันฝรั่ง	โรคใบไหม้	
หอมใหญ่ หอมแดง หอมแบ่ง	โรคใบจุดสีม่วง	50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กระเทียม		
คะน้า	โรคราน้ำค้าง	
ข้าวโพดหวาน	โรคใบจุด	

2.2 คลอโรธาโรนิล

ชื่อการค้า : ดาโคนิล (Daconil)

ชื่อสามัญ : คลอโรธาโลนิล (chlorothalonil)

ทะเบียนวัตถุอันตรายเลขที่ : 221/2542

สารสำคัญ : tetrachloroisophthalonitrile75 % WP

ตาราง 28 อัตราการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราคลอโรธาโรนิลในการควบคุมโรคพืช

พืช	โรค	อัตราการใช้
กล้วยไม้	โรคใบจุด	20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กุหลาบ	โรคใบจุดสีดำ	20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ถั่วลิสง	โรคราสนิม	40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ผักกาดขาว	โรคใบจุด	20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ผักกาดขาวปลี	โรคใบจุด	20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
แตงกวา	โรคราน้ำค้าง และ โรคแอนแทรกโนส	35 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
มันฝรั่ง	โรคใบไหม้	25-50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
มะเขือเทศ	โรคใบไหม้	50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ยาสูบ	โรคตากบ	35-50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
	โรคใบจุดสีน้ำตาล	100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
พริก	โรคกุ้งแห้ง	25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กระเทียม	โรคใบจุดสีม่วง	40-60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

2.3 คอปเปอร์ ออกซีคลอไรด์

ชื่อการค้า : โคปีนา 85 WP (COPINA 85 WP)

ชื่อสามัญ : คอปเปอร์ ออกซีคลอไรด์ (copper oxychloride)

ทะเบียนวัตถุอันตรายเลขที่ : 870/2541

สารสำคัญ : dicopper chloride trihydroxide (containing metallic copper)..... 85% WP

ตาราง 29 อัตราการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราคอปเปอร์ออกไซด์หรือออกซิดลอร์ไต์ในการควบคุมโรคพืช

พืช	โรค	อัตราการใช้
มะม่วง	แอนแทรคโนส	30-80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นระยะแตกใบอ่อน ก่อนดอก บานและระยะติดผล
หน่อไม้ฝรั่ง	ใบเหี่ยวร่วง	30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นเมื่อพบโรค 5-7 วันต่อครั้ง
องุ่น	โรคราน้ำค้าง โรคแอนแทรคโนส	
ส้ม	โรคมิลลาโนส โรคสะเก็บ	
ถั่ว	โรคใบจุด	
กล้วย	โรคใบจุด	
มันฝรั่ง	โรคใบไหม้	
มะเขือเทศ	โรคใบไหม้	
ผัก	โรคใบจุด โรคราน้ำค้าง	
มะเขือ	โรคใบจุด	
กาแฟ	โรคราสนิม โรคใบจุด โรคผลเน่า	30-80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
ชา	โรคราสนิมแดง โรคแอนแทรคโนส	
ยาสูบ	โรคใบจุด	
พริก	โรคใบจุด	
ยางพารา	โรคแอนแทรคโนส	
ไม้ดอกไม้ประดับ	โรคใบจุด โรคแอนแทรคโนส โรคราน้ำค้าง โรคใบแห้ง	
มะนาว	โรคแคงเกอร์	
เผือก	โรคใบไหม้ หรือใบจุดตาเสือ	
พืชตระกูลแตง	โรคราน้ำค้าง	

ภาคผนวก ค
การคำนวณอัตราการใช้สารเคมี

1. คาร์เบนดาซิม

คาร์เบนดาซิมมีสารออกฤทธิ์ 50% W/V มีอัตราการใช้ 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

$$\begin{array}{l} \text{ในน้ำ } 20 \times 10^3 \text{ มิลลิลิตร มีเนื้อสารเคมีเท่ากับ } 20 \text{ มิลลิลิตร} \\ \text{ในน้ำ } 10^6 \text{ มิลลิลิตร มีเนื้อสารเคมีเท่ากับ } \frac{20 \times 10^6}{20 \times 10^3} = 1,000 \text{ มิลลิลิตร} \end{array}$$

คาร์เบนดาซิมมีสารออกฤทธิ์ 50% W/V หมายความว่า

$$\begin{array}{l} \text{คาร์เบนดาซิม } 100 \text{ มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์เท่ากับ } 50 \text{ มิลลิลิตร} \\ \text{คาร์เบนดาซิม } 1,000 \text{ มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์เท่ากับ } \frac{50 \times 1,000}{100} = 500 \text{ มิลลิลิตร} \end{array}$$

$$\text{ดังนั้นจะมีอัตราแนะนำเท่ากับ } = 500 \text{ ppm}$$

ปริมาณที่ผสมลงในน้ำ

$$\begin{array}{l} \text{ในน้ำ } 10^6 \text{ มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์ } 500 \text{ มิลลิลิตร} \\ \text{ในน้ำ } 100 \text{ มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์ } \frac{500 \times 100}{10^6} = 0.05 \text{ มิลลิลิตร} \end{array}$$

คาร์เบนดาซิมมีสารออกฤทธิ์ 50% นั่นคือ

$$\begin{array}{l} \text{สารออกฤทธิ์ } 50 \text{ มิลลิลิตร นำเนื้อสารมาจากภาชนะ } 100 \text{ มิลลิลิตร} \\ \text{สารออกฤทธิ์ } 0.05 \text{ มิลลิลิตร นำเนื้อสารมาจากภาชนะ } \frac{100 \times 0.05}{50} = 0.1 \text{ มิลลิลิตร} \end{array}$$

ดังนั้น ถ้าต้องการเตรียมสารคาร์เบนดาซิม 500 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

จะต้องเตรียมสารคาร์เบนดาซิม 0.1 มิลลิลิตร + น้ำ 99.9 มิลลิลิตร = 100 มิลลิลิตร

เมื่อสารคาร์เบนดาซิมที่ความเข้มข้น 500 ppm จะต้องนำเนื้อสารมา 0.1 มิลลิลิตร

ถ้าต้องการสารคาร์เบนดาซิมที่ความเข้มข้น 100,000 ppm นำเนื้อสารมา

$$= \frac{0.1 \times 100,000}{500} = 20 \text{ มิลลิลิตร}$$

เตรียม Stock (S) สารคาร์เบนดาซิม โดยการคำนวณจากสูตร $M_1V_1 = M_2V_2$

เมื่อ M_1 = ความเข้มข้นของสารเริ่มต้น

M_2 = ความเข้มข้นของสารที่ต้องการ

V_1 = ปริมาตรของสารเริ่มต้น

V_2 = ปริมาตรรวมของสารที่ต้องการ

แทนค่าตัวเลขลงในสูตร

เตรียม (S1) ความเข้มข้น 100,000 ppm = คาร์เบนดาซิม 20 ml + น้ำ 80 ml = 100 ml

เตรียม (S2) ความเข้มข้น 50,000 ppm จาก (S1)

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$1 \times 10^5 (V_1) = 5 \times 10^4 \times 20$$

$$V_1 = \frac{5 \times 10^4 \times 20}{1 \times 10^5} = 10 \text{ ml}$$

ดังนั้นความเข้มข้น 50,000 ppm = (S1) 10 ml + น้ำ 10 ml = 20 ml

เตรียม (S3) ความเข้มข้น 5,000 ppm จาก (S2)

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$50,000 (V_1) = 5,000 \times 10$$

$$V_1 = \frac{5,000 \times 10}{50,000} = 1 \text{ ml}$$

ดังนั้นความเข้มข้น 5,000 ppm = (S2) 1 ml + น้ำ 9 ml = 10 ml

เตรียม (S4) ความเข้มข้น 100 ppm จาก (S3)

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$5,000 (V_1) = 100 \times 50$$

$$V_1 = \frac{100 \times 50}{5,000} = 1 \text{ ml}$$

ดังนั้นความเข้มข้น 100 ppm = (S3) 1 ml + น้ำ 49 ml = 50 ml

แทนค่าตัวเลขลงในสูตร

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารคาร์เบนดาซิม

ที่ความเข้มข้น 1, 10, 100 และ 500 ppm จาก Stock สารเคมีที่เตรียมไว้ข้างต้น

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm จาก (S4)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 1 \times 100 &= 100 (V_2) \\ V_2 &= \frac{100}{100} = 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้น 1 ppm = (S4) 1 ml + PDA 99 ml = 100 ml

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm จาก (S3)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 10 \times 100 &= 5,000 (V_2) \\ V_2 &= \frac{1,000}{5,000} = 0.2 \text{ ml} = 200 \mu\text{l} \end{aligned}$$

ดังนั้น 10 ppm = (S3) 200 μl + PDA 99.8 ml = 100 ml

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm จาก (S3)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 100 \times 100 &= 5,000 (V_2) \\ V_2 &= \frac{100 \times 100}{5,000} = 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้น 100 ppm = (S3) 2 ml + PDA 98 ml = 100 ml

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm จาก (S1)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 500 \times 100 &= 50,000 (V_2) \\ V_2 &= \frac{5 \times 10^4}{5 \times 10^4} = 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้น 500 ppm = (S2) 1 ml + PDA 99 ml = 100 ml

2. บีโนมิล

บีโนมิลมีสารออกฤทธิ์ 50% W/P มีอัตราการใช้ 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

ในน้ำ 20×10^3 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเคมีเท่ากับ 20 กรัม

ในน้ำ 10^6 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเคมีเท่ากับ $\frac{20 \times 10^6}{20 \times 10^3} = 1,000$ กรัม

บีโนมิลมีสารออกฤทธิ์ 50% W/V หมายความว่า

บีโนมิล 100 มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์เท่ากับ 50 กรัม

บีโนมิล 1,000 มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์เท่ากับ $\frac{50 \times 1,000}{100} = 500$ กรัม

ดังนั้นจะมีอัตราแนะนำเท่ากับ = 500 ppm

ปริมาณที่ผสมลงในน้ำ

ในน้ำ 10^6 มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์ 500 กรัม

ในน้ำ 100 มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์ $\frac{500 \times 100}{10^6} = 0.05$ กรัม

บีโนมิลมีสารออกฤทธิ์ 50% นั่นคือ

สารออกฤทธิ์ 50 กรัม นำเนื้อสารมาจากภาชนะ 100 กรัม

สารออกฤทธิ์ 0.05 กรัม นำเนื้อสารมาจากภาชนะ $\frac{100 \times 0.05}{50} = 0.1$ กรัม

ดังนั้น ถ้าต้องการเตรียมสารบีโนมิล 500 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

จะต้องเตรียมสารบีโนมิล 0.1 กรัม + ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร

เมื่อสารบีโนมิลที่ความเข้มข้น 500 ppm จะต้องนำเนื้อสารมา 0.1 กรัม

ถ้าต้องการบีโนมิลที่ความเข้มข้น 10,000 ppm นำเนื้อสารมา $= \frac{0.1 \times 10,000}{500} = 2$ กรัม

เตรียม Stock (S) สารบีโนมิลโดยการคำนวณจากสูตร $M_1V_1 = M_2V_2$

เตรียม (S1) ความเข้มข้น 10,000 ppm = บีโนมิล 2 กรัม + ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 100 มิลลิลิตร

เตรียม (S2) ความเข้มข้น 5,000 ppm จาก (S1)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 10^4 (V_1) &= 5,000 \times 20 \\ V_1 &= \frac{5,000 \times 20}{10^4} = 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้นความเข้มข้น 5,000 ppm = (S1) 10 ml + น้ำ 10 ml = 20 ml

เตรียม (S3) ความเข้มข้น 100 ppm จาก (S2)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 5,000 (V_1) &= 100 \times 20 \\ V_1 &= \frac{100 \times 20}{5,000} = 0.4 \text{ ml} = 400 \mu\text{l} \end{aligned}$$

ดังนั้นความเข้มข้น 100 ppm = (S2) 400 μl + น้ำ 19.6 ml = 20 ml

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารบีโนมิล

ที่ความเข้มข้น 1, 10, 100 และ 500 ppm จาก Stock สารเคมีที่เตรียมไว้ข้างต้น

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm จาก (S3)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 1 \times 100 &= 100 (V_2) \\ V_2 &= \frac{100}{100} = 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้น 1 ppm = (S3) 1 ml + PDA 99 ml = 100 ml

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm จาก (S2)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 10 \times 100 &= 5,000 (V_2) \\ V_2 &= \frac{1,000}{5,000} = 0.2 \text{ ml} = 200 \mu\text{l} \end{aligned}$$

ดังนั้น 10 ppm = (S2) 200 μl + PDA 99.8 ml = 100 ml

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm จาก (S2)

$$\begin{aligned} M_1 V_1 &= M_2 V_2 \\ 100 \times 100 &= 5,000 (V_2) \\ V_2 &= \frac{100 \times 100}{5,000} = 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้น 100 ppm = (S2) 2 ml + PDA 98 ml = 100 ml

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm จาก (S1)

$$\begin{aligned} M_1 V_1 &= M_2 V_2 \\ 500 \times 100 &= 10,000 (V_2) \\ V_2 &= \frac{5 \times 10^4}{1 \times 10^4} = 5 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้น 500 ppm = (S1) 5 ml + PDA 95 ml = 100 ml

3. ไทโอฟานเนต เมทซิล

ไทโอฟานเนต เมทซิลมีสารออกฤทธิ์ 70% W/P มีอัตราการใช้ 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

ในน้ำ 20×10^3 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเคมีเท่ากับ 20 กรัม

ในน้ำ 10^6 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเคมีเท่ากับ $\frac{20 \times 10^6}{20 \times 10^3} = 1,000$ กรัม

ไทโอฟานเนต เมทซิลมีสารออกฤทธิ์ 70% W/P หมายความว่า

ไทโอฟานเนต เมทซิล 100 มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์เท่ากับ 70 กรัม

ไทโอฟานเนต เมทซิล 1,000 มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์เท่ากับ $\frac{70 \times 1,000}{100} = 700$ กรัม

ดังนั้นจะมีอัตราแนะนำเท่ากับ = 700 ppm

ปริมาณที่ผสมลงในน้ำ

ในน้ำ 10^6 มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์ 700 กรัม

ในน้ำ 40 มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์ $\frac{700 \times 10}{10^6} = 0.028$ กรัม

ไทโอฟานเนต เมทิลมีสารออกฤทธิ์ 70% นั่นคือ

สารออกฤทธิ์ 70 มิลลิลิตร นำเนื้อสารมาจากภาชนะ 100 กรัม

สารออกฤทธิ์ 0.028 มิลลิลิตร นำเนื้อสารมาจากภาชนะ $\frac{100 \times 0.028}{70} = 0.04$ กรัม

ดังนั้น ถ้าต้องการเตรียมสารไทโอฟานเนต เมทิล 700 ppm ปริมาตร 40 มิลลิลิตร

จะต้องเตรียมสารไทโอฟานเนต เมทิล 0.04 กรัม + ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 40 มิลลิลิตร

เมื่อสารไทโอฟานเนต เมทิลที่ความเข้มข้น 700 ppm จะต้องนำเนื้อสารมา 0.04 กรัม

ถ้าต้องการสารไทโอฟานเนต เมทิลที่ความเข้มข้น 100,000 ppm จะต้องนำเนื้อสารมา

$$= \frac{0.04 \times 100,000}{700} = 5.71 \text{ กรัม}$$

เตรียม Stock (S) สารไทโอฟานเนต เมทิลโดยการคำนวณจากสูตร $M_1V_1 = M_2V_2$

เตรียม (S1) ความเข้มข้น 100,000 ppm = ไทโอฟานเนต เมทิล 5.71 กรัม + ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 40 มิลลิลิตร

เตรียม (S2) ความเข้มข้น 50,000 ppm จาก (S1)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 1 \times 10^5 (V_1) &= 5 \times 10^4 \times 20 \\ V_1 &= \frac{5 \times 10^4 \times 20}{1 \times 10^5} = 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้นความเข้มข้น 50,000 ppm = (S1) 10 ml + น้ำ 10 ml = 20 ml

เตรียม (S3) ความเข้มข้น 5,000 ppm จาก (S2)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 50,000 (V_1) &= 5,000 \times 10 \\ V_1 &= \frac{5,000 \times 10}{50,000} = 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้นความเข้มข้น 5,000 ppm = (S2) 1 ml + น้ำ 9 ml = 10 ml

เตรียม (S4) ความเข้มข้น 100 ppm จาก (S3)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 5,000 (V_1) &= 100 \times 50 \\ V_1 &= \frac{100 \times 50}{5,000} = 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้นความเข้มข้น 5,000 ppm = (S3) 1 ml + น้ำ 49 ml = 50 ml

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารไทโอฟานต เมทริล

ที่ความเข้มข้น 1, 10, 100 และ 500 ppm จาก Stock สารเคมีที่เตรียมไว้ข้างต้น

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm จาก (S4)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 1 \times 100 &= 100 (V_2) \\ V_2 &= \frac{100}{100} = 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้น 1 ppm = (S4) 1 ml + PDA 99 ml = 100 ml

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm จาก (S3)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 10 \times 100 &= 5,000 (V_2) \\ V_2 &= \frac{1,000}{5,000} = 0.2 \text{ ml} = 200 \mu\text{l} \end{aligned}$$

ดังนั้น 10 ppm = (S3) 200 μl + PDA 99.8 ml = 100 ml

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm จาก (S3)

$$\begin{aligned} M_1V_1 &= M_2V_2 \\ 100 \times 100 &= 5,000 (V_2) \\ V_2 &= \frac{100 \times 100}{5,000} = 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้น 100 ppm = (S3) 2 ml + PDA 98 ml = 100 ml

เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm จาก (S2)

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$500 \times 100 = 50,000 (V_2)$$

$$V_2 = \frac{5 \times 10^4}{5 \times 10^4} = 1 \text{ ml}$$

$$\text{ดังนั้น } 500 \text{ ppm} = (\text{S2}) 1 \text{ ml} + \text{PDA } 99 \text{ ml} = 100 \text{ ml}$$

สำหรับสารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดอื่นๆ ทำการคำนวณความเข้มข้นและอัตราการใช้สารเคมีได้ด้วยสูตร $M_1V_1 = M_2V_2$ เช่นเดียวกันกับที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการสกัดแยกดีเอ็นเอ

1. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

ในการเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการสกัดแยกดีเอ็นเอต้องเตรียม stock solution ก่อนดังนี้

1.1 phenol: chloroform: isoamyl alcohol (25: 24: 1)

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

1.2 chloroform: isoamyl alcohol (24: 1)

ผสมสารละลาย chloroform 24 มิลลิลิตรกับ isoamyl alcohol 1 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.3 TE buffer

10 mM Tris-HCl (pH 8.0)	0.1	มิลลิลิตร
-------------------------	-----	-----------

1 mM EDTA (pH 8.0)	0.02	มิลลิลิตร
--------------------	------	-----------

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.4 70% ethanol

ผสมสารละลาย ethanol 70 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 30 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.5 ice-cold absolute alcohol

เตรียมสารละลาย absolute alcohol 100 มิลลิลิตร ใส่ขวดเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการสกัดแยกดีเอ็นเอตามวิธีของพัชรา (2543)

Extraction buffer

50 mM Tris –HCl (pH 8.0)

850 mM NaCl

100 mM EDTA

1% SDS

ผสม Tris –HCl 0.6 กรัม กับน้ำกลั่นหนึ่งขวด 70 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 8.0 เติม EDTA 3.7 กรัม กวนให้ก้นด้วย magnetic stirrer เติม NaCl 0.5 กรัม และ SDS 1 กรัม ละลายสารให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งขวดแล้วให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

3. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการสกัดแยกดีเอ็นเอตามวิธีของศรัญญา (2544)

2X CTAB

CTAB	0.8	กรัม
1M Tris (pH 8.0)	4	มิลลิลิตร
0.5M EDTA (pH 8.0)	1.6	มิลลิลิตร
5M NaCl	11.2	มิลลิลิตร

นำ CTAB 0.8 กรัม 1M Tris (pH 8.0) 4 มิลลิลิตร 0.5M EDTA (pH 8.0) 1.6 มิลลิลิตร 5M NaCl 11.2 มิลลิลิตร ผสมเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 40 มิลลิลิตร จากนั้นจึงนำไปหนึ่งขวด

10% CTAB

CTAB	2.0	กรัม
5M NaCl	2.8	มิลลิลิตร

ผสมสารเข้าด้วยกันและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 20 มิลลิลิตร จากนั้นจึงนำไปหนึ่งขวด

0.5M EDTA (pH 8.0)

disodium ethylenediamine tetraacetate · 2H₂O (EDTA) 136.1 กรัม ละลายสารในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้ได้ 8.0 ด้วย NaOH และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้น จึงนำไปหนึ่งขวด

1M Tris-HCl (pH 8.0)

Tris	121	กรัม
------	-----	------

ละลายสารในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้ได้ 8.0 ด้วย HCl และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

5M NaCl

ชั่ง NaCl 11.68 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 40 มิลลิลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

High Salt TE buffer

1M Tris	0.1	มิลลิลิตร
---------	-----	-----------

5M NaCl	2	มิลลิลิตร
---------	---	-----------

ผสม 1M Tris 0.1 มิลลิลิตร และ 5M NaCl 2 มิลลิลิตร เข้าด้วยกันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 10 มิลลิลิตร

4. การเตรียมสารละลายสำหรับเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส**4.1 5X TBE buffer**

Tris base	54	กรัม
-----------	----	------

Boric acid	27.5	กรัม
------------	------	------

500 mM EDTA (pH 8.0)	20	มิลลิลิตร
----------------------	----	-----------

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

4.2 1% อะกาโรสเจล (agarose)

Agarose gel	0.3	กรัม
-------------	-----	------

1X TBE buffer	30	มิลลิลิตร
---------------	----	-----------

ชั่งอะกาโรสเจล 0.3 กรัม ละลายใน 1X TBE buffer ปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหลอมละลายโดยใช้ไมโครเวฟ ทิ้งให้เย็นสักครู่จึงเทลงในถาดที่เตรียมไว้ ปล่อยให้เจลแข็งตัวประมาณครึ่งชั่วโมง ค่อยๆ ดึงหัวออก ข้ายแผ่นเจลใส่ในเครื่อง electrophoresis gel tank แล้วเติม TBE buffer ให้ท่วมผิวหน้าเจล

ภาคผนวก จ

ความหมายของนิวคลีโอไทด์และอักษรย่อของกรดอะมิโน

ตาราง 30 ความหมายของนิวคลีโอไทด์แต่ละตัว (base nucleic acid codon)

Symbol	Meaning
A	A (adenine)
C	C (cytosine)
G	G (guanine)
T	T (thymine)
R	A or G (pu <u>R</u> ine)
Y	C or T (p <u>Y</u> rimidine)
M	A or C
K	G or T
S	C or G
W	A or T
H	A, C or T not G
B	C, G or T not A
V	A, C or G not T
D	A, G or T not C
N	A, C, G or T

ที่มา: Mound (2001) อ้าง โดย สุภมิตร (2550)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 31 อักษรย่อของกรดอะมิโนแต่ละตัว (standard amino acid code letters)

1-letter code	3-letter code	Amino acid
A	Ala	Alanine
C	Cys	Cystene
D	Asp	Aspartic acid
E	Glu	Glutamic acid
F	Phe	Phenylalanine
G	Gly	Glycine
H	His	Histidine
I	Ile	Isoleucine
K	Lys	Lysine
L	Leu	Leucine
M	Met	Methionine
N	Asn	Asparagines
P	Pro	Praline
Q	Gln	Glutamine
R	Arg	Arginine
S	Ser	Serine
T	Thr	Threonine
V	Val	Valine
W	Trp	Tryptophan
Y	Tyr	Tyrosine
X	Xxx	Undetermined amino acid

ที่มา: Mound (2001) อ้างโดย ศุภมิตร (2550)

ภาคผนวก ฉ

ตำแหน่งจับของ primers CTBF/CTBR บน beta-tubulin (TUB2) gene (Accession No. U14138)

```

1 gggccaagc agtaacaag cgagctgcac ccctcccct ctgacctcgc tggcgtggg
61 tgggaccggt ggcggtgaac aaaatcacat ccaccgcaa acaaaaatca acaacctctt
121 cccctacctt tctctctgac ctcatccacc tccaccccaa ccacgtccga cttgaagctt
181 cgcgcgtagc tctcaagctc ttctcatcgc ctatcctcgg tcaagccag ctcagtgat
241 ttcatcatcc aaaatgcgtg agattgtaag ttgcagtcca taccacaat cacaacaacg
301 cttgcgacgc gtttatccgc cttgcccctg agcgtacccc gccgacattt ttaccgact
361 tctatgctca acaaacccgc gacgctgtc aatcatcgc gtcacaactc ggaatgtttt
421 gctgactgct gcctttttt tgtctacagg ttcacctca gaccggccag tgcgtaagtc
481 ttcccaagcc aaatctaacc gcctgattgc ggggctaacc tcctgtaca gggtaaccag
541 attggtgctg ccttctggta cgtgacgaga ccgccgacga cccggcaata tatacttgcg
601 aggacggcag atgttgacga tagagtaggc aaaacatttc tggcgagcac ggcctcgaca
661 gcaatggagt gtatgtcatg cccctttatc tggccacatt cgtggttgac cgctaaactc
721 gaacagctac aacggcacct ctgagctcca gctcgagcgc atgagcgtc acttcaacga
781 agtttggttac cttatagccc ccagagtgc agataaacat attgacgagt actgaccttc
841 gctcctacc aggcttccgg caacaagtac gtgcccctg ccgctcctcgt cgatttggag
901 cccggtacca tggacgccgt ccgtgctggc ccttctggcc agctgttccg ccccgacaac
961 ttctgcttcg gccagctcgg tgcgggcaac aactgggcca agggcacta caccgagggg
1021 gccgagctag tgcaccaggt tctcgatggt gtccgcccgc aggtcgaggg ctgagactgc
1081 ctccaggggt tccagatcac ccactccctc ggtgggtgga ccggtgcccg tatgggtacc
1141 ctctgatct ccaagatccg tgaggagtcc cccgaccgca tgatggccac cttctccgtc
1201 gttccctccc ccaaggtctc cgacaccggt gtcagaccct acaacgccac tctctccgtc
1261 caccagctgg tcgagaactc cgacgagacc ttctgcattg acaacgaggg tctctacgac
1321 atgtgcatgc gtaccctcaa gctgtccaac ccctcttacg gagacctgaa ccacctggtc
1381 tctgctgcta tgtccgggtg cactacctgc ctgctgttcc cggtcagct gaaactctgac
1441 ctgcgcaagc tggtgtgcaa catggttcct ttcccctgtc tcacttctt catggctcggc
1501 ttctgctccc tgaccagccg tggcgcacc tcttctccgc ccgctcaggt tcctgagctc
1561 acccagcaga tgttcgacc caagaacatg atggctgctt ctgacttccg caacgggtcgc
1621 tacctgacct gctctgccc cttgtgaggt gacctgaatg attccttttc catgattttg
1681 ctaactcatt ttctagccgt ggcaaggctc ctatgaagga tgtcagggac cagatgcgca
1741 acgtccagaa caagaactcc tcctacttcc tgcagtgatg ccccaacaac gtccagaccg
1801 ccctctgctc cattctccc cgcggcctca agatgtctc cactctcgtc ggtaacgcc
1861 ccgcatcca ggagctgctc aagcgtgctg gtgagcaggt cactgcccag ttccgctcga
1921 aggtcttctt gcattgggtc actggtgaggt gtatggacga gatggagttc actgaggtcg
1981 agtccaacat gaacgatttg tctccgaggt accagcaata ccaggacgct ggtgttgacg
2041 agggaggagg ggagctcag ggaggagctc ctcttgagga gggaggttaa gcgagctcta
2101 ataactgctt aacgcttagt gccacaccct caacaccac caatgtactc catccgtggg
2161 ggaatttctc ttctgactc tggctttgcc agaacatggg ctctagata tacctctctt
2221 agtagtacgc ctgacgtatc attcaggtac gaagaatcag acaatgttct gtaactactg
2281 gccaatatca atgctgtgta attcccccta atgcccaggt aagaagcaag gtaagaacgc
2341 gagttctctc tgtgaaaatc actgttggc aacctttctt ggcgcaaac cgaagctgc
2401 aaaccgaagc tgagctggta cagg

```

ภาพ 28 ตำแหน่งจับของ primers CTBF/CTBR บน beta-tubulin (TUB2) gene, complete cds ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschyromene* (Accession No. U14138) โดย

primer CTBF จะจับที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 1,150 ถึง 1,165 (แสดงโดยตัวอักษรสีเขียว)

primer CTBR จะจับที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 1,475 ถึง 1,490 (แสดงโดยตัวอักษรสีเขียว)

ทำให้ได้บางส่วนของ beta-tubulin (TUB2) gene ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุ

โรคแอนแทรกโนสของกุหลาบ ขนาด 341 bp (แสดงโดยตัวอักษรสีน้ำเงิน) ซึ่งครอบคลุมลำดับของ นิวคลีโอไทด์ที่มีผลต่อการเกิดการกลายพันธุ์ (แสดงโดยตัวอักษรสีแดง)

```

Query          1  GGGCCCAAGCAGTAAACAAGCGAGCTGCACCCCTTCCCTCTGACCTCGCTGGCTGGTG 60
Sbjct         1  GGGCCCAAGCAGTAAACAAGCGAGCTGCACCCCTTCCCTCTGACCTCGCTGGCTGGTG 60

Query          61  TCGGACCCGTGGCGGTGAACAAAATCACATCCACCCGCAACAAAATCAACAACCTCTT 120
Sbjct         61  TCGGACCCGTGGCGGTGAACAAAATCACATCCACCCGCAACAAAATCAACAACCTCTT 120

Query          121  CCCCTACCTATCCTCTCGACCTCATCCACCTCCACCCCAACCACGTCCGACTTGAAGCTT 180
Sbjct         121  CCCCTACCTATCCTCTCGACCTCATCCACCTCCACCCCAACCACGTCCGACTTGAAGCTT 180

Query          181  CGCGCGTAGCTCTCAAGCTCTTCTCATCGCCTATCCTCGGTCAAGCCAGCTCAGTGTAT 240
Sbjct         181  CGCGCGTAGCTCTCAAGCTCTTCTCATCGCCTATCCTCGGTCAAGCCAGCTCAGTGTAT 240

CDS: Putative 1 1  M R E I ~~~~~
Query          241  TTCATCATCCAAAATGCGTGAAGTTGTAAGTTGCAGTCCATCACCACAATCACAACAACG 300
Sbjct         241  TTCATCATCCAAAATGCGTGAAGTTGTAAGTTGCAGTCCATCACCACAATCACAACAACG 300
CDS:beta-tubulin [Co 1  M R E I ~~~~~

CDS: Putative 1 301  ~~~~~
Query          301  CTTGCGACGCGTTTATCCGCCTTGCCCTGAGCGTACCCCGCGACATTTTACCCGACT 360
Sbjct         301  CTTGCGACGCGTTTATCCGCCTTGCCCTGAGCGTACCCCGCGACATTTTACCCGACT 360
CDS:beta-tubulin [Co 301  ~~~~~

CDS: Putative 1 361  ~~~~~
Query          361  TCTATGCTCAACAAACCGCGACGCTGTCAATCATCGACGTCCAACCTTGGAAATGTTT 420
Sbjct         361  TCTATGCTCAACAAACCGCGACGCTGTCAATCATCGACGTCCAACCTTGGAAATGTTT 420
CDS:beta-tubulin [Co 361  ~~~~~

CDS: Putative 1 5  ~~~~~ V H L Q T G Q C ~~~~~
Query          421  GCTGACTGCTGCTTTTTTTTTGTCTACAGGTTACCTCCAGACCGGCCAGTGCCTAAGTC 480
Sbjct         421  GCTGACTGCTGCTTTTTTTTTGTCTACAGGTTACCTCCAGACCGGCCAGTGCCTAAGTC 480
CDS:beta-tubulin [Co 5  ~~~~~ V H L Q T G Q C ~~~~~

CDS: Putative 1 13  ~~~~~ G N Q ~~~~~
Query          481  TTCCAAGCCAAAATCTAACCCCTGATTGCGGGGCTAACCTCCTTGTACAGGGTAACAG 540
Sbjct         481  TTCCAAGCCAAAATCTAACCCCTGATTGCGGGGCTAACCTCCTTGTACAGGGTAACAG 540
CDS:beta-tubulin [Co 13  ~~~~~ G N Q ~~~~~

CDS: Putative 1 16  I G A A F W ~~~~~
Query          541  ATTGGTGTGCTTCTGTGACGTGACGAGACCGCCGACGACCCGCAATATATACTTGGC 600
Sbjct         541  ATTGGTGTGCTTCTGTGACGTGACGAGACCGCCGACGACCCGCAATATATACTTGGC 600
CDS:beta-tubulin [Co 16  I G A A F W ~~~~~

CDS: Putative 1 22  ~~~~~ Q N I S G E H G L D ~~~~~
Query          601  AGGACGGCAGATGTTGACGATAGAGTAGGCAAAACATTTCTGGCGAGCAGCGCCTCGACA 660
Sbjct         601  AGGACGGCAGATGTTGACGATAGAGTAGGCAAAACATTTCTGGCGAGCAGCGCCTCGACA 660
CDS:beta-tubulin [Co 22  ~~~~~ Q N I S G E H G L D ~~~~~

CDS: Putative 1 32  S N G V ~~~~~
Query          661  GCAATGGAGTGTATGTCATGCCCTTTATCTGGCCACATTCGTGGTTGACCGCTAAACTC 720
Sbjct         661  GCAATGGAGTGTATGTCATGCCCTTTATCTGGCCACATTCGTGGTTGACCGCTAAACTC 720
CDS:beta-tubulin [Co 32  S N G V ~~~~~

CDS: Putative 1 36  ~~~~~ Y N G T S E L Q L E R M S V Y F N E ~~~~~
Query          721  GAACAGCTACAACGGCACCTCTGAGCTCCAGCTCGAGCGCATGAGCGTCTACTTCAACGA 780
Sbjct         721  GAACAGCTACAACGGCACCTCTGAGCTCCAGCTCGAGCGCATGAGCGTCTACTTCAACGA 780
CDS:beta-tubulin [Co 36  ~~~~~ Y N G T S E L Q L E R M S V Y F N E ~~~~~

CDS: Putative 1 781  ~~~~~
Query          781  AGTTTGTACCTTATAGCCCCAGAGTGCAAGATAAACATATTGACGAGTACTGACCTTC 840
Sbjct         781  AGTTTGTACCTTATAGCCCCAGAGTGCAAGATAAACATATTGACGAGTACTGACCTTC 840
CDS:beta-tubulin [Co 781  ~~~~~

CDS: Putative 1 54  ~~~~~ A S G N K Y V P R A V L V D L E ~~~~~
Query          841  GCTCCTACCCAGGCTTCCGGCAACAAGTACGTGCCCGTGCCGCTCCTCGTATTGGAG 900
Sbjct         841  GCTCCTACCCAGGCTTCCGGCAACAAGTACGTGCCCGTGCCGCTCCTCGTATTGGAG 900
CDS:beta-tubulin [Co 54  ~~~~~ A S G N K Y V P R A V L V D L E ~~~~~

```

CDS: Putative 1 70 P G T M D A V R A G P F G Q L F R P D N
Query 901 CCCGGTACCATGGACGCCGTCCGTGCTGGTCTTTTCGGCCAGCTGTTCCGCCCCGACAAAC 960
|||||
Sbjct 901 CCCGGTACCATGGACGCCGTCCGTGCTGGTCTTTTCGGCCAGCTGTTCCGCCCCGACAAAC 960
CDS:beta-tubulin [Co 70 P G T M D A V R A G P F G Q L F R P D N

CDS: Putative 1 90 F V F G Q S G A G N N W A K G H Y T E G
Query 961 TTCGTCTTCGGCCAGTCTGGTGCCGGCAACAACCTGGGCCAAGGGTCACTACACCGAGGGT 1020
|||||
Sbjct 961 TTCGTCTTCGGCCAGTCTGGTGCCGGCAACAACCTGGGCCAAGGGTCACTACACCGAGGGT 1020
CDS:beta-tubulin [Co 90 F V F G Q S G A G N N W A K G H Y T E G

CDS: Putative 1 110 A E L V D Q V L D V V R R E A E G C D C
Query 1021 GCCGAGCTAGTCGACCAGGTTCTCGATGTTGTCCGCCGCGAGGCTGAGGGCTGCGACTGC 1080
|||||
Sbjct 1021 GCCGAGCTAGTCGACCAGGTTCTCGATGTTGTCCGCCGCGAGGCTGAGGGCTGCGACTGC 1080
CDS:beta-tubulin [Co 110 A E L V D Q V L D V V R R E A E G C D C

CDS: Putative 1 130 L Q G F Q I T H S L G G G T G A G M G T
Query 1081 CTCCAGGGTTTCCAGATCACCCACTCCCTCGGTGGTGGTACCGGTGCCGGTATGGGTACC 1140
|||||
Sbjct 1081 CTCCAGGGTTTCCAGATCACCCACTCCCTCGGTGGTGGTACCGGTGCCGGTATGGGTACC 1140
CDS:beta-tubulin [Co 130 L Q G F Q I T H S L G G G T G A G M G T

CDS: Putative 1 150 L L I S K I R E E F P D R M M A T F S V
Query 1141 CTCCTGATCTCCAAGATCCGTGAGGAGTTCCTCCGACCCGATGATGGCCACCTTCTCCGTC 1200
|||||
Sbjct 1141 CTCCTGATCTCCAAGATCCGTGAGGAGTTCCTCCGACCCGATGATGGCCACCTTCTCCGTC 1200
CDS:beta-tubulin [Co 150 L L I S K I R E E F P D R M M A T F S V

CDS: Putative 1 170 V P S P K V S D T V V E P Y N A T L S V
Query 1201 GTTCCCTCCCCAAGGTCTCCGACACCCTTGTGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTC 1260
|||||
Sbjct 1201 GTTCCCTCCCCAAGGTCTCCGACACCCTTGTGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTC 1260
CDS:beta-tubulin [Co 170 V P S P K V S D T V V E P Y N A T L S V

CDS: Putative 1 190 H Q L V E N S D E T F C I D N E A L Y D
Query 1261 CACCAGCTGGTTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGAC 1320
|||||
Sbjct 1261 CACCAGCTGGTTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGAC 1320
CDS:beta-tubulin [Co 190 H Q L V E N S D E T F C I D N E A L Y D

CDS: Putative 1 210 I C M R T L K L S N P S Y G D L N H L V
Query 1321 ATTTGCATGCGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCTCTTACGGCGACTGAACCACCTGGTC 1380
|||||
Sbjct 1321 ATTTGCATGCGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCTCTTACGGCGACTGAACCACCTGGTC 1380
CDS:beta-tubulin [Co 210 I C M R T L K L S N P S Y G D L N H L V

CDS: Putative 1 230 S A V M S G V T T C L R F P G Q L N S D
Query 1381 TCTGCTGTTATGTCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTCCCGGGTCAGCTGAACTGTGAC 1440
|||||
Sbjct 1381 TCTGCTGTTATGTCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTCCCGGGTCAGCTGAACTGTGAC 1440
CDS:beta-tubulin [Co 230 S A V M S G V T T C L R F P G Q L N S D

CDS: Putative 1 250 L R K L A V N M V P F P R L H F F M V G
Query 1441 CTGCGCAAGCTGGCTGTCAACATGGTTCTTTCCCGGTCCTGCTTCTCATGTCGGC 1500
|||||
Sbjct 1441 CTGCGCAAGCTGGCTGTCAACATGGTTCTTTCCCGGTCCTGCTTCTCATGTCGGC 1500
CDS:beta-tubulin [Co 250 L R K L A V N M V P F P R L H F F M V G

CDS: Putative 1 270 F A P L T S R G A H S F R A V S V P E L
Query 1501 TTCGCTCCCCTGACCAGCCGTGGCGCCCACTTTTCCGCGCCGTGAGTTCCTGAGCTC 1560
|||||
Sbjct 1501 TTCGCTCCCCTGACCAGCCGTGGCGCCCACTTTTCCGCGCCGTGAGTTCCTGAGCTC 1560
CDS:beta-tubulin [Co 270 F A P L T S R G A H S F R A V S V P E L

CDS: Putative 1 290 T Q Q M F D P K N M M A A S D F R N G R
Query 1561 ACCCAGCAGATGTTTCGACCCCAAGAACATGATGGCTGCTTCTGACTTCCGCAACGGTCCG 1620
|||||
Sbjct 1561 ACCCAGCAGATGTTTCGACCCCAAGAACATGATGGCTGCTTCTGACTTCCGCAACGGTCCG 1620
CDS:beta-tubulin [Co 290 T Q Q M F D P K N M M A A S D F R N G R

CDS: Putative 1 310 Y L T C S A I F ~~~~~
Query 1621 TACCTGACCTGCTCTGCCATCTTGTGAGTTGACCTGAATGATTCCTTTTCCATGATTTG 1680
|||||
Sbjct 1621 TACCTGACCTGCTCTGCCATCTTGTGAGTTGACCTGAATGATTCCTTTTCCATGATTTG 1680
CDS:beta-tubulin [Co 310 Y L T C S A I F ~~~~~

CDS: Putative 1 318 ~~~~~ R G K V A M K D V E D Q M R
Query 1681 CTAACCTATTTTCTAGCCGTGGCAAGGTCCGCTATGAAGGATGTCGAGGACCAAGATGCGCA 1740
|||||
Sbjct 1681 CTAACCTATTTTCTAGCCGTGGCAAGGTCCGCTATGAAGGATGTCGAGGACCAAGATGCGCA 1740
CDS:beta-tubulin [Co 318 ~~~~~ R G K V A M K D V E D Q M R

CDS: Putative 1	332	N V Q N K N S S Y F V E W I P N N V Q T	
Query	1741	ACGTCCAGAACAAGAACTCCTCTACTTCGTCGAGTGGATCCCCAACACGTCAGACCG	1800
Sbjct	1741	ACGTCCAGAACAAGAACTCCTCTACTTCGTCGAGTGGATCCCCAACACGTCAGACCG	1800
CDS:beta-tubulin [Co	332	N V Q N K N S S Y F V E W I P N N V Q T	
CDS: Putative 1	352	A L C S I P P R G L K M S S T F V G N A	
Query	1801	CCCTCTGCTCCATTCTCCCGCGGCCCTCAAGATGTCTCCACCTTCGTCGGTAACGCCA	1860
Sbjct	1801	CCCTCTGCTCCATTCTCCCGCGGCCCTCAAGATGTCTCCACCTTCGTCGGTAACGCCA	1860
CDS:beta-tubulin [Co	352	A L C S I P P R G L K M S S T F V G N A	
CDS: Putative 1	372	T A I Q E L F K R V G E Q F T A M F R R	
Query	1861	CCGCCATCCAGGAGCTGTCAAGCGTGTGCGTGAGCAGTTCCTGCCATGTTCCGTCGCA	1920
Sbjct	1861	CCGCCATCCAGGAGCTGTCAAGCGTGTGCGTGAGCAGTTCCTGCCATGTTCCGTCGCA	1920
CDS:beta-tubulin [Co	372	T A I Q E L F K R V G E Q F T A M F R R	
CDS: Putative 1	392	K A F L H W Y T G E G M D E M E F T E A	
Query	1921	AGGCTTCTTGCAATGTTACACTGGTGAGGGTATGGACGAGATGGAGTTCAGTGAGGCTG	1980
Sbjct	1921	AGGCTTCTTGCAATGTTACACTGGTGAGGGTATGGACGAGATGGAGTTCAGTGAGGCTG	1980
CDS:beta-tubulin [Co	392	K A F L H W Y T G E G M D E M E F T E A	
CDS: Putative 1	412	E S N M N D L V S E Y Q Q Y Q D A G V D	
Query	1981	AGTCCAACATGAACGATTGGTCTCCGAGTACCAGCAATACCAGACGCTGGTGTGACG	2040
Sbjct	1981	AGTCCAACATGAACGATTGGTCTCCGAGTACCAGCAATACCAGACGCTGGTGTGACG	2040
CDS:beta-tubulin [Co	412	E S N M N D L V S E Y Q Q Y Q D A G V D	
CDS: Putative 1	432	E E E E E Y E E E A P L E E E V *	
Query	2041	aggaggaggaggagtacgaggaggaggctcctcttgaggaggaggTTTAAGCGCAGTCTA	2100
Sbjct	2041	AGGAGGAGGAGGAGTACGAGGAGGAGGCTCCTCTTGAGGAGGAGTTTAAGCGCAGTCTA	2100
CDS:beta-tubulin [Co	432	E E E E E Y E E E A P L E E E V	
Query	2101	ATAACTGCTTAACGCTTAGTGCCACACCCTCAACCCCAATGTACTCCATCCGTGGT	2160
Sbjct	2101	ATAACTGCTTAACGCTTAGTGCCACACCCTCAACCCCAATGTACTCCATCCGTGGT	2160
Query	2161	GGAATTTTCGCTTCGCGACTCTGGCTTTGCCAGAACATGGGCTTCTAGATATACCTCTCTT	2220
Sbjct	2161	GGAATTTTCGCTTCGCGACTCTGGCTTTGCCAGAACATGGGCTTCTAGATATACCTCTCTT	2220
Query	2221	AGTAGTACGCCTGACGTATCATTCGAGTACGAAGAATCAGACAATGTTCTGTAACACTCG	2280
Sbjct	2221	AGTAGTACGCCTGACGTATCATTCGAGTACGAAGAATCAGACAATGTTCTGTAACACTCG	2280
Query	2281	GCCAATATCAATGCCTGTGAATTCGCCCTAATGCCCATGTAAGAAGCAAGGTAAGAACGC	2340
Sbjct	2281	GCCAATATCAATGCCTGTGAATTCGCCCTAATGCCCATGTAAGAAGCAAGGTAAGAACGC	2340
Query	2341	GAGTTCCTCTGTGAAAATCACTTGTGGCAACCTTTTCTGGCGCAAACACCGAAGCTGC	2400
Sbjct	2341	GAGTTCCTCTGTGAAAATCACTTGTGGCAACCTTTTCTGGCGCAAACACCGAAGCTGC	2400
Query	2401	AAACCGAAGCTGAGCTGGTACAGG 2424	
Sbjct	2401	AAACCGAAGCTGAGCTGGTACAGG 2424	

ภาพ 29 ตำแหน่งของกรดอะมิโนและลำดับนิวคลีโอไทด์จากทั้งหมดของลำดับเบสจาก genomic DNA ของ beta-tubulin (TUB2) gene ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschyromene* (Accession No. U14138)

primer CTBF จะจับที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 1,150 ถึง 1,165 (แสดงโดยตัวอักษรสีเขียว)

primer CTBR จะจับที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 1,475 ถึง 1,490 (แสดงโดยตัวอักษรสีแดง)

ทำให้ได้บางส่วนของ beta-tubulin (TUB2) gene ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของกุหลาบ ขนาด 341 bp (แสดงโดยตัวอักษรสีน้ำเงิน) ซึ่งครอบคลุมลำดับของนิวคลีโอไทด์ที่ผลต่อการเกิดการกลายพันธุ์ (แสดงโดยตัวอักษรสีแดง)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อสกุล	นางสาวลัดดาวัลย์ ผดุงโอบธู
วัน เดือน ปีเกิด	9 มิถุนายน 2526
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมปลาย โรงเรียนอยุธยาวิทยาลัย จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ปีการศึกษา 2542 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2547
ทุนการศึกษา	ได้รับทุนอุดหนุนบัณฑิต โครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ประสบการณ์	เข้าร่วมเสนอผลงานภาคโปสเตอร์ เรื่อง “การศึกษาโรคของกุนลาบใน ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่” ในการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 6 ณ โรงแรมโลดส์สปางสวนแก้ว เชียงใหม่ พ.ศ.2549
ผลงานวิจัย	งานวิจัยปัญหาพิเศษระดับปริญญาโทเรื่อง “เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคของกุนลาบบนอาหารชนิดต่างๆ” พ.ศ. 2548