



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

1. อาหารเลี้ยงเชื้อรา

1.1 Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่ง	200	กรัม
agar	20	กรัม
dextrose	15	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

ปอกเปลือกมันฝรั่ง และล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมจตุรัสขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มในน้ำ 500 มิลลิลิตร จนสุกแต่ไม่และจนเกินไป กรองเนื้อมันฝรั่ง ออก ผสมกับ agar ที่ต้มจนละลายในน้ำ 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติม dextrose คนให้ละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

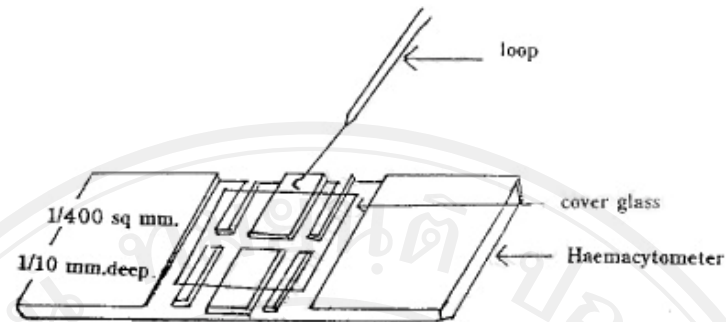
1.2 Potato Dextrose Broth (PDB)

มันฝรั่ง	200	กรัม
dextrose	15	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

ปอกเปลือกมันฝรั่ง และล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมจตุรัสขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มในน้ำ 500 มิลลิลิตร จนสุกไม่และจนเกินไป กรองเนื้อมันฝรั่งออก เติม dextrose คนให้ละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

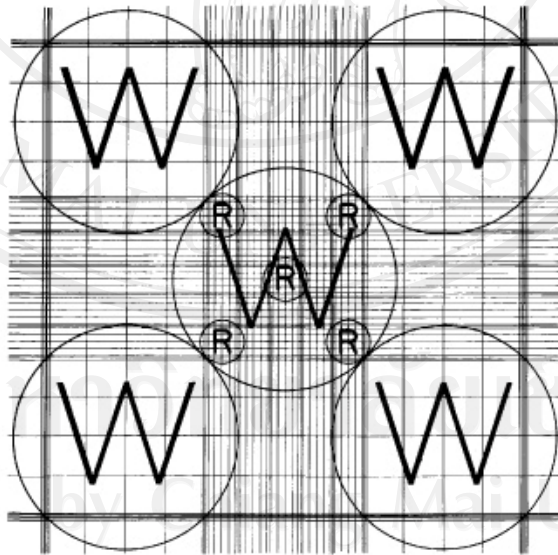
2. การนับจำนวน conidium ของเชื้อราด้วยเครื่องมือ haemocytometer

การใช้ haemocytometer ในการนับจำนวน conidium จาก spore suspension เพื่อปรับความเข้มข้นของ spore suspension ให้ได้ตามที่กำหนด haemocytometer มีลักษณะคล้ายสไลด์ แต่หนากว่า ตรงกลางมีร่องเป็นรูปตัว H ทำให้บริเวณที่ขีดเป็น scale ใช้ในการนับ 2 บริเวณ ใกล้เคียง scale จะมีแนวยาวช่วยพยุง cover glass ให้สูงจาก scale



ภาพ 85 การหยด spore suspension ลงใน haemocytometer เพื่อวัดปริมาณ conidium (สุวรรณชัย, 2540)

วิธีใช้ปิด cover glass ให้คลุม scale ทั้งสอง จากนั้นใช้ loop จุ่มลงใน spore suspension ที่เขย่าจนเข้ากันดี แล้วย้าย loop ไปแตะตรงบริเวณขอบสไลด์ทั้งสองด้าน spore suspension จะซึมเข้าไปจนเต็มบริเวณ scale ทั้งสอง ทิ้งไว้ประมาณ 1-2 นาที เพื่อให้ conidium นอนก้นก่อน จึงทำการนับจำนวน



ภาพ 86 ตำแหน่งที่ใช้นับจำนวน conidium ด้วย haemocytometer (สุวรรณชัย, 2540)

การนับจำนวนให้จำนวน conidium ในช่อง W ทั้ง 5 ช่อง โดยสุ่มวัด 5 จุด (R) ดังภาพ โดยนับ conidium ที่ทับขอบบนและขอบด้านซ้ายของช่องด้วย เพื่อป้องกันการนับซ้อน จากนั้นเอาค่าที่ได้ทั้งหมดมารวมกัน และคูณด้วย 2000 คือ $(W1 + W2 + W3 + W4 + W5) \times 2000$ ค่าที่ได้เป็นจำนวน conidium ต่อมิลลิลิตร ของ spore suspension ที่เตรียมไว้

เหตุผลที่เอาผลบวกทั้ง 5 ช่อง มาคูณด้วย 2000 เพราะ ถ้าสังเกตบน haemocytometer ทางซ้ายมือจะเห็นตัวเลขระบุไว้ว่า 1/400 ตารางมิลลิเมตร และความลึก 1/10 มิลลิเมตร

1/400 ตารางมิลลิเมตร หมายความว่าใน 1 ช่องเล็ก ในช่องใหญ่ W มีเนื้อที่เท่ากับ 1/400 ตารางมิลลิเมตร

แต่ 1 ช่องใหญ่ W	มีช่องเล็กนี้	25x16	ช่อง
ดังนั้นช่องใหญ่ W มีเนื้อที่		$\frac{25 \times 16 \times 1}{400}$	ตารางมิลลิเมตร
และเมื่อใส่ spore suspension จะมีความลึก		$\frac{1}{10}$	มิลลิเมตร
ดังนั้นปริมาตรของ spore suspension ในช่อง W		$\frac{25 \times 16 \times 1 \times 1}{400 \times 10}$	ลูกบาศก์มิลลิเมตร
สมมติว่านับจำนวน conidium ได้ C conidium			
แต่ 1 มิลลิตร = 10x10x10 ลูกบาศก์มิลลิเมตร			
ดังนั้นใน 1 มิลลิตร จะมีจำนวน conidium		$\frac{Cx400 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10}{25 \times 16}$	conidium
		= Cx10000	conidium

แต่ถ้าเอาจากที่นับได้จาก 5 ช่อง มารวมกัน ดังนั้นตัวคงที่ที่ใช้ในการคูณ คือ

$$\frac{10000}{5} = 2000$$

$$\text{ดังนั้นจำนวน conidium ต่อ มิลลิตร} = (W1 + W2 + W3 + W4 + W5) \times 2000$$

3. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช

3.1 เบนโนมิล (benomyl)

สาร benomyl มีการใช้ควบคุมโรคในพืชหลายชนิดเช่น โรคแอนแทรคโนสในพริกไทย ถั่วเหลือง มะม่วง แดง โรคใบจุดในมะเขือเทศ ผักกาด ส้ม ถั่วลิสง ฝ้าย โรคราแป้งในเงาะ แดง องุ่น เป็นต้น

ชื่อเคมี

methyl 1-(butylcarbamoyl) benzimidazol-2-ylcarbamate

ลักษณะทางกายภาพ

เป็นผลึกสีขาว

ความเสถียร

ย่อยสลายได้ง่ายในสภาพกรดจัดและด่างจัด และย่อยสลายช้า ๆ ในสภาพที่มีความชื้น

การละลาย

ละลายน้ำประมาณ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

พืชต่อพืช

ไม่เป็นพืชต่อพืชหากใช้ถูกต้อง

การผสมเข้ากันได้กับสารอื่น

ผสมได้กับสารอื่น ยกเว้นสารที่มีคุณสมบัติเป็นด่างจัด

พืชต่อสัตว์เลือดอุ่น

มีค่า oral LD₅₀ ในหนู > 10,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระบายเคียง ตาปานกลางแต่ไม่ระคายเคืองผิวหนัง

3.2 คาร์เบนดาซิม (carbendazim)

คาร์เบนดาซิมใช้ควบคุมโรคต่าง ๆ เช่น โรคใบจุดในถั่ว ผัก และไม้ดอกไม้ประดับ โรคแอนแทรคโนสในถั่ว มะม่วง ยาสูบ ผัก โรคสะเก็บ โรคมีลาโนสในส้ม โรคราแป้งในเงาะ องุ่น มะม่วง โรคใบไหม้ กาบใบแห้ง โรคใบขีดสีน้ำตาลในข้าว เป็นต้น

ชื่อเคมี	methyl benzimidazol-2-ylcarbamate
ลักษณะทางกายภาพ	เป็นผลึกสีขาว
ความเสถียร	สามารถอยู่ได้อย่างน้อย 2 ปี ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส สลายตัวช้า ๆ ในสภาพเป็นค้าง และมีความเสถียรสูงในสภาพ กรด
การละลาย	ละลายน้ำ 28 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH 4) และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH 7) ละลายใน acetone 0.3 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 24 องศา เซลเซียส
พืชต่อพืช	ไม่เป็นพืชต่อพืชหากใช้ถูกต้อง
การผสมเข้ากันได้กับสารอื่น	ผสมเข้ากับสารอื่นได้ ยกเว้นสารที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง
พืชต่อสัตว์เลือดอุ่น	มีค่า oral LD ₅₀ > 15,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่ระคายเคืองตา และผิวหนัง

3.3 คาร์บอกซิน (carboxin)

คาร์บอกซินใช้ควบคุมเชื้อราในกลุ่ม *Basidiomycetes* เป็นเชื้อที่สำคัญที่ก่อให้เกิดโรคราสนิมและราเขม่าดำ ในธัญพืชหลายชนิด นอกจากนี้ยังใช้ควบคุมเชื้อราในดินได้แก่ *Rhizoctonia solani* และใช้ป้องกันโรคเน่าคอดินในฝ้าย โรคโคนเน่าและลำต้นเน่าในถั่วลิสง โรครามีสต์ผักกาดในมะเขือเทศ เป็นต้น

ชื่อเคมี

5,6-dihydro-2-methyl-1, 4-oxathi-ine-3-carboxanilide

ลักษณะทางกายภาพ

เป็นผลึกสีขาว

ความเสถียร

ไม่เสถียรเมื่ออยู่ในสภาพกรดหรือด่างจัด

การละลาย

ละลายน้ำ 170 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส
ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ ละลายในอะซีโตน 600 กรัมต่อกิโลกรัม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

พิษต่อพืช

ไม่เป็นพิษต่อพืชหากใช้ถูกต้อง

การผสมเข้ากันได้กับสารอื่น

ผสมกับสารอื่นได้ยกเว้นสารที่มีคุณสมบัติเป็นกรดหรือด่างจัด

พิษต่อสัตว์เลือดอุ่น

มีค่า oral LD₅₀ ในหนู 3,820 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระคายเคืองตา

3.4 แคปแทน (captan)

แคปแทน เป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีการใช้กว้างขวางในพืชหลายชนิด ออกฤทธิ์ได้ทั้งแบบป้องกันและรักษา โดยสามารถฉีดพ่นทางใบ คลุกเมล็ดและใช้ควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยว มีรูปผลิตภัณฑ์หลายชนิด ได้แก่ ผงฝุ่น ผงเปียกน้ำ สารแขวนลอยในของเหลว (aqueous suspension) และแบบเม็ด (granule)

ชื่อเคมี	1, 2, 3, 6-tetrahydro-N-(trichloromethylthio) phthalimide
ลักษณะทางกายภาพ	เป็นผลึก ไม่มีกลิ่น
ความเสถียร	ถูกย่อยสลายโดยการไฮโดรไลซิสในสารละลายที่เป็นต่างอย่าง รวดเร็ว
การละลาย	ละลายน้ำ 3.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ละลายใน xylene 20 กรัมต่อกิโลกรัม chloroform 78 กรัมต่อกิโลกรัม
พิษต่อพืช	ไม่เป็นพิษหากใช้ถูกต้อง แต่ในแอปเปิลบางสายพันธุ์อาจเกิดพิษได้
การผสมเข้ากันได้กับสารอื่น	ส่วนใหญ่สามารถผสมกับสารอื่นได้ แต่ผสมเข้ากันไม่ได้กับสารที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง, น้ำมัน, สารฆ่าแมลง TEPP และ parathion
พิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	มีค่า oral LD ₅₀ ในหนู 9,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระบายเคืองต่อผิวหนังและตาเล็กน้อย

3.5 คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (copper oxychloride)

คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ สามารถควบคุมโรคพืชได้หลายชนิดเช่น โรคราน้ำค้าง โรคแอนแทรคโนส โรคใบจุด และโรคไหม้ในมันฝรั่ง เป็นต้น

ชื่อเคมี	dicopper chloride trihydroxide (IUPAC)
ลักษณะทางกายภาพ	เป็นผงสีเขียวถึงสีเขียวอมฟ้า
ความเสถียร	มีความเสถียรมากในสภาวะเป็นกลาง ย่อยสลายได้ในสภาวะเป็นด่างและอุณหภูมิสูง โดยสร้างสาร copper oxides สลายตัวเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 220 องศาเซลเซียส
การกักคร่อน	กักคร่อนเหล็กและโลหะอื่น
การละลาย	โดยปกติละลายน้ำได้ (ที่ pH 7 และอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ละลายน้อยกว่า 5-10 มิลลิกรัมต่อลิตร) ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ละลายในสารละลายที่เป็นกรดสร้าง Cu^{++} ละลายในแอมโมเนียม ไฮดรอกไซด์
พืชต่อพืช	ไม่เป็นพืชต่อพืชหากใช้ในอัตราที่แนะนำ ยกเว้นในบางพืชเช่น แครอท มันฝรั่ง และแอปเปิล การผสมกับสารชนิดอื่น : สามารถผสมกับสารฆ่าเชื้อราหลายชนิดยกเว้น สารฆ่าเชื้อราที่มีปรอทเป็นองค์ประกอบ, และสาร thiram, DNOC, lime sulfur และ dithiocarbamates
พืชต่อสัตว์เลือดอุ่น	มีค่า oral LD_{50} 1,440 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หากโคนพิวหนังทำให้ระคายเคือง โดยทั่วไปดูดซึมผ่านทางผิวหนังน้อยมาก ยกเว้นเข้าทางบาดแผล

3.6 แมนโคเซป (mancozeb)

แมนโคเซปได้จดทะเบียนในปี ค.ศ. 1967 ใช้ควบคุมโรคในพืชหลายชนิด มีการออกฤทธิ์แบบป้องกัน ในสหรัฐอเมริกามีการใช้สารแมนโคเซปในการปลูกหอมประมาณ 80% ของพื้นที่ปลูก มีการผลิตออกมาในรูปแบบผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้แก่ ผงฝุ่น (dust) ผงเปียกน้ำ (wetable powder) น้ำเข้มข้น (flowable concentrate) และแบบเม็ด (granule)

ชื่อเคมี	manganese ethylenebis (dethiocarbamate) (polymeric) complex with zinc salt
ลักษณะทางกายภาพ	เป็นผงสีเหลืองปนเทา
ความเสถียร	เสถียรในสภาพแห้ง สลายตัวอย่างช้า ๆ เมื่อชื้นและอุณหภูมิสูง และไม่เสถียรในสภาพเป็นกรด
การกักคร่อน	ไม่กักคร่อนในสภาพแห้ง
การละลาย	ละลายน้ำน้อยกว่า มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ละลายใน toluene, hexane และ dichloromethane น้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
พิษต่อพืช	ไม่เป็นพิษหากใช้ตามคำแนะนำ
พิษต่อสัตว์เลือดอุ่น	มีค่า oral LD ₅₀ ในหนู > 5,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อาจมีการ
ระคายเคืองผิวหนังหากสัมผัส	

4. การคำนวณปริมาณและการเตรียมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim

4.1 การคำนวณปริมาณสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim

carbendazim อัตราแนะนำ 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร จะได้ว่า

ในน้ำ	2×10^4	มิลลิลิตร มีเนื้อสารอยู่	20	มิลลิลิตร
ถ้าในน้ำ	10^6	มิลลิลิตร มีเนื้อสารอยู่	$\frac{20 \times 10^6}{2 \times 10^4}$	= 1000 มิลลิลิตร

แต่สารออกฤทธิ์ในสารเคมี carbendazim มี 50% หมายความว่า

ในสารเคมี	100	กรัม มีสารออกฤทธิ์	50	กรัม
ถ้าในสารเคมี	1000	กรัม จะมีสารออกฤทธิ์	$\frac{50 \times 1000}{100}$	= 500 ppm.

4.2 การเตรียมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim

การเตรียม stock ให้เตรียมให้มีความเข้มข้นสูงกว่าที่ต้องการ 10 เท่า เช่นการเตรียมสารปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปริมาณสารออกฤทธิ์ 500 ppm ต้องการเตรียม stock 5000 ppm จะได้ว่า

ในสารละลาย	10^6	มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์	5000	มิลลิลิตร
ในสารละลาย	100	มิลลิลิตร มีสารออกฤทธิ์	$\frac{5000 \times 1000}{10^6}$	= 0.5 มิลลิลิตร
แต่สารออกฤทธิ์	50	มิลลิลิตร ได้จากเนื่อยา	100	มิลลิลิตร
สารออกฤทธิ์	0.5	มิลลิลิตร ได้จากเนื่อยา	$\frac{0.5 \times 100}{50}$	= 1 มิลลิลิตร

ดังนั้นต้องนำสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นมาเชื้อให้ครบ 100 มิลลิลิตร

4.3 การเตรียมอาหาร PDA ที่ผสมสารกำจัดเชื้อรา carbendazim

การเตรียมอาหาร PDA ที่มีสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim ความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 100, 500 และ 1000 ppm ปริมาตร 150 มิลลิลิตร จากการคำนวณ เตรียมได้ดังนี้ คือ

ตาราง 45 ปริมาณสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim จาก stock 5000 ppm ผสมใน PDA 150 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความเข้มข้น (ppm)	ปริมาณสารที่ใช้จากการเตรียม stock 5000 ppm (ml/PDA 150 ml)
0.1	0.003
1	0.03
10	0.3
100	3
500	15
1000	30

หมายเหตุ ในการเติมสารเคมีผสมกับ PDA ต้องดูอาหาร PDA ออกก่อนเท่ากับปริมาณสารที่ได้ลงไป เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

5. การคำนวณปริมาณสารออกฤทธิ์จากสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ใช้ในการทดลอง

carboxin อัตราแนะนำ 14 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร จะได้ว่า

$$\begin{array}{l} \text{ในน้ำ} \quad 2 \times 10^4 \quad \text{มิลลิลิตร} \quad \text{มีเนื้อสารอยู่} \quad 14 \quad \text{กรัม} \\ \text{ถ้าในน้ำ} \quad 10^6 \quad \text{มิลลิลิตร} \quad \text{มีเนื้อสารอยู่} \quad \frac{14 \times 10^6}{2 \times 10^4} = 700 \quad \text{กรัม} \end{array}$$

แต่สารออกฤทธิ์ในสารเคมี carboxin มี 75% หมายความว่า

$$\begin{array}{l} \text{ในสารเคมี} \quad 100 \quad \text{กรัม} \quad \text{มีสารออกฤทธิ์} \quad 75 \quad \text{กรัม} \\ \text{ถ้าในสารเคมี} \quad 700 \quad \text{กรัม} \quad \text{จะมีสารออกฤทธิ์} \quad \frac{75 \times 700}{100} = 525 \quad \text{ppm.} \end{array}$$

100

ต้องการเตรียม carboxin ที่มีความเข้มข้น 525 ppm. หมายความว่า

ในน้ำ	10^6	มิลลิลิตร ต้องมีสารออกฤทธิ์อยู่	525	กรัม
ถ้าในน้ำ	30	มิลลิลิตร ต้องมีสารออกฤทธิ์อยู่	$\frac{525 \times 30}{10^6}$	= 0.01575 กรัม

แต่ในสาร carboxin มีสารออกฤทธิ์ 75% หมายความว่า

สารออกฤทธิ์	75	กรัม	มาจากสาร	100	กรัม
ถ้าต้องการสารออกฤทธิ์	0.01575	กรัม	มาจากสาร	$\frac{100 \times 0.01575}{75}$	= 0.021 กรัม

ดังนั้น ต้องชั่งสารมา 0.021 กรัม ผสมกับน้ำ 30 มิลลิลิตร จึงได้ความเข้มข้นเท่ากับ 525 ppm. การคำนวณความเข้มข้นของสารเคมีอื่นๆ สามารถคำนวณได้ในแบบเดียวกัน

6. ค่าประเมินความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยใช้ผงสมุนไพร (เกษม, 2532)

> 75%	=	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก
61-75%	=	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง
51-60%	=	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง
< 51%	=	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ

7. สารเคมีที่ใช้สำหรับการสกัดดีเอ็นเอ

7.1 70% ethanol

ผสมสารละลาย ethanol 70 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 30 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่ -20

องศาเซลเซียส

7.2 ice-cold absolute alcohol

เทสารละลาย absolute alcohol ใส่ขวดเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

7.3 3M sodium acetate (pH 5.2)

sodium acetate.3H₂O 408.1 กรัม

ละลายสารในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้ได้ 5.2 ด้วย glacial acetic acid และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

7.4 100 mM Tris-HCl

ชั่งสาร Tris-HCl 1.58 ผสมกับน้ำกลั่นมาเชื้อ ปรับ pH เป็น 8 และปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

7.5 0.5 M EDTA (pH 8.0)

disodium ethylenediamine tetraacetate.2H ₂ O	136.1	กรัม
---	-------	------

ละลายสารในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้ได้ 8.0 ด้วย NaOH และปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

7.6 5M NaCl

sodium chloride	292.2	กรัม
-----------------	-------	------

ละลายสารในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไป นึ่งฆ่าเชื้อ

7.7 5xTBE (Tris-borate buffer)

tris base	54.0	กรัม
boric acid	27.5	กรัม
0.5 M EDTA (pH 8)	20.0	มิลลิลิตร

ละลาย Tris 54.0 กรัม กับ Boric acid 27.5 กรัม ในน้ำกลั่นมาเชื้อ 800 มิลลิลิตร ละลายให้เข้ากัน เติม EDTA (pH 8) แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

7.8 Loading dye

deionized formamide	95%
bromophenol blue	0.1%
EDTA (pH 8)	10 มิลลิโมลาร์

ผสมสารทั้งสามเข้าด้วยกัน จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

8. รายชื่อศูนย์เก็บข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์

- **The DNA Data Bank of Japan (DDBJ)**

Address: DDBJ, National Institute of Genetics, Mishima, Shizuoka 411, Japan

World wide web: <http://www.ddbj.nig.ac.jp>

- **The European Molecular Biology Laboratory (EMBL)**

Address: European Bioinformatics Institute, Wellcome

Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SD, UK

World wide web: <http://www.ebi.ac.uk>

- **The National Center for Biotechnology Information (NCBI)**

Address: National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine,

8600 Rockville Pike, Bldg 38A, Room 8N-803, Bethesda, MD 20894, USA

World wide web: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

- **The Genome Sequence DataBase (GSDB)**

Address: GSDB, National Center for Genome Resources,

1800 Old Pecos Trail, Santa Fe, NM 87505, USA

World wide web: <http://www.ncgr.org/gsdb>

ภาคผนวก ข

ตาราง 46 รายชื่อกรดอะมิโนมาตรฐาน (ศุภมิตรและพัชรินทร์, 2547)

1-letter code	3-letter code	codon	amino acid
A	Ala	GCU, GCC, GCA, GCG	alanine
C	Cys	UGU, UGC	cystein
D	Asp	GAU, GAC	aspartatic acid
E	Glu	GAA, GAG	glutamic acid
F	Phe	UUU, UUC	phenylalanine
G	Gly	GGU, GGC, GGA, GGG	glycine
H	His	CAU, CAC	histidine
I	Ile	AUU, AUC, AUA	isoleucine
K	Lys	AAA, AAG	lysine
L	Leu	UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, CUG	leucine
M	Met	AUG	methionine
N	Asn	AAU, AAC	asparagine
P	Pro	CCU, CCC, CCA, CCG	proline
Q	Gln	CAA, CAG	glutamine
R	Arg	CGU, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG	arginine
S	Ser	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC	serine
T	Thr	ACU, ACC, ACA, ACG	threonine
V	Val	GUU, GUC, GUA, GUG	valine
W	Trp	UGG	tryptophan
Y	Tyr	UAU, UAC	tyrosine
X	Xxx	-	undetermined amino acid

ตาราง 47 การแปลงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเป็นค่า Probit logarithm (ธรรมชาติ, 2543)

Transformation of the Sigmoid Dosage Mortality curve to a Straight Line. (C. I. Bliss.)

	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	2	3	4	5
0	...	1.9098	2.1218	2.2522	2.3479	2.24242	2.4872	2.5427	2.5911	2.6344					
1	2.6737	2.7096	2.7429	2.7738	2.8027	2.8099	2.8556	2.8799	2.9031	2.9251					
2	2.9463	2.9665	2.9859	3.0046	3.0226	3.0400	3.0569	3.0732	3.0890	3.1043					
3	3.1192	3.1337	3.1478	3.1616	3.1750	3.1881	3.2009	3.2134	3.2256	3.2376					
4	3.2493	3.2608	3.2721	3.2831	3.2940	3.3046	3.3151	3.3253	3.3354	3.3454					
5	3.3551	3.3648	3.3742	3.3836	3.3928	3.4018	3.4107	3.4195	3.4282	3.4368					
6	3.4452	3.4536	3.4618	3.4699	3.4780	3.4859	3.4937	3.5015	3.5091	3.5167					
7	3.5242	3.5316	3.5389	3.5462	3.5534	3.5605	3.5675	3.5745	3.5813	3.5882					
8	3.5949	3.6016	3.6083	3.6148	3.6213	3.6278	3.6342	3.6405	3.6468	3.6531					
9	3.6592	3.6654	3.6715	3.6775	3.6835	3.6894	3.6953	3.7012	3.7070	3.7127					
10	3.7184	3.7241	3.7298	3.7354	3.7409	3.7464	3.7519	3.7574	3.7628	3.7681					
11	3.7735	3.7788	3.7840	3.7893	3.7945	3.7996	3.8048	3.8099	3.8150	3.8200					
12	3.8250	3.8300	3.8350	3.8399	3.8448	3.8497	3.8545	3.8593	3.8641	3.8689					
13	3.8736	3.8830	3.8877	3.8923	3.8969	3.9015	3.9061	3.9107	3.9152	3.9197					
14	3.9197	3.9242	3.9286	3.9331	3.9375	3.9419	3.9463	3.9506	3.9550	3.9593					
15	3.9636	3.9678	3.9721	3.9763	3.9806	3.9848	3.9890	3.9931	3.9973	4.0014					
16	4.0055	4.0096	4.0137	4.0178	4.0218	4.0259	4.0299	4.0339	4.0379	4.0419					
17	4.0458	4.0498	4.0537	4.0576	4.0615	4.0654	4.0693	4.0731	4.0770	4.0808					
18	4.0846	4.0884	4.0922	4.0960	4.0998	4.1035	4.1073	4.1110	4.1147	4.1184					
19	4.1221	4.1258	4.1295	4.1331	4.1367	4.1404	4.1440	4.1476	4.1512	4.1548					
20	4.1584	4.1619	4.1655	4.1690	4.1726	4.1761	4.1796	4.1831	4.1866	4.1901					
21	4.1936	4.1970	4.2005	4.2039	4.2074	4.2108	4.2142	4.2176	4.2210	4.2244					
22	4.2278	4.2312	4.2345	4.2379	4.2412	4.2446	4.2479	4.2512	4.2546	4.2579					
23	4.2612	4.2644	4.2677	4.2710	4.2743	4.2775	4.2808	4.2840	4.2872	4.2905					
24	4.2937	4.2969	4.3001	4.3033	4.3065	4.3097	4.3129	4.3160	4.3192	4.3224					
25	4.3255	4.3287	4.3318	4.3349	4.3380	4.3412	4.3443	4.3474	4.3505	4.3536					
26	4.3567	4.3597	4.3628	4.3659	4.3689	4.3720	4.3750	4.3781	4.3811	4.3842					
27	4.3872	4.3902	4.3932	4.3962	4.3992	4.4022	4.4052	4.4082	4.4112	4.4142					
28	4.4172	4.4201	4.4231	4.4260	4.4290	4.4319	4.4349	4.4378	4.4408	4.4437					
29	4.4466	4.4495	4.4524	4.4554	4.4583	4.4612	4.4641	4.4670	4.4698	4.4727					
30	4.4756	4.4785	4.4813	4.4842	4.4871	4.4899	4.4928	4.4956	4.4985	4.5013					
31	4.5041	4.5070	4.5098	4.5126	4.5155	4.5183	4.5211	4.5239	4.5267	4.5295					
32	4.5323	4.5351	4.5379	4.5407	4.5435	4.5462	4.5490	4.5518	4.5546	4.5573					
33	4.5601	4.5628	4.5656	4.5684	4.5711	4.5739	4.5766	4.5793	4.5821	4.5848					
34	4.5875	4.5903	4.5930	4.5957	4.5984	4.6011	4.6039	4.6066	4.6093	4.6120					
35	4.6147	4.6174	4.6201	4.6228	4.6255	4.6281	4.6308	4.6335	4.6362	4.6389					
36	4.6415	4.6442	4.6469	4.6495	4.6522	4.6549	4.6575	4.6602	4.6628	4.6655					
37	4.6681	4.6708	4.6734	4.6761	4.6787	4.6814	4.6840	4.6866	4.6893	4.6919					
38	4.6945	4.6971	4.6998	4.7024	4.7050	4.7076	4.7102	4.7129	4.7155	4.7181					
39	4.7207	4.7233	4.7259	4.7285	4.7311	4.7337	4.7363	4.7389	4.7415	4.7441					
40	4.7467	4.7492	4.7518	4.7544	4.7570	4.7596	4.7622	4.7647	4.7673	4.7699					
41	4.7725	4.7750	4.7776	4.7802	4.7827	4.7853	4.7879	4.7904	4.7930	4.7955					
42	4.7981	4.8007	4.8032	4.8058	4.8083	4.8109	4.8134	4.8160	4.8185	4.8211					
43	4.8236	4.8262	4.8287	4.8313	4.8338	4.8363	4.8389	4.8414	4.8440	4.8465					
44	4.8490	4.8516	4.8541	4.8566	4.8592	4.8617	4.8642	4.8668	4.8693	4.8718					
45	4.8743	4.8769	4.8794	4.8819	4.8844	4.8870	4.8895	4.8920	4.8945	4.8970					
46	4.8996	4.9021	4.9046	4.9071	4.9096	4.9122	4.9147	4.9172	4.9197	4.9222					
47	4.9247	4.9272	4.9298	4.9323	4.9348	4.9373	4.9398	4.9423	4.9448	4.9473					
48	4.9498	4.9524	4.9549	4.9574	4.9599	4.9624	4.9649	4.9674	4.9699	4.9724					
49	4.9749	4.9774	4.9799	4.9825	4.9850	4.9875	4.9900	4.9925	4.9950	4.9975					

For more detail see values for

9	18	27	36	45
8	16	24	32	40
7	14	21	28	36
6	12	18	24	30
5	10	15	20	24
4	8	12	16	20
3	6	9	12	15
2	4	6	8	10
1	3	4	5	6

The probit corresponding to a given percentage is the normal deviate (increased by 5 to avoid negative values) for which the probability (single tail) equals this percentage (see Tables I and III)

	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	2	3	4	5
50	5.0000	5.0025	5.0050	5.0075	5.0100	5.0125	5.0150	5.0175	5.0201	5.0226	3	5	8	11	13
51	5.0251	5.0276	5.0301	5.0326	5.0351	5.0376	5.0401	5.0426	5.0451	5.0476	3	5	8	11	13
52	5.0502	5.0527	5.0552	5.0577	5.0602	5.0627	5.0652	5.0677	5.0702	5.0728	3	5	8	10	13
53	5.0753	5.0778	5.0803	5.0828	5.0853	5.0878	5.0904	5.0929	5.0954	5.0979	3	5	8	10	13
54	5.1004	5.1030	5.1055	5.1080	5.1105	5.1130	5.1156	5.1181	5.1206	5.1231	3	5	8	10	13
55	5.1057	5.1282	5.1307	5.1332	5.1358	5.1383	5.1408	5.1434	5.1459	5.1484	3	5	8	10	13
56	5.1510	5.1535	5.1560	5.1586	5.1611	5.1637	5.1662	5.1687	5.1713	5.1738	3	5	8	10	13
57	5.1764	5.1789	5.1815	5.1840	5.1866	5.1891	5.1917	5.1942	5.1968	5.1993	3	5	8	10	13
58	5.2019	5.2045	5.2070	5.2096	5.2121	5.2147	5.2173	5.2198	5.2224	5.2250	3	5	8	10	13
59	5.2275	5.2301	5.2327	5.2353	5.2378	5.2404	5.2430	5.2456	5.2482	5.2508	3	5	8	10	13
60	5.2533	5.2559	5.2585	5.2611	5.2637	5.2663	5.2689	5.2715	5.2741	5.2767	3	5	8	10	13
61	5.2793	5.2819	5.2845	5.2871	5.2898	5.2924	5.2950	5.2976	5.3002	5.3029	3	5	8	10	13
62	5.3055	5.3081	5.3107	5.3134	5.3160	5.3186	5.3213	5.3239	5.3266	5.3292	3	5	8	11	13
63	5.3319	5.3345	5.3372	5.3398	5.3425	5.3451	5.3478	5.3505	5.3531	5.3558	3	5	8	11	13
64	5.3585	5.3611	5.3638	5.3665	5.3692	5.3719	5.3745	5.3772	5.3799	5.3826	3	5	8	11	13
65	5.3853	5.3880	5.3907	5.3934	5.3961	5.3989	5.4016	5.4043	5.4070	5.4097	3	5	8	11	13
66	5.4125	5.4152	5.4179	5.4207	5.4234	5.4261	5.4289	5.4316	5.4344	5.4372	3	5	8	11	13
67	5.4399	5.4427	5.4454	5.4482	5.4510	5.4538	5.4565	5.4593	5.4621	5.4649	3	5	8	11	14
68	5.4677	5.4705	5.4733	5.4761	5.4789	5.4817	5.4845	5.4874	5.4902	5.4930	3	5	8	11	14
69	5.4959	5.4987	5.5015	5.5044	5.5072	5.5101	5.5129	5.5158	5.5187	5.5215	3	6	9	11	14
70	5.5244	5.5273	5.5302	5.5330	5.5359	5.5388	5.5417	5.5446	5.5476	5.5505	3	6	9	12	14
71	5.5534	5.5563	5.5592	5.5622	5.5651	5.5681	5.5710	5.5740	5.5769	5.5799	3	6	9	12	14
72	5.5828	5.5858	5.5888	5.5918	5.5948	5.5978	5.6008	5.6038	5.6068	5.6098	3	6	9	12	14
73	5.6128	5.6158	5.6189	5.6219	5.6250	5.6280	5.6311	5.6341	5.6372	5.6403	3	6	9	12	14
74	5.6433	5.6464	5.6495	5.6526	5.6557	5.6588	5.6620	5.6651	5.6682	5.6713	3	6	9	12	14
75	5.6745	5.6776	5.6808	5.6840	5.6871	5.6903	5.6935	5.6967	5.6999	5.7031	3	6	9	12	14
76	5.7063	5.7095	5.7128	5.7160	5.7192	5.7225	5.7257	5.7290	5.7323	5.7356	3	7	10	13	16
77	5.7388	5.7421	5.7454	5.7488	5.7521	5.7554	5.7588	5.7621	5.7655	5.7688	3	7	10	13	17
78	5.7722	5.7756	5.7790	5.7824	5.7858	5.7892	5.7926	5.7961	5.7995	5.8030	3	7	10	14	17
79	5.8064	5.8099	5.8134	5.8169	5.8204	5.8239	5.8274	5.8310	5.8345	5.8381	4	7	11	14	17
80	5.8416	5.8452	5.8488	5.8524	5.8560	5.8596	5.8633	5.8669	5.8705	5.8742	4	7	11	14	18
81	5.8779	5.8816	5.8853	5.8890	5.8927	5.8965	5.9002	5.9040	5.9078	5.9116	4	7	11	15	19
82	5.9154	5.9192	5.9230	5.9269	5.9307	5.9346	5.9385	5.9424	5.9463	5.9502	4	8	12	15	19
83	5.942	5.9581	5.9621	5.9661	5.9701	5.9741	5.9782	5.9822	5.9863	5.9904	4	8	12	16	20
84	5.9945	5.9986	6.0027	6.0069	6.0110	6.0152	6.0194	6.0237	6.0279	6.0322	4	8	13	17	21
85	6.0364	6.0407	6.0450	6.0494	6.0537	6.0581	6.0625	6.0669	6.0714	6.0758	4	9	13	18	22
86	6.0803	6.0848	6.0893	6.0939	6.0985	6.1031	6.1077	6.1123	6.1170	6.1217	5	9	14	18	23
87	6.1264	6.1311	6.1359	6.1407	6.1455	6.1503	6.1552	6.1601	6.1650	6.1700	5	10	15	19	24
88	6.1750	6.1800	6.1850	6.1901	6.1952	6.2004	6.2055	6.2107	6.2160	6.2212	5	10	15	21	26
89	6.2265	6.2319	6.2372	6.2426	6.2481	6.2536	6.2591	6.2646	6.2702	6.2759	5	11	16	22	27
90	6.2816	6.2873	6.2930	6.2988	6.3047	6.3106	6.3165	6.3225	6.3285	6.3346	6	12	18	24	29
91	6.3408	6.3469	6.3532	6.3595	6.3658	6.3722	6.3787	6.3852	6.3917	6.3984	6	13	19	26	32
92	6.4051	6.4118	6.4187	6.4255	6.4325	6.4395	6.4466	6.4538	6.4611	6.4684	7	14	21	28	35
93	6.4758	6.4833	6.4909	6.4985	6.5063	6.5141	6.5220	6.5301	6.5382	6.5461	8	16	24	31	39
94	6.5548	6.5632	6.5718	6.5805	6.5893	6.5982	6.6072	6.6164	6.6258	6.6352	9	18	27	36	45
95	6.6449	6.6546	6.6646	6.6747	6.6849	6.6954	6.7060	6.7169	6.7279	6.7392					
	97	100	101	102	105	106	109	110	113	115					
96	6.7507	6.7624	6.7744	6.7866	6.7991	6.8119	6.8250	6.8384	6.8522	6.8663					
	117	120	122	125	128	131	134	138	141	145					
97	6.8808	6.8957	6.9110	6.9268	6.9431	6.9600	6.9774	6.9954	7.0141	7.0335					
	149	153	158	163	169	174	180	187	194	202					
98.0	7.0537	7.0558	7.0579	7.0600	7.0621	7.0642	7.0663	7.0684	7.0706	7.0727	2	4	6	8	11
98.1	7.0749	7.0770	7.0792	7.0814	7.0836	7.0858	7.0880	7.0902	7.0924	7.0947	2	4	7	9	11
98.2	7.0969	7.0992	7.1015	7.1038	7.1061	7.1084	7.1107	7.0030	7.1154	7.1177	2	5	7	9	12

Continued on next page.

	0 0	0 1	0 2	0 3	0 4	0 5	0 6	0 7	0 8	0 9	1	2	3	4	
98.3	7.1201	7.1224	7.1248	7.1272	7.1297	7.1321	7.1345	7.1370	7.1394	7.1419	2	5	7	10	1
98.4	7.1444	7.1469	7.1494	7.1520	7.1545	7.1571	7.1596	7.1622	7.1648	7.1675	3	5	8	10	1
98.5	7.1701	7.1727	7.1754	7.1781	7.1808	7.1835	7.1862	7.1890	7.1917	7.1945	3	5	8	11	1
98.6	7.1973	7.2001	7.2029	7.2058	7.2086	7.2115	7.2144	7.2173	7.2203	7.2232	3	6	9	12	1
98.7	7.2262	7.2292	7.2322	7.2353	7.2383	7.2414	7.2445	7.2476	7.2508	7.2539	3	6	9	12	1
98.8	7.2571	7.2603	7.2636	7.2668	7.2701	7.2734	7.2768	7.2801	7.2835	7.2869	3	2	10	13	1
98.9	7.2904	7.2938	7.2973	7.3009	7.3044	7.3080	7.3116	7.3152	7.3189	7.3226	4	7	11	14	1
99.0	7.3263	7.3300	7.3339	7.3378	7.3416	7.3455	7.3495	7.3535	7.3575	7.3615	4	8	12	16	2
99.1	7.3656	7.3698	7.3739	7.3781	7.3824	7.3867	7.3911	7.3954	7.3999	7.4044	4	9	13	17	2
99.2	7.4089	7.4135	7.4181	7.4228	7.4276	7.4324	7.4372	7.4422	7.4471	7.4522	5	10	14	19	2
99.3	7.4573	7.4624	7.4677	7.4730	7.4783	7.4838	7.4896	7.4949	7.5006	7.5063	5	11	16	22	2
99.4	7.5121	7.5181	7.5241	7.5302	7.5364	7.5427	7.5491	7.5556	7.5622	7.5690	6	13	19	25	3
99.5	7.5758	7.5828	7.5899	7.5972	7.6045	7.6121	7.6197	7.6276	7.6356	7.6437					
99.6	7.6521	7.6606	7.6693	7.6783	7.6874	7.6968	7.7065	7.7164	7.7266	7.7370					
99.7	7.7478	7.7589	7.7703	7.7822	7.7944	7.8070	7.8202	7.8338	7.8480	7.8627					
99.8	7.8782	7.8943	7.9112	7.9290	7.9478	7.9677	7.9889	8.0115	8.0357	8.0618					
99.9	8.0902	8.1214	8.1559	8.1947	8.2389	8.2905	8.3528	8.4316	8.5401	8.7190					

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวสุรธานี ชัยชนะ
วัน เดือน ปีเกิด	26 ธันวาคม พ.ศ. 2524
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นที่โรงเรียนดำรงราษฎร์ สงเคราะห์ จังหวัดเชียงราย เมื่อปีการศึกษา 2539 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนสามัคคีวิทยาคม จังหวัดเชียงราย เมื่อปีการศึกษา 2542 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2546
ทุนการศึกษา	ได้รับทุนอุดหนุนโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลัง การเก็บเกี่ยว สถาบันวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ประสบการณ์	Poster presentation: Efficiency of fungicides for the germination of <i>Colletotrichum</i> spp., causing anthracnose in fruits by inner surface cell layer of onion scales method. ใน: The annual meeting of Thai mycological association (TMA) and mycology conference in Thailand, 23 June 2007. เสนอผลงานภาคนิทรรศน์ เรื่อง การตรวจสอบความทนทานต่อสารกำจัด เชื้อราคาร์เบนดาซิมของเชื้อรา <i>Colletotrichum</i> spp. สาเหตุโรค แอนแทรกโนสในมะม่วง ในงานสัมมนาวิชาการหลังการเก็บเกี่ยว แห่งชาติ ครั้งที่ 5 วันที่ 28 มิถุนายน 2550